



# **COLEGIO DE POSTGRADUADOS**

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS TABASCO

PROGRAMA PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO

**CARACTERIZACIÓN *IN VITRO* DEL POTENCIAL DE CONTROL  
BIOLÓGICO DE ESPECIES DE *Trichoderma* SOBRE  
*Moniliophthora roreri***

**OMAR REYES FIGUEROA**

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

H. CÁRDENAS, TABASCO, MÉXICO

2015

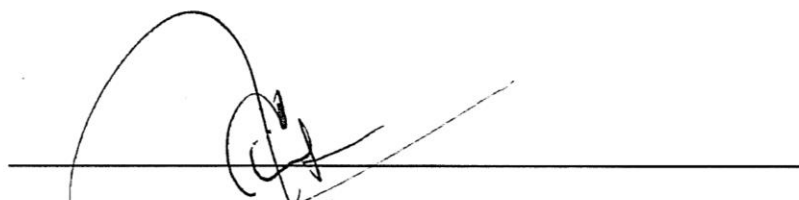
La presente tesis, titulada: “**CARACTERIZACIÓN *IN VITRO* DEL POTENCIAL DE CONTROL BIOLÓGICO DE ESPECIES DE *Trichoderma* SOBRE *Moniliophthora roreri*”**”, realizada por el alumno: Omar Reyes Figueroa, bajo la dirección del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**EN PRODUCCIÓN AGROALIMENTARIA EN EL TRÓPICO**

**CONSEJO PARTICULAR**

**CONSEJERO**



---

DR. CARLOS FREDY ORTIZ GARCÍA

**ASESOR**



---

DRA. GUADALUPE VALDOVINOS PONCE

**ASESOR**



---

DRA. LUZ DEL CARMEN LAGUNES ESPINOZA

**ASESOR**



---

DR. MAGDIEL TORRES DE LA CRUZ

H. Cárdenas, Tabasco a 28 de septiembre de 2015

# CARACTERIZACIÓN *IN VITRO* DEL POTENCIAL DE CONTROL BIOLÓGICO DE ESPECIES DE *Trichoderma* SOBRE *Moniliophthora roreri*

## RESUMEN

Omar Reyes Figueroa, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2015

**Palabras Clave:** *Theobroma cacao*, Biocontrol, Micoparásito, Antagonismo, *Monilia*.

*Moniliophthora roreri*, agente causal de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao*), afecta los frutos con pérdidas que pueden superar el 75% de la producción. Actualmente, el concepto de sostenibilidad es un elemento clave para el desarrollo de las ciencias agrícolas que incluye el control de plagas. El control biológico con especies nativas de *Trichoderma* ofrece potencial en el manejo sostenible del cultivo de cacao. El objetivo de la presente investigación fue determinar el potencial antagonista *in vitro* de aislamientos nativos de *Trichoderma* sobre *M. roreri*. Se evaluarón 50 aislamientos de nueve especies de *Trichoderma*, obtenidos de la rizosfera de *T. cacao*. Los porcentajes de micoparasitismo (%MP) y antibiosis (%AB) se determinaron mediante el método de cajas precolonizadas y el método de cultivos duales, respectivamente. El porcentaje de antagonismo potencial (%AP) se obtuvo con la fórmula:  $\%AP = (\%MP + \%AB) / 2$ . Así mismo, se determinó el crecimiento micelial (CM) y esporulación (PdC) a 25, 30 y 35 °C. Todos los aislamientos mostraron antibiosis y hubo diferencias significativas en el MP, AB, AP, CM y PdC ( $P \leq 0.0001$ ). Solamente las especies de *T. harzianum*, *T. virens*, *T. spirale*, *T. brevicompactum*, *T. koningiopsis*, y *T. asperellum* mostraron parasitismo sobre *M. roreri*. El %AP fluctuó de 3.4 al 69%. La temperatura óptima para el CM y PdC de los aislamientos evaluados va de 25 a 30 °C. Con base en las características evaluadas, los aislamientos promisorios para el control biológico de *M. roreri* son *T. virens* (TTC017) y *T. harzianum* (TTC090, TTC039 y TTC073).

## ABSTRACT

Omar Reyes Figueroa, M.C.

Colegio de Postgraduados, 2015

**Keywords:** *Theobroma cacao*, Biocontrol, Mycoparasite, Antagonism, Frosty pod rot.

*Moniliophthora roreri*, causal agent of frosty pod rot of cacao (*Theobroma cacao*), it affects the fruits with losses that can exceed 75% of the production. Currently, the concept of sustainability it is a key to the development of agricultural science element including pest control. Biological control with native species of *Trichoderma* offers potential in the sustainable management of cocoa cultivation. The objective of this research was to determine the potential antagonist *in vitro* of native isolates of *Trichoderma* on *M. roreri*. 50 *Trichoderma* isolates of nine species were evaluated, obtained from *T. cacao* rhizosphere. The percentages of mycoparasitism (%MP) and antibiosis (%AB) they were determined by the method of precolonized boxes and dual culture method, respectively. The percentage of potential antagonism (%AP) it was obtained with the formula:  $\%AP = (\%MP + \%AB) / 2$ . Also, mycelial growth was determined (CM) and conidia production (PdC) at 25, 30 y 35°C. All isolates showed antibiosis and significant differences in the MP AB, AP, CM y PdC ( $P \leq 0.0001$ ). Only species *T. harzianum*, *T. virens*, *T. spirale*, *T. brevicompactum*, *T. koningiopsis*, and *T. asperellum* showed parasitism on *M. roreri*. The %AP ranged from 3.4 to 69%. Temperature optimal for CM and PdC of the evaluated isolates ranges from 25 to 30°C. Based on the characteristics assessed, promising isolates for biological control of *M. roreri* are *T. virens* (TTC017) and *T. harzianum* (TTC090, TTC039 and TTC073).

## **AGRADECIMIENTOS**

**Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)** por el apoyo económico durante los dos años de maestría.

**Al Colegio de Postgraduados Campus Tabasco** por permitirme realizar la maestría en el programa de Producción Agroalimentaria en el Trópico (PROPAT).

**Al Dr. Carlos Fredy Ortiz García**, por su amistad, confianza, dirección y apoyo en el desarrollo de la tesis y durante mi estancia en el campus Tabasco.

**A la Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce**, por su paciencia, motivación y participación en el desarrollo y conclusión de la tesis.

**A la Dra. Luz del Carmen Lagunes Espinoza**, por su amable motivación en el desarrollo del proyecto, y por sus asesorías siempre acertadas.

**Al Dr. Magdiel Torres de la Cruz**, por su oportuna asesoría y facilidades brindadas en el desarrollo de la presente investigación.

**A todos los profesores del campus**, que compartieron sus conocimientos, experiencias y asesorías, siendo parte fundamental en mi formación.

**Al M.C. J. Antonio Tafoya Razo**, por todo su apoyo brindado y disposición.

**Al personal de los laboratorios del campus Tabasco**, que nos brindaron todas las facilidades en la conclusión del proyecto, y en especial al laboratorio de Fitopatología, a la señora Isabel, al M.C. Eder y Rebeca por su apoyo.

**A la Lic. Elsy y Deya**, por todos sus apoyos brindados.

## **DEDICATORIA**

**A Dios**, por darme fortaleza, entendimiento, salud, por estar ahí siempre, lado a lado.

**Al Colegio de Posgraduados Campus Tabasco**, es un orgullo ser parte de esta institución.

**A la Universidad Autónoma Chapingo mi Alma Mater**, siempre llevando su formación.

**A mis maravillosos padres, Martha y Miguel**, por sus oraciones y apoyo incondicional.

**A mis hermanos, Jorge Miguel y Angel Daniel**, por sus consejos y aliento a seguir adelante.

**A Leticia**, por sus motivaciones que nunca faltaron en aquellos momentos difíciles, por esa alegría que contagia, gracias por cada instante dedicado.

**A Rodolfo y Fabiola**, quienes hicieron esta estancia mucho más amena apoyándonos mutuamente.

**A mis amigos, Gudelia, Estela, Rosa Cecilia, David, Darinel**, por su amistad y confianza.

**A Elba**, gracias por todos los momentos compartidos.

Esta investigación fue financiada por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y el Programa de mejoramiento del profesorado (PROMEP) de la Secretaría de Educación Pública.

## CONTENIDO

RESUMEN .....	II
ABSTRACT .....	III
1 INTRODUCCIÓN .....	1
2 REVISIÓN DE LITERATURA.....	5
2.1 Cultivo del cacao .....	5
2.2 Aspectos fitosanitarios e importancia de <i>Moniliophthora roreri</i> .....	7
2.3 Origen y distribución de <i>Moniliophthora roreri</i> .....	7
2.4 Taxonomía y morfología de <i>Moniliophthora roreri</i> .....	8
2.5 Manejo de <i>Moniliophthora roreri</i> .....	9
2.6 <i>Trichoderma</i> , importancia y distribución .....	10
2.7 Clasificación taxonómica de <i>Trichoderma</i> .....	11
2.8 Características estructurales de <i>Trichoderma</i> .....	12
2.9 Mecanismo de acción de <i>Trichoderma</i> .....	12
2.10 Uso de <i>Trichoderma</i> en el control de <i>Moniliophthora roreri</i> .....	14
3 MATERIALES Y MÉTODOS .....	15
3.1 Localización.....	15
3.2 Material biológico .....	15
3.2.1 Obtención de aislamientos utilizados de <i>Trichoderma</i> .....	15
3.2.2 Aislamientos evaluados.....	15
3.3 Establecimiento de los bioensayos .....	17
3.3.1 Habilidad micoparasítica de cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>M. roreri</i> .....	17
3.3.2 Antibiosis: evaluada como la inhibición del crecimiento radial .....	18
3.3.3 Antagonismo potencial .....	19
3.3.4 Efecto de la temperatura en el crecimiento micelial .....	19
3.3.5 Efecto de la temperatura en la producción de conidios.....	20
3.4 Análisis estadístico .....	21
4 RESULTADOS .....	22
4.1 Micoparasitismo .....	22



4.2 Antibiosis .....	23
4.3 Antagonismo potencial .....	25
4.4 Efecto de la temperatura en el crecimiento micelial .....	27
4.5 Efecto de la temperatura en la esporulación .....	30
5 DISCUSIÓN .....	33
6 CONCLUSIONES.....	38
7 RECOMENDACIONES .....	39
8 LITERATURA CITADA.....	40
9 ANEXOS .....	58

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág
Cuadro 1 Localización de los sitios de origen y aislamientos de <i>Trichoderma</i> en el estado de Tabasco, México.....	16
Cuadro 2 Micoparasitismo de especies nativas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>M. roreri</i> .....	22
Cuadro 3 Antibiosis de especies nativas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>M. roreri</i> .....	23
Cuadro 4 Antagonismo potencial de especies nativas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>M. roreri</i> .....	26
Cuadro 5 Crecimiento micelial de especies nativas de <i>Trichoderma</i> a 25, 30 y 35°C.....	28
Cuadro 6 Efecto de la temperatura en la esporulación de aislamientos nativos de <i>Trichoderma</i> .....	31

## ÍNDICE DE FIGURAS

	Pág.
Figura 1 Principales países productores de cacao.....	6
Figura 2 Estructuras morfológicas de <i>Moniliophthora roreri</i> .....	9
Figura 3 Interacción <i>Trichoderma</i> -Hongo hospedante.....	13
Figura 4 Esquema de evaluación del micoparasitismo de <i>Trichoderma</i> sobre <i>M. roreri</i> .....	17
Figura 5 Esquema de la evaluación de actividad antibiótica en cultivo dual.....	18
Figura 6 Halos de inhibición de crecimiento en cultivo dual a los 45 días de haber sembrado <i>Trichoderma</i> .....	24
Figura 7 Parasitismo de <i>Trichoderma</i> sobre <i>M. roreri</i> en cultivo dual a los 45 días de haber sembrado <i>Trichoderma</i> .....	25
Figura 8 Porcentaje del desarrollo micelial de <i>Trichoderma</i> a 25-30°C (■) y 25-35°C (□).....	29
Figura 9 Porcentaje de producción de conidios de <i>Trichoderma</i> a 25-30°C (■) y 25-35°C (□).....	32

## ÍNDICE DE ANEXOS

		Pág
Anexo 1	Antagonismo potencial (%) de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Moniliophthora roreri</i> .....	58
Anexo 2	Efecto de la temperatura de <i>Trichoderma</i> sobre el crecimiento micelial (mm <sup>2</sup> ) expresados en porcentaje (%)......	59
Anexo 3	Efecto de la temperatura sobre la esporulación de <i>Trichoderma</i> .....	60
Anexo 4	Evaluación del potencial de control biológico de <i>Trichoderma</i> .....	61

## 1 INTRODUCCIÓN

El cultivo de cacao (*Theobroma cacao* L.) ha sido un componente importante en las culturas Mesoamericanas por su comercio internacional. Sin embargo, desde las últimas décadas del siglo XX, en América Latina su producción ha disminuido considerablemente debido a la fluctuación del precio, al bajo potencial de rendimiento de las plantaciones y a la presencia de fitopatógenos (Phillips *et al.*, 2009).

En el estado de Tabasco, esta actividad está arraigada en la cultura agraria y popular, posee una base de conocimiento tradicional y su manejo en gran parte de la superficie cultivada depende de la organización familiar (Cordova *et al.*, 2008). Esta región en particular cuenta con más de 500 años de práctica, en donde se tiene un sistema de producción diversificado con sostenibilidad ecológica y económica (Córdova *et al.*, 2001).

Las plantaciones de cacao se caracterizan por ser un agroecosistema arbolado que forman un paisaje heterogéneo debido a la diversidad florística asociada. Debido a las condiciones climáticas donde se cultiva y por establecerse bajo un dosel diversificado de sombra, este agroecosistema tiene similitud con las selvas tropicales (Greenberg *et al.*, 2000). Sin embargo, el cacao forma un ecosistema que es altamente favorable para el desarrollo de enfermedades fungosas, por lo que los hongos se consideran entre los factores limitantes más importantes en la producción de este cultivo (Fulton, 1989).

Los fitopatógenos que causan enfermedades en el cacao se han convertido en uno de los principales temas en los programas de mejoramiento genético de este cultivo alrededor del mundo. *Phytophthora capsici* (Ortiz, 1996) y *Moniliophthora roreri*, agentes causales de la mancha negra y moniliasis del cacao (MC), respectivamente, están considerados como las principales limitantes parasíticas

del cultivo del cacao en México. La MC llega a provocar pérdidas que superan el 75% de la producción anual (Torres *et al.*, 2011).

El combate cultural mediante la eliminación de las fuentes de inóculo y las prácticas agrícolas que favorecen el desarrollo de la planta pero desfavorecen el del patógeno, han mostrado tener efectividad, aunque requieren de un esfuerzo permanente del agricultor para aplicarlas. El control químico ha sido efectivo en algunos casos, pero considerado poco rentable, sobre todo cuando los precios del cacao o la productividad del mismo son bajos, además del impacto ecológico (Phillips y Krauss, 2001). El uso de variedades resistente es una vía importante pero la baja proporción (1% en relación a los susceptibles) de materiales resistentes limitan su implementación; además de que el cultivo extensivo de materiales clonados aniquilaría la diversidad genética del cacao (Ortiz, 2011).

Una alternativa sustentable y complementaria es la utilización de hongos antagonistas en el control biológico de *M. royeri* y otros patógenos del cacao, ya que pueden ser muy promisorios, económicos y ayudarían a revertir la tendencia de abandono del cultivo en América (Phillips y Krauss, 2001). Los agentes de biocontrol tienen diferentes mecanismos de acción ofreciendo alternativas ecológicas de manejo de fitopatógenos (Zavaleta, 2000; Fravel, 2005).

Al respecto, diferentes agentes de control biológico se han evaluado en campo teniendo un efecto favorable en el control de *M. royeri*, que en combinación con el control cultural logran un mayor impacto en el manejo de la enfermedad (Krauss y Soberanis, 2002). Sin embargo, estos biofungicidas no están disponibles en México. Entre los agentes promisorios para el biocontrol de *M. royeri* destacan especies del género *Trichoderma* (Kubicek y Penttilä, 1998; Harman *et al.*, 2004; Villamil *et al.*, 2012).

En la búsqueda de agentes de control biológico, una de las estrategias básicas debe ser la exploración inicial de los enemigos naturales nativos a nivel regional, antes de introducir agentes exóticos (De Bach, 1968). En este razonamiento, en el estado de Tabasco, México, se han aislado de la rizósfera de *Theobroma cacao* 50 aislamientos de *Trichoderma*, mismos que han sido agrupados en nueve especies.

La variabilidad intraespecífica que ocurre en los hongos, en cuanto a desarrollo micelial, producción de conidios, respuesta a diferentes temperaturas, antibiosis y parasitismo (Drumond y Heale 1988; Ayala *et al.* 2005; De Sousa *et al.*, 2006) hace necesario evaluar y seleccionar los aislamientos nativos con las mejores características como agente de control biológico (Díaz *et al.*, 2009; Torres, 2013b). Así, con la finalidad de conocer el potencial de biocontrol de especies nativas sobre *M. roreri* y seleccionar los aislamientos con las mejores características antagónicas y fisiológicas, se planteó el presente proyecto de investigación.

## Objetivo General

- ✚ Evaluar el potencial de biocontrol de aislamientos nativos de *Trichoderma* sobre *Moniliophthora roreri*.

## Objetivos específicos

1. Determinar la habilidad parasítica y antibiótica de aislamientos nativos de *Trichoderma* sobre *M. roreri*.
2. Establecer el antagonismo potencial de aislamientos nativos de *Trichoderma* sobre *M. roreri*.
3. Caracterizar la capacidad de crecimiento y producción de conidios de aislamientos nativos de *Trichoderma* a diferentes temperaturas.
4. Seleccionar aislamientos nativos de *Trichoderma* con potencial para el control biológico de *M. roreri*.

## Hipótesis

Existen especies nativas de *Trichoderma* con parasitismo y antibiosis sobre *M. roreri* en el agroecosistema cacao, las cuales expresan diferentes comportamientos en crecimiento y esporulación al ser sometidas a diferentes temperaturas. Al sumar las características antagónicas y fisiológicas *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma* permiten seleccionar aislamientos promisorios para el control biológico de *M. roreri*.

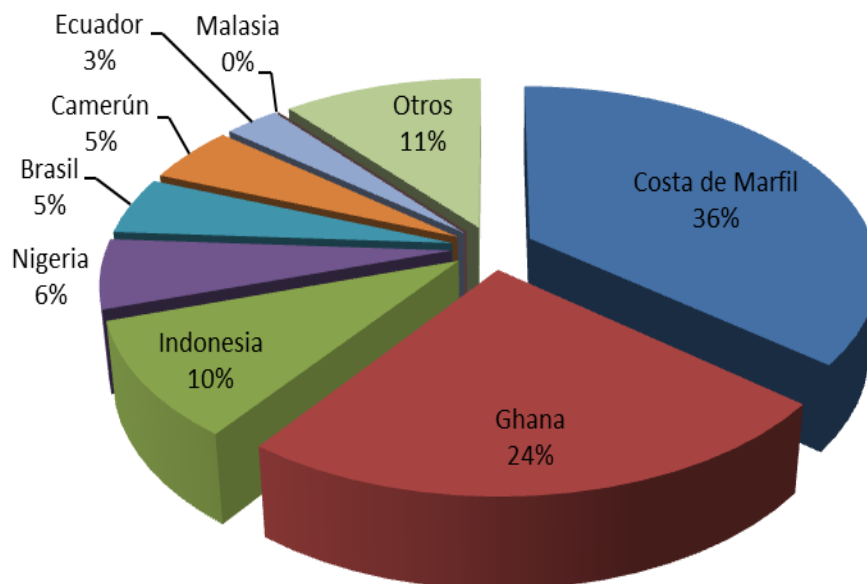


## 2 REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Cultivo del cacao

El cacao (*Theobroma cacao* L) es una especie de sombra de origen neotropical. En Mesoamérica, las áreas de producción correspondían a biosistemas húmedos con temperatura cálida, cercanas a corrientes de agua, bajo la sombra de árboles de mayor tamaño que al de cacao (Attolini, 2011). El cacao se distribuye desde Sudamérica hasta México, desde los 18° norte y 15° latitud sur, particularmente de la cuenca amazónica (Whitlock *et al.*, 2001) región considerada como su centro de origen (Cuatrecasas, 1964). De estos lugares se dispersaron los dos tipos principales de cacao, el Criollo y el Forastero (Wood, 1978). En México se distribuyen naturalmente dos especies del género *Theobroma*: *T. cacao* L. y *T. bicolor* (Ogata, 2007). *T. cacao* pertenece al orden Malvales, anteriormente el género se describió en la familia Sterculiaceae (Font Quer, 1977) y se ha propuesto incluirlo dentro de la familia Malvaceae *sensu lato* (Judd y Manchester 1997; Alverson *et al.* 1999; Bayer *et al.*, 1999). El género *Theobroma* esta compuesta por 22 especies descritas (Hardy, 1960).

El cacao se cultivó exclusivamente en el Continente Americano hasta 1860 (Ogata, 2007). Actualmente se cultiva en África Occidental, Sudamérica y Asia. A nivel mundial, los principales países productores son Costa de Marfil, Ghana, Indonesia, Nigeria, Camerún, Brasil, Ecuador y Malasia (Figura 1) en donde se concentra alrededor del 90% de la producción. A principios de 1970, la producción de cacao se concentraba en Ghana, Nigeria, Costa de Marfil y Brasil. La fiebre del cacao ha ganado varias regiones en Indonesia, Malasia y las islas del Pacífico. En el año 2012, México ocupó el onceavo lugar en producción a nivel mundial (UNCTAD, 2012).



**Figura 1.** Principales países productores de cacao.

Fuente: Secretaría de la UNCTAD, estadísticas de la Organización Internacional del Cacao, boletín trimestral de las estadísticas del cacao (2012).

En México, el cacao se siembra en 61,322 ha entre Tabasco y Chiapas, con una producción de 27,844 t, y un rendimiento promedio de 0.46 t.ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2014). El cacao se produce principalmente en los estados de Tabasco (que aporta el 66.6% en una superficie de 40,782.70 ha con una producción de 18,551 t), Chiapas (que representa el 32.6% de la producción nacional con 20,544 ha sembradas y se cosecharon 9,080 t), Guerrero (contribuye con un 0.76% en 237 ha obteniendo 213 t) y Oaxaca (en el año 2011 se reporta 22 ha y no presenta datos de producción) (SIAP, 2011; SIAP, 2014).

La región productora de cacao del estado de Tabasco se distribuye en los municipios de Huimanguillo, Paraíso, Cárdenas, Tacotalpa, Balancán, Nacajuca, Comalcalco, Cunduacán, J. de Méndez y Teapa. La cosecha se realiza prácticamente durante todo el año en diferentes fechas, destacando la que se inicia en septiembre y termina en febrero del año siguiente (ASERCA, 1994).

## **2.2 Aspectos fitosanitarios e importancia de *Moniliophthora roreri***

Los fitopatógenos se consideran entre los factores limitantes más importantes en la producción del cacao. *Moniliophthora roreri* es el agente causal de la moniliasis del cacao (MC), una de las enfermedades más importantes en este cultivo (Phillips, 2003). Se ha reportado como dos veces más destructiva que la mazorca negra (*Phytophthora palmivora* o *Phytophthora capsici*) y más dañina y de difícil control que la escoba de bruja (*Moniliophthora perniciosa*) (Aránzazu, 2000). La abundante esporulación externa de *M. roreri* facilita su dispersión (Maddison *et al.*, 1995). En Tabasco, México, las pérdidas por este patógeno superan el 75% y pueden alcanzar el 100% en plantaciones mal manejadas (Torres *et al.*, 2011).

Las pérdidas dependen de factores tales como el tiempo que la enfermedad esté presente en el sitio; edad de la plantación, manejo del cultivo y de la enfermedad; presencia de plantaciones colindantes infectadas y condiciones ambientales (Phillips y Wilkinson, 2007). En un contexto mundial, las pérdidas causadas por *M. roreri* son proporcionalmente pequeñas comparadas con las pérdidas globales de *Phytophthora* spp. porque tiene una mayor distribución. Sin embargo, la diseminación de este patógeno a otras latitudes podría tener efectos superiores en la actividad cacaotera mundial (Phillips, 2004). En los países donde se ha presentado esta enfermedad, ha ocasionado el total abandono de las plantaciones (Krauss y Soberanis, 2001; Enríquez *et al.*, 1982).

## **2.3 Origen y distribución de *Moniliophthora roreri***

Ecuador fue considerado inicialmente como el probable centro de origen de *M. roerei*. Sin embargo, Phillips (2003) ubica al noroeste de Colombia con la mayor diversidad genética del agente causal que supera a la encontrada en Ecuador, por lo que ubica a esta área como el centro de origen más probable. Actualmente, *M. roreri* solamente está presente en el Continente Americano (Phillips *et al.*, 2007).

Se reportó en Colombia en 1817 (Phillips, 2003), Ecuador en 1917 (Rorer, 1918), Venezuela en 1941 (Muller, 1941), Perú en 1950 (McLaughlin, 1950), Panamá en 1956 (Orellana, 1956), Costa Rica en 1978 (Enríquez y Suárez, 1978), Nicaragua en 1980 (López y Enríquez, 1980), Honduras en 1997 (Porrás y Enríquez, 1998), Guatemala en 2002 (Phillips y Wikilson, 2007) y en Belice en 2004 (Phillips *et al.*, 2006b). En México se reportó por primera vez en los estados de Chiapas y Tabasco en el 2005 (Phillips *et al.*, 2006) y en dos años invadió todas las regiones productoras de cacao de Tabasco (CESVETAB-SAGARPA, 2007).

#### **2.4 Taxonomía y morfología de *Moniliophthora roreri***

El agente causal de la MC fue originalmente descrito por Ciferri y Parodi (1933) con la siguiente clasificación: clase: Deuteromycetes, orden: Hyphales, género: *Monilia* y especie: *Monilia roreri*. Posteriormente, Evans (1981) corrigió la taxonomía de este hongo ubicándolo como un organismo miembro de la clase de los Basidiomycete. Phillips (2003) mediante técnicas moleculares confirmó que *M. roreri* es un hongo Basidiomycete del orden Agaricales (Evans *et al.*, 1978) de la familia Marasmiaceae (Aime y Phillips, 2005). De acuerdo con Evans *et al.* (1978) y Aime y Phillips (2005), la clasificación taxonómica de *M. roreri* es la siguiente:

Clase: Basidiomycetes

Orden: Agaricales

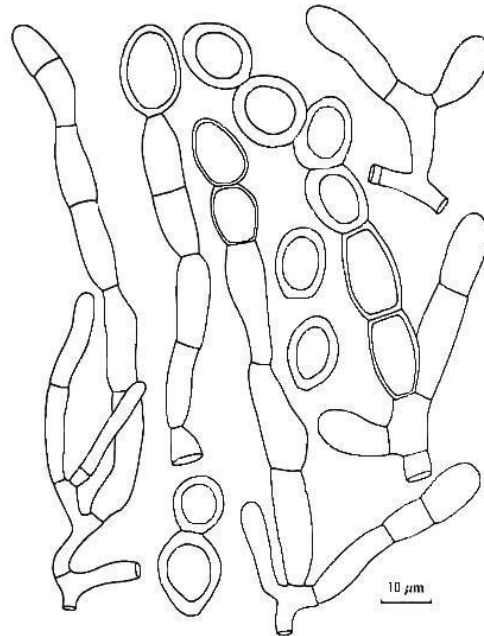
Familia: Marasmiaceae

Género: *Moniliophthora*

Especie: *Moniliophthora roreri*

*Moniliophthora roreri* posee micelio septado con doliporos (Figura 2). Las esporas son catenuladas con maduración basipétala (Evans, 1981) y de desprendimiento fácil del micelio; la pared es gruesa de color amarillo-pálido o café cuando se aglutinan. Las esporas principalmente globosas y elipsoides, las cuales se

presentan en una proporción aproximada al 60% y 30% con un diámetro promedio de 9  $\mu\text{m}$  y de 8.6 x 11.8  $\mu\text{m}$ , respectivamente (Phillips, 2003).



**Figura 2.** Estructuras morfológicas de *Moniliophthora roreri*, mostrando micelio septado y esporas con pared gruesa (Evans, 1981).

### 2.5 Manejo de *Moniliophthora roreri*

El hongo *M. roreri* únicamente infecta frutos en cualquier estado de desarrollo (Evans, 1981; Phillips y Wilkinson, 2007). Causa necrosis interna y externa (mancha chocolate), y la pérdida total de la mazorca. Sobrevive en frutos momificados que permanecen en el árbol de cacao después de la cosecha, los que aportan niveles elevados de inóculo durante todo el periodo de fructificación del cacao (Phillips, 2003; Evans, 1981), por lo que es necesario contar con un manejo integrando que opere, de forma directa e indirecta sobre la efectividad de inóculo primario y secundario; así como en la sobrevivencia de *M. roreri* (Torres *et al.*, 2011).

El manejo integrado se basa en los principios de exclusión, erradicación, protección y genético. Estos principios se aplican al combinar diversos métodos de

control como el cultural, físico, genético, biológico y químico, bajo un enfoque de manejo integrado del cultivo (Téliz y Mora, 2007; Ortiz *et al.*, 2015).

Las prácticas culturales han sido el método más aplicado para el combate de *M. royeri*, las cuales incluyen la remoción semanal de frutos enfermos (saneamiento) (Soberanis *et al.*, 1999; Krauss *et al.*, 2003), eliminación total de frutos en época de baja producción (González *et al.*, 1983; Bateman *et al.*, 2005), podas de mantenimiento, eliminación de renuevos, control de maleza, drenaje efectivo (Barros, 1966), cosecha oportuna de frutos (Bateman *et al.*, 2005) y poda de árboles de sombra (Galindo, 1984). El uso de fungicidas ha sido una práctica poco empleada, debido a las erráticas estrategias de evaluación de fungicidas (Evans, 1981) y al fluctuante precio del cacao que hacen incosteable la aplicación (Murillo y González, 1984). Así también, se han establecido programas para desarrollar material genético resistente (Phillips *et al.*, 2012); sin embargo, no se han hecho progresos notables en la utilización comercial de clones con resistencia a *M. royeri*. Krauss y Soberanis (2001), mencionan que el biocontrol ofrece potencial en el manejo de *M. royeri* mediante el uso de antagonistas. El control biológico es entonces la supresión de las actividades perjudiciales de un organismo por uno o más organismos, a menudo se hace referencia a los enemigos naturales (Pal y Gardener, 2006). Al respecto, especies del género *Trichoderma* han mostrado potencial de control sobre *M. royeri* (Evans *et al.*, 2003; Krauss *et al.*, 2006).

## **2.6 *Trichoderma*, importancia y distribución**

Las especies del género *Trichoderma* Pers. son organismos cosmopolitas habitante de suelos, madera en descomposición y restos de cultivos (Klein y Eveleigh, 1998). Están reconocidos como microorganismos "keystone o controladores" en los suelos forestales, debido a su participación en la descomposición, ciclo de nutrientes y en la regulación de la micoflora asociada (Smith, 1995). En el suelo, las poblaciones más grandes de *Trichoderma* se

encuentran en los horizontes orgánicos y en condiciones de alta humedad (Danielson y Davey, 1973). Diversas especies de este género están asociadas con la rizósfera de plantas o pueden relacionarse de manera endofítica (Harman *et al.*, 2004). Especies de *Trichoderma* se han utilizado ampliamente como agentes antagonistas de hongos fitopatógenos (ej. *Sclerotium rolfsii*, *Pythium oligandrum*, *Crinipellis pernicioso*, *Rhizoctonia solani*), así como potenciadores en el crecimiento de plantas. Sus rápidas tasas metabólicas, metabolitos antimicrobianos, y conformación fisiológica son factores clave que contribuyen principalmente a la capacidad antagónica de estos hongos (Verma *et al.*, 2007).

La habilidad de algunas de sus especies en producir enzimas, antagonizar hongos fitopatógenos o promover los mecanismos de defensa del hospedante (planta) lo convierten en un organismo excelente para uso en el control biológico (Samuels, 1996). Villamil *et al.* (2012), señala que en las plantaciones de cacao existen microorganismos nativos que muestran capacidad para actuar como biocontroladores de *M. royeri*. A diferencia de los frutos, el suelo representa una fuente más diversa de microorganismos nativos, entre los cuales según las pruebas *in vitro*, se encuentran antagonistas que representan una alternativa muy promisorio para el control biológico del agente causal de la moniliasis del cacao.

## **2.7 Clasificación taxonómica de *Trichoderma***

De acuerdo con Rossman *et al.* (1999), *Trichoderma* es clasificada en:

Subdivisión: Ascomycotina

Clase: Euascomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: *Hypocraceae*

Género: *Trichoderma*

## **2.8 Características estructurales de *Trichoderma***

*Trichoderma* presenta conidióforo hialino muy ramificado, no verticilado, fiálides individuales o en grupos (Barnett y Hunter, 1998). Presenta conidios hialinos, ovoides, globosos a subgloboso, elipsoidales u oblongos menores de 5  $\mu\text{m}$  de largo y ancho, de color verde oscuro profundo cercano a gris pasando por verde y verde amarillo. Los conidióforos no están bien definidos y los conidios tienden a acumularse en masas. Las clamidosporas tienden a ser de globosas a subglobosas, terminales o intercalares de tono verde, y menores a 15  $\mu\text{m}$  de diámetro (Samuels, 1996).

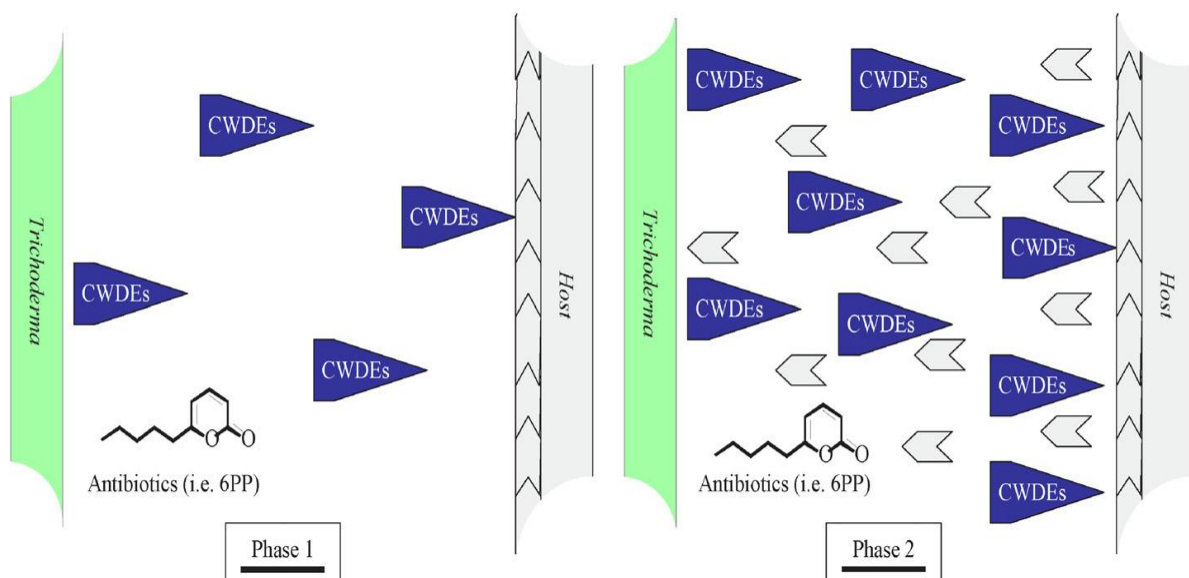
## **2.9 Mecanismo de acción de *Trichoderma***

Se han propuesto diferentes mecanismos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos. Estos mecanismos incluyen la producción de antibióticos, la competencia por nutrientes, la producción de enzimas que degradan la pared de las células del hospedante, la estimulación de los mecanismos de defensa de las plantas, y una combinación de estas posibilidades (Neethling y Nevalainen, 1996). El micoparasitismo se define como una simbiosis antagónica entre organismos, en la que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas y celulasas, y que se corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados (Melgarejo y Sagasta, 1989; Lorito *et al.*, 1990).

Durante el proceso de micoparasitismo, *Trichoderma* crece quimiotrópicamente hacia el hospedante (Chet, 1987). *Trichoderma* secreta enzimas hidrolíticas de manera constante y percibe la presencia del hongo hospedante mediante la detección de moléculas que se liberan durante el proceso de degradación de la pared celular a través de las interacciones lectinas-carbohidratos (Harman *et al.*, 2004; Lorito *et al.*, 2006; Woo y Lorito, 2007). *Trichoderma*, después de asegurar la hifa del fitopatógeno por apresorio o por enrollamiento libera enzimas



degradadoras de la pared celular (CWDEs: Celulasa, Quitinasa, Glucanasas, entre otras) y que hidrolizan la pared celular del hongo hospedante liberando productos de bajo peso molecular de las paredes celulares del hospedante que llegan al micoparásito (Kubicek *et al.*, 2001; De Marco *et al.*, 2003; Howell 2003; Woo *et al.*, 2006). Las lectinas son proteínas enlazadas a azúcares o glicoproteínas, las cuales aglutinan células y están involucradas en las interacciones entre los componentes de la superficie de las células y su ambiente extracelular (Barondes, 1981).



**Figura 3.** Interacción *Trichoderma*-Hongo hospedante (Vinale *et al.*, 2008).

Entre los metabolitos volátiles que produce *Trichoderma*, el 6-pentil  $\alpha$ -pirona (6PP) es el más conocido y estudiado (Collins y Halim, 1972) debido a su potente actividad de antibiosis (Cutler y Hill, 1994). La habilidad para producirlo es muy variada entre las diferentes especies, aún entre cepas de la misma especie (Cooney *et al.*, 1997). Este metabolito se relaciona con la habilidad hidrofóbica de adsorberse en las membranas celulares, formando una capa que impide la absorción de agua (Scarselletti y Faull, 1994).

## **2.10 Uso de *Trichoderma* en el control de *Moniliophthora roreri***

De manera *in vitro*, *Trichoderma ovalisporum* tiene capacidad micoparasítica y antagónica sobre *M. roreri* (Holmes, *et al.*, 2004). Evans *et al.* (2003) encontró una alta actividad micoparasítica de las especies de *Trichoderma harzianum*, *T. spirale* y *T. virens* quienes colonizaron completamente los pseudostromas de *M. roreri* en laboratorio. En aislamientos de *Trichoderma* realizados a partir de tejidos de *Theobroma cacao*, se presentó un 40% de antagonismo (Mejía *et al.*, 2008).

En campo Krauss y Soberanis (2001b) reportaron que aislamientos de *Trichoderma* (T-2 y T-3) redujeron significativamente los síntomas causados por *M. roreri*, coincidiendo con Seng *et al.* (2014) quienes observaron una disminución del 11% la incidencia de *M. roreri*. Los aislamientos T2 y T7 mostraron un buen efecto antagonista en Perú (Krauss y Soberanis, 2002), sin embargo al ser utilizados en Costa Rica estos no alcanzaron los niveles de biocontrol reportados en su país de origen (Krauss, 2003); probablemente se deba a una incompleta adaptación a las condiciones ambientales (Bateman *et al.*, 2005).

En estudios realizados adicionalmente al control biológico se reporta que *T. asperellum* estimula el crecimiento en plántulas de cacao, y que al mezclar con hongos micorrizicos arbusculares no siempre se tiene un efecto sigérgico (Tchameni *et al.*, 2011).

### **3 MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Localización**

El presente estudio se realizó en el laboratorio de Fitopatología del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, localizado en H. Cárdenas, Tabasco (entre coordenadas 17°58'35.8" de latitud norte y 093°23'08.5" de longitud oeste del meridiano de Greenwich) a una altitud de 20 msnm con temperatura media anual de 26°C y precipitación normal mayor a los 2000 mm anuales (CONAGUA, 2010).

#### **3.2 Material biológico**

##### **3.2.1 Obtención de aislamientos utilizados de *Trichoderma***

Los aislamientos se obtuvieron por el método de dilución en placa (Nelson *et al.*, 1983) a partir de muestras de suelo (rizosfera) recolectadas en plantaciones de nueve municipios cacaoteros del estado de Tabasco. Estas muestras forman parte de un estudio de diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México, y forman parte de la colección de *Trichoderma* de la División Académica de Ciencias Biológicas, Universidad Juárez Autónoma de Tabasco. Los aislamientos se identificaron morfológica y molecularmente con los indicadores ITS (datos no mostrados). El fitopatógeno *M. roreri* lo proporciono el Laboratorio de Fitopatología del Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, previamente identificado por morfología y secuencia de ITS (número de acceso GenBank: GU108605). Todos los aislamientos se conservaron y multiplicaron en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) a 25°C en condiciones de oscuridad.

##### **3.2.2 Aislamientos evaluados**

Se evaluaron 50 aislamientos agrupados en nueve especies de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. virens*, *T. asperellum*, *T. brevicompactum*, *T. koningiopsis*, *T. longibrachiatum*, *T. spirale*, *T. pleuroticola*, y *T. reesei*), siendo los más abundantes *T. harzianum* seguido de *T. virens* (Cuadro 1).

**Cuadro 1.** Localización de los sitios de origen y aislamientos de *Trichoderma* en el estado de Tabasco, México.

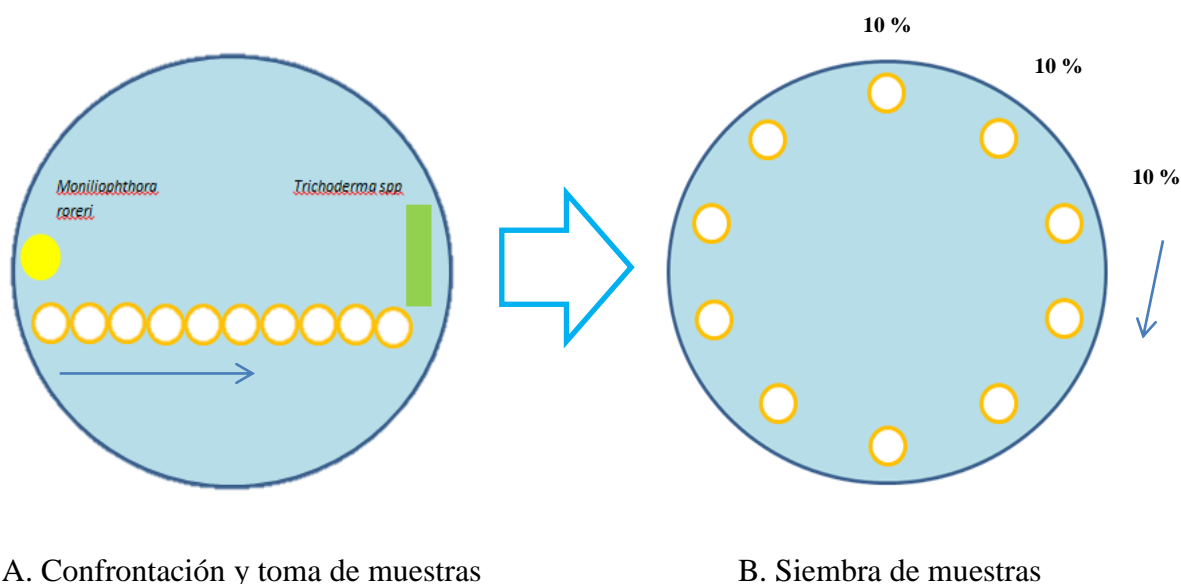
Municipio	Localidad	Latitud Norte	Longitud Oeste	Aislamiento*	Especie
Paraiso	R/a. Moctezuma 1	18°22'19.3"	93°13'42.4"	TTC001	<i>T. asperellum</i>
				TTC002	<i>T. asperellum</i>
				TTC003	<i>T. pleuroticola</i>
				TTC004	<i>T. spirale</i>
	Ej. Occidente-San Francisco	18°20'37.9"	93°15'24.5"	TTC007	<i>T. pleuroticola</i>
				TTC008	<i>T. pleuroticola</i>
Cardenas	R/a. Ocampo	18°01'46.7"	93°29'42.0"	TTC009	<i>T. harzianum</i>
				TTC014	<i>T. virens</i>
				TTC015	<i>T. virens</i>
		R/a. Rio Seco 1	18°03'47.2"	93°23'04.4"	TTC016
Comalcalco	R/a. Arena 4	18°13'25.4"	93°23'31.1"	TTC017	<i>T. virens</i>
				TTC020	<i>T. koningiopsis</i>
				TTC021	<i>T. koningiopsis</i>
				TTC023	<i>T. virens</i>
		R/a. Gregorio Méndez 1	18°14'59.9"	93°17'12.7"	TTC024
Cunduacan	Ej. José María Pino Suárez	18°08'30.1"	93°17'29.1"	TTC026	<i>T. longibrachiatum</i>
				TTC027	<i>T. longibrachiatum</i>
	R/a. La Piedra 1	18°07'45.2"	93°11'52.4"	TTC028	<i>T. longibrachiatum</i>
				TTC031	<i>T. virens</i>
Huimanguillo	R/a. Villa Flores 2	17°48'06.6"	93°24'16.5"	TTC032	<i>T. virens</i>
				TTC035	<i>T. asperellum</i>
	R/a. Paredón 1	17°44'59.6"	93°23'57.8"	TTC037	<i>T. harzianum</i>
				TTC039	<i>T. harzianum</i>
				TTC045	<i>T. brevicompactum</i>
	Ej. Rafael Martínez	17°42'56.8"	93°23'45.7"	TTC047	<i>T. brevicompactum</i>
Jalpa de méndez	R/a. Hermenegildo Galeana 2	18°10'33.4"	93°08'48.5"	TTC050	<i>T. brevicompactum</i>
				TTC051	<i>T. asperellum</i>
				TTC054	<i>T. spirale</i>
		Ej. Huapacal	18°11'48.1"	93°10'28.5"	TTC056
Centro	R/a. Plátano y cacao 4	17°59'04.2"	93°10'07.9"	TTC058	<i>T. virens</i>
				TTC059	<i>T. virens</i>
				TTC062	<i>T. harzianum</i>
	R/a. Buena vista 1	17°56'59.2"	93°06'23.2"	TTC063	<i>T. koningiopsis</i>
				TTC077	<i>T. harzianum</i>
				TTC081	<i>T. reesei</i>
R/a. González 4	17°57'29.6"	93°05'25.7"	TTC084	<i>T. koningiopsis</i>	
			TTC085	<i>T. spirale</i>	
			TTC086	<i>T. brevicompactum</i>	
Tacotalpa	Ej. Zunuy y patastal	17°28'10.3"	92°50'56.7"	TTC088	<i>T. longibrachiatum</i>
				TTC090	<i>T. harzianum</i>
	R/a. Puyacatengo 1	17°39'37.2"	92°54'20.7"	TTC093	<i>T. spirale</i>
				TTC100	<i>T. harzianum</i>
				TTC101	<i>T. longibrachiatum</i>
				TTC102	<i>T. virens</i>
Ej. Vicente Guerrero	17°30'15.7"	92°54'02.5"	TTC104	<i>T. virens</i>	
			TTC115	<i>T. harzianum</i>	
Teapa	R/a. Allende	18°09'38.1"	93°02'00.8"	TTC113	<i>T. reesei</i>
				TTC073	<i>T. harzianum</i>
				TTC076	<i>T. harzianum</i>
	Ej. Allende 2	17°33'20.0"	92°59'08.7"	TTC109	<i>T. harzianum</i>
TOTAL DE AISLAMIENTOS: 50					

\*TTC: *Trichoderma* Tabasco Cacao, seguidas del número de aislamiento.

### 3.3 Establecimiento de los bioensayos

#### 3.3.1 Habilidad micoparasítica de cepas de *Trichoderma* sobre *M. royeri*

Para determinar la habilidad micoparasítica de los aislamientos de *Trichoderma*, se aplicó el método de cajas Petri precolonizadas (Foley y Deacon, 1985; Krauss *et al.*, 1998) modificado por Evans *et al.* (2003). Un disco de 5 mm de diámetro de micelio de *M. royeri* de 10 días de edad se colocó cerca del borde de una caja Petri de 9 cm de diámetro con medio PDA y se incubó durante 37 días a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  en condiciones de oscuridad. Una vez que *M. royeri* colonizó completamente el medio de cultivo, a este se le sembró un bocado de *Trichoderma* (0.5 x 2.5 cm) de cuatro días de edad en el lado opuesto a *M. royeri* y se incubaron nuevamente durante 15 días bajo las mismas condiciones señaladas en precolonización.



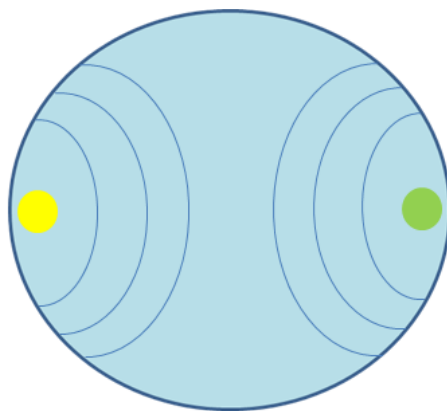
**Figura 4.** Esquema de evaluación del micoparasitismo de *Trichoderma* sobre *M. royeri*.

Finalizado el periodo de incubación, se extrajeron 10 muestras lineales (0.5 mm de diámetro) de manera consecutiva, iniciando de *M. royeri* y en dirección a *Trichoderma* (Figura 4A). Las muestras se sembraron en la periferia de otra caja Petri de 9 cm con PDA por cada pareja confrontada (tratamiento) de acuerdo al esquema de la Figura 4B. Éstas se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  en oscuridad y se

observaron durante una semana para registrar el crecimiento de *Trichoderma* o en su caso de *M. royeri*, y se determinó el porcentaje de micoparasitismo de acuerdo al número de muestras positivas a *Trichoderma* con respecto a las positivas a *M. royeri*. Todos los tratamientos se replicaron cinco veces.

### 3.3.2 Antibiosis: evaluada como la inhibición del crecimiento radial

La antibiosis de los aislamientos de *Trichoderma* se evaluó por el método de Bradshaw *et al.* (1991) modificado por Holmes *et al.* (2004). Para establecer la colonia, un fragmento de 5 mm de diámetro de *M. royeri* de 10 días de edad con crecimiento activo (borde de una colonia) se colocó en la periferia de una caja Petri con medio PDA y se incubó durante una semana a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  en condiciones de oscuridad. Posteriormente, la colonia establecida de *M. royeri* se confrontó con el micoparásito (*Trichoderma*), para lo cual un fragmento de 5 mm de diámetro de *Trichoderma* (de cuatro días de edad) se sembró cerca del borde de la misma caja en el lado opuesto al que se colocó el disco con micelio de *M. royeri*. Todas las cajas se incubaron a  $25 \pm 1^\circ\text{C}$  en condiciones de oscuridad (Figura 5).



**Figura 5.** Esquema de la evaluación de actividad antibiótica en cultivo dual.

El tratamiento testigo consistió en cajas sembradas de *M. royeri* sin inoculación de *Trichoderma*. Los tratamientos establecidos tuvieron cinco repeticiones. El crecimiento radial de *Trichoderma* se registró diariamente hasta que uno de los

aislamientos tuviese contacto micelial con *M. roreri*. En cada caso se evaluó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial con la siguiente fórmula:

$$PA = (RT - RI) / (RT) \times 100$$

Donde:

PA: Porcentaje de antibiosis

RT: Radio testigo

RI: Radio en presencia del inóculo (*Trichoderma*)

### **3.3.3 Antagonismo potencial**

Para la determinación del antagonismo potencial (%AP) de cada aislamiento se utilizaron de manera conjunta el porcentaje de micoparasitismo (%MP) y de antibiosis (%ATP) según lo propuesto por García (2012):

$$\% AP = (\% MP + \% ATP) / 2$$

Donde:

%AP: Porcentaje de antagonismo potencial

% MP: Porcentaje de micoparasitismo

% ATP: Porcentaje de antibiosis

### **3.3.4 Efecto de la temperatura en el crecimiento micelial**

Para determinar el efecto de la temperatura sobre el crecimiento micelial (CM), se evaluó el desarrollo radial del micelio de cada cepa de *Trichoderma* usando el método descrito por López y Carbonell (1999). A partir de cultivos de *Trichoderma* de cuatro días de edad, se colocó un fragmento de 5 mm de diámetro (del borde de la colonia en crecimiento) en el centro de una caja Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo PDA. Cinco cajas (repeticiones) por cada cepa de

*Trichoderma* se incubaron a 25, 30 y 35 ± 1°C, con un fotoperiodo de 12 h (luz blanca). El crecimiento micelial se registró cada 12 horas en dos radios horizontales previamente dibujados en el reverso de la caja Petri (Dimbi *et al.*, 2004). La prueba finalizó hasta que una de las colonias llenó la caja Petri (60 horas). Las medidas del último registro de cada tratamiento fueron las que se consideraron para el análisis estadístico.

Para la mejor evaluación del crecimiento micelial de *Trichoderma*, se calculó el área de crecimiento (mm<sup>2</sup>) con el valor radial observado, aplicando la fórmula  $A = \pi r^2$ . Posteriormente, con las áreas obtenidas se calcularon los porcentajes de crecimiento micelial, tomando como crecimiento natural el desarrollo de los hongos sin su antagonista (se tiene como base que el 100% corresponde a los aislamientos que completaron el llenado de una caja Petri a las 60 horas) y con un vernier se midió el radio total de crecimiento. Los resultados se representaron en una gráfica donde se compara la ganancia o pérdida del porcentaje de área de crecimiento a 25, 30 y 35°C.

### **3.3.5 Efecto de la temperatura en la producción de conidios**

De manera independiente y a partir de cultivos de *Trichoderma* de cuatro días de edad, se tomó un fragmento de 5 mm de diámetro y se sembró en cinco cajas Petri con medio PDA por aislamiento. Los discos de micelio se incubaron a 25, 30 y 35 ± 1°C con fotoperiodo de 12 horas durante 17 días.

Después de la incubación, se colocó agua destilada estéril + tween<sup>®</sup> 80 al 0.1%, y se raspó la colonia con una espátula de acero inoxidable. La suspensión se filtró con gasa clínica y se agitó durante 10 min en un agitador magnético (Thermolyne<sup>®</sup>, Artur H. Thomas Co., Philadelphia, PA, EUA).



El conteo de conidios se realizó en cámara de Neubauer y la concentración de conidias  $\text{ml}^{-1}$  se estimó con la fórmula de Lipa y Slizynski (1973):

$$C = (Cc) (4 \times 10^6) (Fd / 80)$$

Donde:

C = Número de conidios  $\text{ml}^{-1}$

Cc = Número promedio de conidios contados en la cámara de Neubauer

Fd = Factor de dilución

### **3.4 Análisis estadístico**

Los datos de micoparasitismo (MP), antibiosis (AB), antagonismo potencial (AP), desarrollo micelial (DM) y producción conidial (PdC) se analizaron por separado, para cada variable, bajo un diseño completamente al azar, con cinco repeticiones por tratamiento, tomando cada caja de Petri como una unidad experimental. El MP, AB y AP consistió de 50 tratamientos (cada uno de los aislamientos). El DM y la PdC consistieron en 40 tratamientos debido a que se descartaron los aislamientos que no mostraron micoparasitismo. Previo al análisis, los datos de MP, AB y AP se transformaron al arcoseno de la raíz cuadrada de la proporción de x, y los datos de DM y PdC se transformaron a logaritmo de (x + 1), a fin de cumplir con la concición de normalidad a la distribución. Los datos se sometieron a un ANOVA y prueba de separación de medias (Tukey,  $\alpha=0.05$ ) mediante SAS® (1998).

## 4 RESULTADOS

### 4.1 Micoparasitismo

Se observaron diferencias significativas en el MP entre aislamientos de *Trichoderma* sobre *M. roreri* ( $F = 191.6 > 0.0001$  P,  $r^2 = 97$ ). El porcentaje de MP osciló de cero a 100 %. Los aislamientos TTC015, TTC023, TTC017, TTC100, TTC104, TTC058, TTC059, TTC014 y TTC062 tuvieron el 100% de MP en los primeros 15 días de incubación, mientras que TTC001, TTC063 y TTC024 mostraron los menores porcentajes (Cuadro 2).

**Cuadro 2.** Micoparasitismo de especies nativas de *Trichoderma* sobre *M. roreri*.

Aislamiento	Media* $\pm$ $\sigma$		Aislamiento	Media* $\pm$ $\sigma$	
TTC015	100 $\pm$ 0	A	TTC050	54 $\pm$ 5.4	GH
TTC023	100 $\pm$ 0	A	TTC037	54 $\pm$ 5.4	GH
TTC017	100 $\pm$ 0	A	TTC016	54 $\pm$ 5.4	GH
TTC100	100 $\pm$ 0	A	TTC045	52 $\pm$ 4.4	GH
TTC104	100 $\pm$ 0	A	TTC084	42 $\pm$ 4.4	HI
TTC058	100 $\pm$ 0	A	TTC032	42 $\pm$ 4.4	HI
TTC059	100 $\pm$ 0	A	TTC031	34 $\pm$ 5.4	IJ
TTC014	100 $\pm$ 0	A	TTC020	30 $\pm$ 0	IJK
TTC062	100 $\pm$ 0	A	TTC093	26 $\pm$ 5.4	JKL
TTC004	96 $\pm$ 5.4	AB	TTC035	24 $\pm$ 5.4	JKL
TTC047	94 $\pm$ 5.4	B	TTC051	22 $\pm$ 4.4	JKL
TTC090	92 $\pm$ 4.4	B	TTC002	20 $\pm$ 0	KLM
TTC039	84 $\pm$ 5.4	C	TTC001	16 $\pm$ 5.4	LM
TTC085	78 $\pm$ 4.4	CD	TTC063	16 $\pm$ 5.4	LM
TTC115	76 $\pm$ 5.4	CDE	TTC024	10 $\pm$ 0	M
TTC073	74 $\pm$ 5.4	CDEF	TTC003	0 $\pm$ 0	N
TTC086	74 $\pm$ 5.4	CDEF	TTC007	0 $\pm$ 0	N
TTC077	66 $\pm$ 5.4	DEFG	TTC008	0 $\pm$ 0	N
TTC056	64 $\pm$ 5.4	EFG	TTC026	0 $\pm$ 0	N
TTC054	64 $\pm$ 5.4	EFG	TTC027	0 $\pm$ 0	N
TTC009	62 $\pm$ 4.4	FG	TTC028	0 $\pm$ 0	N
TTC076	56 $\pm$ 5.4	GH	TTC088	0 $\pm$ 0	N
TTC102	56 $\pm$ 5.4	GH	TTC101	0 $\pm$ 0	N
TTC109	56 $\pm$ 5.4	GH	TTC081	0 $\pm$ 0	N
TTC021	54 $\pm$ 5.4	GH	TTC113	0 $\pm$ 0	N

\*Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $\alpha = 0.05$ ).

Los aislamientos que mostraron parasitismo sobre *M. roreri* pertenecen a las especies *T. virens*, *T. harzianum*, *T. spirale*, *T. brevicompactum*, *T. koningiopsis* y *T. asperellum*. Las cepas sin actividad micoparasitica sobre *M. roreri* corresponden a las especies de *T. pleuroticola*, *T. longibrachiatum* y *T. reesei*.

## 4.2 Antibiosis

Se encontraron diferencias estadísticamente significativas en el análisis de varianza ( $F = 48.3$ ,  $> 0.0001$  P, y  $r^2 = 92$ ) de Antibiosis (AB). Todos los aislamientos evaluados mostraron efecto antibiótico (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Antibiosis de especies nativas de *Trichoderma* sobre *M. royeri*.

Aislamiento	Media* $\pm$ $\sigma$		Aislamiento	Media* $\pm$ $\sigma$	
TTC051	55.5 $\pm$ 4	A	TTC016	30.9 $\pm$ 3	GHIJKLMNO
TTC084	52.8 $\pm$ 2.7	AB	TTC026	29.7 $\pm$ 4	HIJKLMNQP**
TTC020	48.9 $\pm$ 5	ABC	TTC058	28.5 $\pm$ 3.7	HIJKLMNQPQ
TTC002	46 $\pm$ 3.7	ABCD	TTC076	28.5 $\pm$ 4.8	IJKLMNQPQ
TTC021	44.3 $\pm$ 3.8	BCDE	TTC062	27.8 $\pm$ 1.5	IJKLMNQPQ
TTC024	43.2 $\pm$ 4.9	BCDEF	TTC109	27.3 $\pm$ 7.2	JKLMNQPQ
TTC056	41.2 $\pm$ 2.7	CDEFG	TTC003	26.6 $\pm$ 3.2	KLMNQPQ**
TTC077	41 $\pm$ 4	CDEFG	TTC113	25.8 $\pm$ 4.2	LMNQPQ**
TTC115	40.5 $\pm$ 0.6	CDEFG	TTC037	25.1 $\pm$ 4.7	MNOPQR
TTC063	40.2 $\pm$ 5.6	CDEFG	TTC054	24.7 $\pm$ 3.8	NOPQRS
TTC027	38.7 $\pm$ 1.2	CDEFGH**	TTC015	23 $\pm$ 1.5	OPQRST
TTC017	37.9 $\pm$ 3.7	DEFGHI	TTC045	21.1 $\pm$ 2	PQRSTU
TTC102	37.5 $\pm$ 6.7	DEFGHI	TTC081	20.3 $\pm$ 2.6	PQRSTUVWXYZ**
TTC085	37.1 $\pm$ 2.3	DEFGHIJ	TTC047	19.9 $\pm$ 2.6	QRSTUVWXYZ
TTC039	36.1 $\pm$ 4	DEFGHIJK	TTC104	19.8 $\pm$ 6.3	QRSTUVWXYZV
TTC035	35.6 $\pm$ 5	DEFGHIJKL	TTC014	16.8 $\pm$ 3.7	RSTUVW
TTC001	35.3 $\pm$ 3.3	EFGHIJKL	TTC031	16.2 $\pm$ 2.6	STUVW
TTC004	34.9 $\pm$ 1.4	EFGHIJKLM	TTC086	16 $\pm$ 1.4	STUVW
TTC088	34.7 $\pm$ 3.9	EFGHIJKLM**	TTC093	15.9 $\pm$ 4	TUVW
TTC073	33.9 $\pm$ 3.5	EFGHIJKLMN	TTC023	15.6 $\pm$ 2.9	TUVW
TTC007	33.4 $\pm$ 2.9	FGHIJKLMN**	TTC059	14.8 $\pm$ 3.9	TUVW
TTC028	32.4 $\pm$ 2.1	GHIJKLMNO**	TTC101	14.5 $\pm$ 3.4	UVW**
TTC090	32.4 $\pm$ 3.7	GHIJKLMNO	TTC008	13.1 $\pm$ 4.1	VWX**
TTC050	31.7 $\pm$ 2.1	GHIJKLMNO	TTC032	12.3 $\pm$ 1.5	WX
TTC009	31.5 $\pm$ 2.6	GHIJKLMNO	TTC100	6.8 $\pm$ 2.5	X

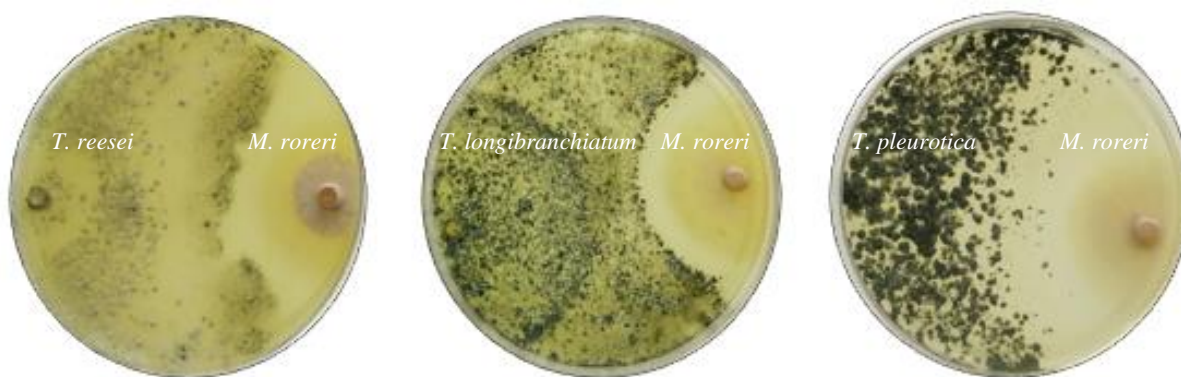
\* Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $\alpha = 0.05$ ).

\*\* Aislamientos sin micoparasitismo a *M. royeri*.

El porcentaje de AB fluctuó de 6.8 a 55.5%. Las cepas TTC051, TTC084, TTC020 y TTC002 mostraron los mayores porcentajes de inhibición en el crecimiento de *M. royeri*, mientras que TTC032 y TTC100 presentaron los porcentajes más bajos. Las especies de *T. asperellum* y *T. koningipsis* fueron las que tuvieron mayor efecto inhibitorio en el desarrollo de *M. royeri*.

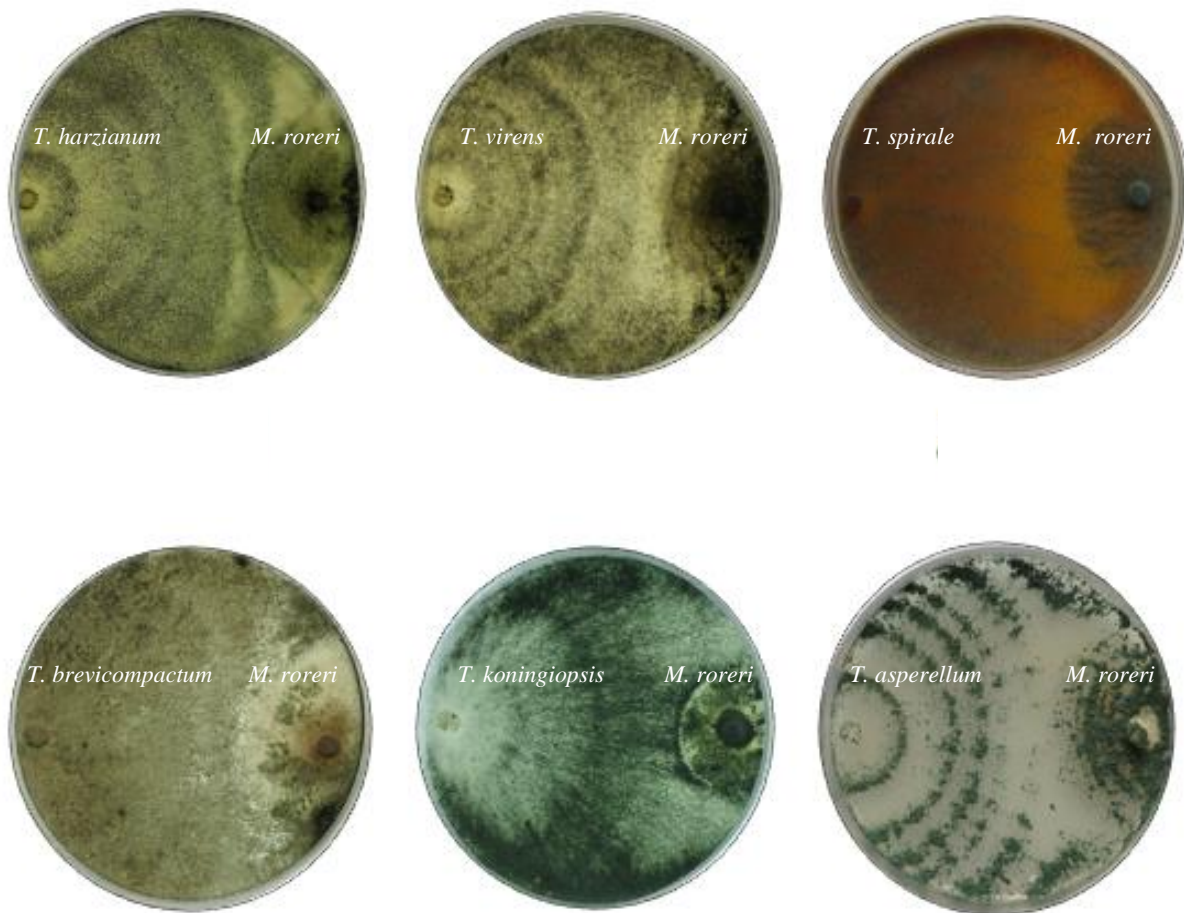
Los aislamientos [*T. reseei* (TTC081, TTC113), *T. longibranchiatum* (TTC026, TTC027, TTC028, TTC088, TTC101) y *T. pleuroticola* (TTC003, TTC007, TTC008)], que no presentaron MP en la prueba de cajas Petri precolonizadas, se

mantuvieron en incubación y se evaluaron nuevamente a los 45 días de establecida la prueba de cultivo dual. En todas las repeticiones se desarrolló un halo de inhibición en el crecimiento micelial de las especies (en los tres casos), sin percibirse contacto micelial entre ellas, lo que sugiere un efecto antibiótico (Figura 6). De esta manera, se corroboran los resultados obtenidos en la prueba establecida de MP y se plantea que *M. roreri* no es hospedero de *T. reesei*, *T. longibranchiatum* y *T. pleurotica*. Pero si ejercen acción antibiótica sobre *M. roreri*, como se muestra en la prueba de AB.



**Figura 6.** Halos de inhibición de crecimiento en cultivo dual a los 45 días de haber sembrado *Trichoderma*.

A los 45 días, las especies de *T. harzianum*, *T. virens*, *T. spirale*, *T. brevicompactum*, *T. koningiopsis*, y *T. asperellum* colonizaron y esporularon sobre el crecimiento de *M. roreri* (Figura 7).



**Figura 7.** Parasitismo de *Trichoderma* sobre *M. roreri* en cultivo dual a los 45 días de haber sembrado *Trichoderma*.

### 4.3 Antagonismo potencial

Todos los aislamientos expresaron AP con porcentaje del de 6.8 al 68.8% (Cuadro 4). Las cepas TTC017, TTC004, TTC058, TTC062 y TTC090 mostraron los mayores porcentajes de antagonismo en el crecimiento de *M. roreri* (>62%), mientras que los porcentajes más bajos se observaron en TTC027, TTC088, TTC007, TTC028, TTC023, TTC003, TTC113, TTC081, TTC101 y TTC008 (<20%), los cuales pertenecen a las especies que no son capaces de parasitar a *M. roreri*.

**Cuadro 4.** Antagonismo potencial de especies nativas de *Trichoderma* sobre *M. royeri*.

Aislamiento/Especie		Media* $\pm$ $\sigma$		Aislamiento/Especie		Media* $\pm$ $\sigma$	
TTC017	<i>T. virens</i>	68.8 $\pm$ 1.79	A	TTC016	<i>T. virens</i>	42.2 $\pm$ 3.03	HIJK
TTC004	<i>T. spirale</i>	65.2 $\pm$ 2.59	AB	TTC076	<i>T. harzianum</i>	42.2 $\pm$ 3.56	HIJK
TTC058	<i>T. virens</i>	64.2 $\pm$ 1.92	ABC	TTC109	<i>T. harzianum</i>	41.6 $\pm$ 6.31	HIJK
TTC062	<i>T. harzianum</i>	64 $\pm$ 0.71	ABC	TTC020	<i>T. koningiopsis</i>	39.6 $\pm$ 2.19	IJKL
TTC090	<i>T. harzianum</i>	62.2 $\pm$ 1.79	ABC	TTC037	<i>T. harzianum</i>	39.4 $\pm$ 3.21	IJKL
TTC015	<i>T. virens</i>	61.6 $\pm$ 0.89	ABCD	TTC051	<i>T. asperellum</i>	38.6 $\pm$ 3.21	JKL
TTC104	<i>T. virens</i>	60 $\pm$ 2.74	BCDE	TTC045	<i>T. brevicompactum</i>	36.6 $\pm$ 2.19	KLM
TTC039	<i>T. harzianum</i>	59.8 $\pm$ 3.90	BCDE	TTC002	<i>T. asperellum</i>	33 $\pm$ 1.87	LMN
TTC014	<i>T. virens</i>	58.8 $\pm$ 1.79	BCDE	TTC035	<i>T. asperellum</i>	29.8 $\pm$ 3.96	MNO
TTC115	<i>T. harzianum</i>	58.2 $\pm$ 2.95	BCDE	TTC063	<i>T. koningiopsis</i>	28 $\pm$ 5.05	NO
TTC085	<i>T. spirale</i>	57.6 $\pm$ 2.79	CDE	TTC032	<i>T. virens</i>	27 $\pm$ 1.73	NOP
TTC059	<i>T. virens</i>	57.6 $\pm$ 1.82	CDE	TTC024	<i>T. asperellum</i>	26.6 $\pm$ 2.50	NOP
TCC023	<i>T. virens</i>	57.6 $\pm$ 1.52	CDE	TTC001	<i>T. asperellum</i>	25.6 $\pm$ 2.30	OPQ
TTC047	<i>T. brevicompactum</i>	57 $\pm$ 3.16	CDE	TTC031	<i>T. virens</i>	25 $\pm$ 3.8	OPQ
TTC073	<i>T. harzianum</i>	54 $\pm$ 2.35	DEF	TTC093	<i>T. spirale</i>	20.8 $\pm$ 3.96	PQR
TTC077	<i>T. harzianum</i>	53.4 $\pm$ 3.78	EF	TTC027	<i>T. longibrachiatum</i> **	19.6 $\pm$ 0.55	QR
TTC100	<i>T. harzianum</i>	53.2 $\pm$ 1.30	EF	TTC088	<i>T. longibrachiatum</i> **	17.2 $\pm$ 1.92	RS
TTC056	<i>T. harzianum</i>	52.4 $\pm$ 2.19	EFG	TTC007	<i>T. pleuroticola</i> **	16.8 $\pm$ 1.48	RS
TTC021	<i>T. koningiopsis</i>	49.2 $\pm$ 4.32	FGH	TTC028	<i>T. longibrachiatum</i> **	16.2 $\pm$ 1.1	RS
TTC084	<i>T. koningiopsis</i>	47.4 $\pm$ 1.40	FGH	TTC026	<i>T. longibrachiatum</i> **	15 $\pm$ 2.0	RST
TTC009	<i>T. harzianum</i>	46.8 $\pm$ 2.17	FGHI	TTC003	<i>T. pleuroticola</i> **	13.2 $\pm$ 1.64	ST
TTC102	<i>T. virens</i>	46.8 $\pm$ 5.17	FGHI	TTC113	<i>T. reesei</i> **	13 $\pm$ 2.12	ST
TTC086	<i>T. brevicompactum</i>	45 $\pm$ 3.67	GHIJ	TTC081	<i>T. reesei</i> **	10 $\pm$ 1.22	TU
TTC054	<i>T. spirale</i>	44.4 $\pm$ 3.21	HIJ	TTC101	<i>T. longibrachiatum</i> **	7.2 $\pm$ 1.48	U
TTC050	<i>T. brevicompactum</i>	42.8 $\pm$ 2.17	HIJK	TTC008	<i>T. pleuroticola</i> **	6.8 $\pm$ 1.79	U

\* Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $\alpha = 0.05$ ).

\*\* Aislamientos sin micoparasitismo a *M. royeri*.

#### 4.4 Efecto de la temperatura en el crecimiento micelial

A 25° C se observaron diferencias significativas en el CM de los aislamientos evaluados ( $F = 47.31 > 0.0001 P$  y  $r^2 = 93$ ), el cual osciló entre 21 y 40 mm. Las cepas TTC063, TTC021, TTC084 y TTC017 fueron las que obtuvieron el mayor CM a las 60 h, mientras que TTC086, TTC014, TTC015 y TTC045 presentaron el menor CM (Cuadro 5).

A 30°C, el análisis mostró diferencias significativas ( $F = 65 > 0.0001 P$ , y  $r^2 = 95$ ). El CM fluctuó entre 18.3 mm y 40 mm. Las cepas TTC021, TTC084, TTC017, TTC100, TTC102, TTC104, TTC073 y TTC090 tuvieron el mayor CM a las 60 h. Las cepas con menor CM fueron TTC004 y TTC093 (Cuadro 5). De los 40 aislamientos analizados, se encontró que el CM de 30 de ellos incremento, en relación al CM a 25°C. Tres aislamientos mantuvieron el mismo CM a 25 y 30 °C, y siete aislamientos lo disminuyeron en su CM (Figura 8). La disminución del CM fue del 4 al 35% en su diámetro.

El CM fluctuó entre 2.1 a 29 mm, a 35°C. Respecto al CM de los aislamientos cuando se expusieron a 35 °C ( $F = 213 > 0.0001 P$ , y  $r^2 = 98$ ). La cepa TTC017 (*T. virens*) presentó el mayor CM, mientras que los aislamientos TTC054, TTC093 y TTC004 de la especie de *T. spirale* obtuvieron el menor CM. A esta temperatura, el CM de todos los aislamientos disminuyó con respecto al crecimiento a 25°C (del 12 hasta el 92% de diámetro).

De las especies que no parasitaron a *M. roreri*, los aislamientos TTC027, TTC028 y TTC101 de *T. longibrachiatum* presentaron buena adaptación al rango de temperaturas que se evaluó (25, 30 y 35°C), manteniendo una tasa de crecimiento similar, en cada una de ellas. La cepa TCC113 de *T. reesei* presentó un mayor crecimiento radial al aumentar la temperatura, mientras que los aislamientos de la

especie de *T. pleurotica* mantienen un crecimiento favorable de 25 a 30°C, y al aumentar a 35°C existe un efecto negativo en su desarrollo.

**Cuadro 5.** Crecimiento micelial de especies nativas de *Trichoderma* a 25, 30 y 35°C.

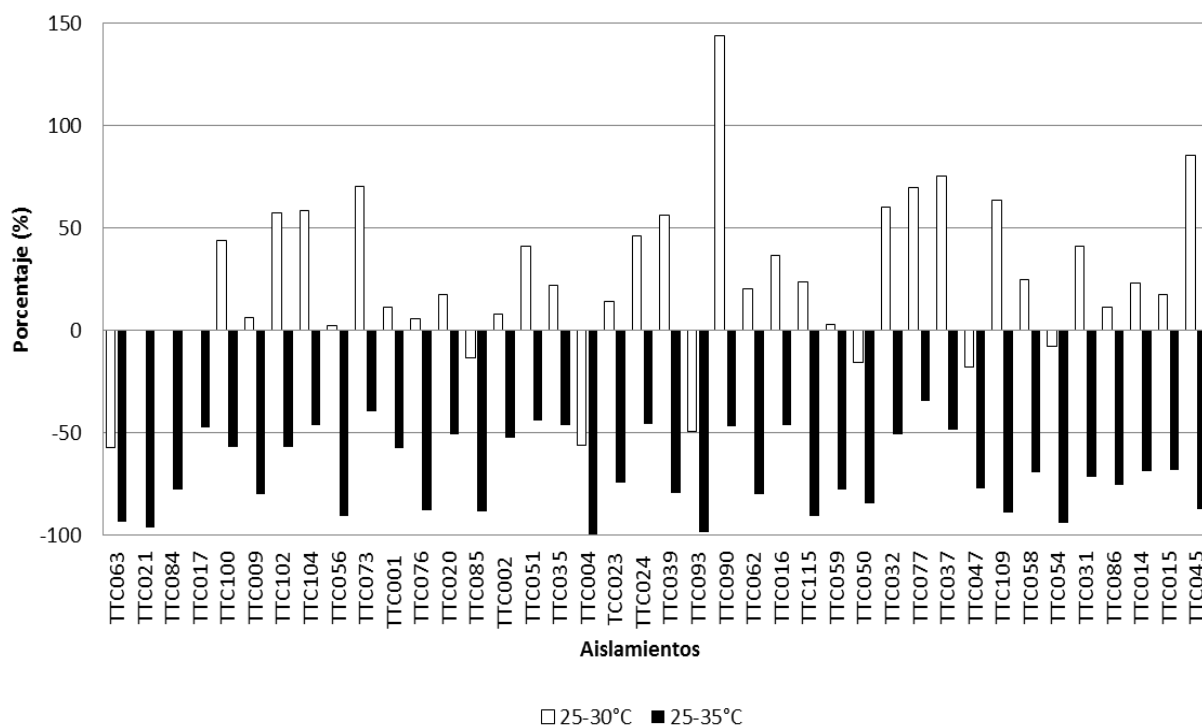
Cepa	25°C			30°C			35°C					
	Media ± σ	Área mm <sup>2</sup>	%	Media ± σ	Área mm <sup>2</sup>	%	Media ± σ	Área mm <sup>2</sup>	%			
TTC063	40±0	5026.6	100	A	26.1±0.3	2140.1	42.6	EFGH	10.1±0.2	321.7	6.4	HI
TTC021	40±0	5026.6	100	A	40±0	5026.6	100	A	7.9±0.1	195.1	3.9	JK
TTC084	40±0	5026.6	100	A	40±0	5026.6	100	A	19±0.7	1132.9	22.5	CD
TTC017	40±0	5026.6	100	A	40±0	5026.6	100	A	29±1	2645.7	52.6	A
TTC100	33.3±1	3492.1	69.5	B	40±0	5026.6	100	A	21.9±0.1	1505.4	29.9	BC
TTC009	32.7±1	3359.3	66.8	B	34±1.2	3567.9	71	B	14.7±0.3	682.6	13.6	EF
TTC102	31.9±1.4	3200.9	63.7	BC	40±0	5026.6	100	A	21±0.7	1384.1	27.5	BC
TTC104	31.8±1.1	3170.9	63.1	BC	40±0	5026.6	100	A	23.3±0.1	1708.5	34	B
TTC056	31.6±2.2	3143.0	62.5	BCD	32±1.7	3221.0	64.1	BC	9.6±0.1	288.9	5.7	IJ
TTC073	30.7±2.8	2955.1	58.8	BCDE	40±0	5026.6	100	A	23.9±0.5	1788.5	35.6	AB
TTC001	30.5±0.5	2928.2	58.3	BCDEF	32.2±0.9	3257.3	64.8	BC	19.9±0.8	1242.9	24.7	BCD
TTC076	30±0.1	2825.6	56.2	BCDEFG	30.8±2	2982.2	59.3	BCD	10.4±0.3	342.4	6.8	HI
TTC020	29.7±0.5	2767.4	55.1	BCDEFGH	32.2±1.4	3247.2	64.6	BC	20.9±0.3	1369.7	27.2	BC
TTC085	29.4±0.6	2708.1	53.9	BCDEFGHI	27.3±0.6	2338.0	46.5	DEFG	10±0.02	316.7	6.3	HI
TTC002	29.2±1.8	2686.0	53.4	BCDEFGHI	30.4±0.5	2905.3	57.8	BCDE	20.2±0.5	1280.6	25.5	BCD
TTC051	28.8±1.1	2600.3	51.7	BCDEFGHIJ	34.2±0.2	3663.8	72.9	B	21.5±0.9	1456.3	29	BC
TTC035	28.6±0.9	2569.7	51.1	BCDEFGHIJ	31.6±1.2	3129.1	62.3	BCD	21±1	1381.5	27.5	BC
TTC004	27.6±3.2	2391.4	47.6	CDEFGHIJJ	18.3±1.3	1047.5	20.8	K	2.1±1	13.5	0.3	N
TTC023	27.6±2	2401.8	47.8	CDEFGHIJK	19.5±0.6	2735.8	54.4	BCDEF	14±1.1	614.9	12.2	EFG
TTC024	26.9±1.5	2273.3	45.2	DEFGHIJKL	32.5±1.2	3318.3	66.0	BC	19.8±0.9	1231.6	24.5	BCD
TTC039	26.9±0.2	2275.0	45.3	EFGHIJKL	33.6±1.7	3553.1	70.7	B	12.3±0.2	473.7	9.4	FGH
TTC093	26±0.6	2127.0	42.3	FGHIJKL	18.5±0.7	1078.7	21.5	K	3.2±0.2	32.4	0.6	M
TTC090	25.6±1	2065.3	41.1	GHIJKLM	40±0	5026.6	100	A	18.7±1.5	1097.4	21.8	CD
TTC062	25.6±0.7	2063.7	41.1	GHIJKLM	28.1±0.3	2485.9	49.5	CDEFG	11.6±0.4	419.1	8.3	GHI
TTC016	25.5±1.1	2038.0	40.5	HIJKLMN	29.7±0.6	2778.6	55.3	BCDEF	18.7±0.2	1100.9	21.9	CD
TTC115	25.1±0.5	1985.6	39.5	IJKLMN	28.0±1.2	2454.2	48.8	CDEFG	7.7±0.2	188.3	3.7	K
TTC059	24.5±0.6	1890.4	37.6	JLMNOP	24.9±1.1	1947.8	38.8	GHI	11.6±1.1	421.3	8.4	GHI
TTC050	24.3±2.2	1852.0	36.8	KLMNO	22.3±0.4	1566.5	31.2	HIJ	9.7±0.5	292.6	5.8	IJ
TTC032	24±1.3	1803.5	35.9	KLMNOP	30.3±0.7	2884.3	57.4	BCDEF	16.8±1	885.6	17.6	DE
TTC077	23.6±0.6	1754.2	34.9	KLMNOP	30.8±1.5	2972.5	59.1	BCD	19.1±0.5	1148.5	22.8	CD
TTC037	23.2±1.2	1685.1	33.5	LMNOP	30.6±0.8	2949.4	58.7	BCD	16.6±0.5	868.8	17.3	DE
TTC047	22.2±2.8	1537.2	30.6	MNOP	20.0±2.1	1259.2	25.1	JK	10.6±0.2	355.7	7.1	HI
TTC109	22.1±0.8	1545.5	30.7	MNOP	28.3±1	2521.4	50.2	CDEFG	7.4±0.3	171.6	3.4	K
TTC058	22±0.7	1524.7	30.3	MNOP	24.6±0.1	1901.2	37.8	GHI	12.3±0.1	473.0	9.4	FGH
TTC054	22±1.1	1517.8	30.2	MNOP	21.1±3.6	1396.0	27.8	JK	5.5±0.08	94.8	1.9	L
TTC031	21.8±0.5	1490.3	29.6	NOP	25.9±0.1	2104.2	41.9	FGHI	11.7±0.9	429.3	8.5	GHI
TTC086	21.1±1.4	1404.0	27.9	OPQ	22.3±3.2	1559.5	31	IJ	10.5±0.7	347.7	6.9	HI
TTC014	20.9±0.3	1369.7	27.2	OPQ	23.1±1	1682.2	33.5	HIJ	11.7±0.4	432.3	8.6	GHI
TTC015	20.6±2	1329.3	26.4	PQ	22.3±1.3	1562.3	31.1	HIJ	11.6±0.1	422.7	8.4	GHI
TTC045	18.6±2.6	1082.2	21.5	Q	25.3±3.5	2004.6	39.9	GHI	6.7±0.1	139.3	2.8	KL
TTC003	29.8±0.8	2797.4	55.7	**	29±0.5	2620.3	52.1	**	18.7±1.1	1102.1	21.9	**
TTC007	28.3±1.6	2503.6	49.8	**	32±1.2	3302.0	65.7	**	14.8±0.5	1328.0	26.4	**
TTC008	28.2±2.7	2501.9	49.8	**	27±0.6	2243.0	44.6	**	14.2±0.8	653.3	13	**
TTC026	40±0	5026.6	100	**	40±0	5026.6	100	**	34.9±0.8	3825.5	76.1	**
TTC027	40±0	5026.6	100	**	40±0	5026.6	100	**	40±0	5026.6	100	**
TTC028	38.3±2.3	4615.6	91.8	**	40±0	5026.6	100	**	40±0	5026.6	100	**
TTC088	30.9±3.9	3007.4	59.8	**	40±0	5026.6	100	**	40±0	5026.6	100	**
TTC101	40±0	5026.6	100	**	40±0	5026.6	100	**	40±0	5026.6	100	**
TTC081	24.3±0.9	1858.1	37	**	36±1.6	3965.9	78.9	**	27±3.7	2305.5	45.9	**
TTC113	27.4±1.4	2365.5	47.1	**	40±0	5026.6	100	**	40±0	5026.6	100	**

\*Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $\alpha = 0.05$ ).

\*\*No se consideraron en la comparación de medias (Tukey  $\alpha = 0.005$ ).



A 30°C se tuvo un efecto favorable en el desarrollo del crecimiento micelial (mm<sup>2</sup>) en el 75% de los aislamientos. En los aislamientos TTC021, TTC084 y TTC017 no se observó variación en su crecimiento (Figura 8). Sin embargo, el aumento de la temperatura a 35°C tiene efecto negativo en la capacidad de crecimiento en todos los aislamientos, comparado al obtenido a 25°C.



**Figura 8.** Porcentaje del desarrollo micelial de *Trichoderma* a 25-30°C (■) y 25-35°C (□).

#### 4.5 Efecto de la temperatura en la esporulación

Hubo diferencias estadísticas significativas en en la producción de conidios (PdC) a 25°C ( $F = 632 > 0.0001 P$ ,  $r^2 = 99$ ). Las cepas con mayor PdC fueron TTC063 ( $3.1 \times 10^9$ ) y TTC051 ( $2.1 \times 10^9$ ) y las de menor esporulación TTC104 ( $1.8 \times 10^7$ ), TTC056 ( $1.5 \times 10^7$ ) y TTC093 ( $1.4 \times 10^7$ ). La PdC fluctuó de  $1.4 \times 10^7$  a  $3.1 \times 10^9$  (Cuadro 6).

También hubo diferencias significativas cuando los aislamientos se cultivaron a 30°C ( $F = 375 > 0.0001 P$ , y  $r^2 = 99$ ). A esta temperatura, la PdC osciló entre  $0.05 \times 10^8$  y  $2.6 \times 10^9$ . Las cepas TTC102 ( $2.6 \times 10^9$ ), TTC115 ( $2.3 \times 10^9$ ) y TTC017 ( $1.9 \times 10^9$ ) presentaron la mayor PdC, mientras que TTC056 ( $1.1 \times 10^8$ ), TTC093 ( $1.1 \times 10^8$ ) y TTC104 ( $0.05 \times 10^8$ ) mostraron la menor PdC. El 65% de los aislamientos mostraron un incremento en la PdC en relación a la producción obtenida a 25°C, y el 35% de los aislamientos mostraron una inhibición en la PdC que fluctuó de 2.5 hasta 83% (Figura 9).

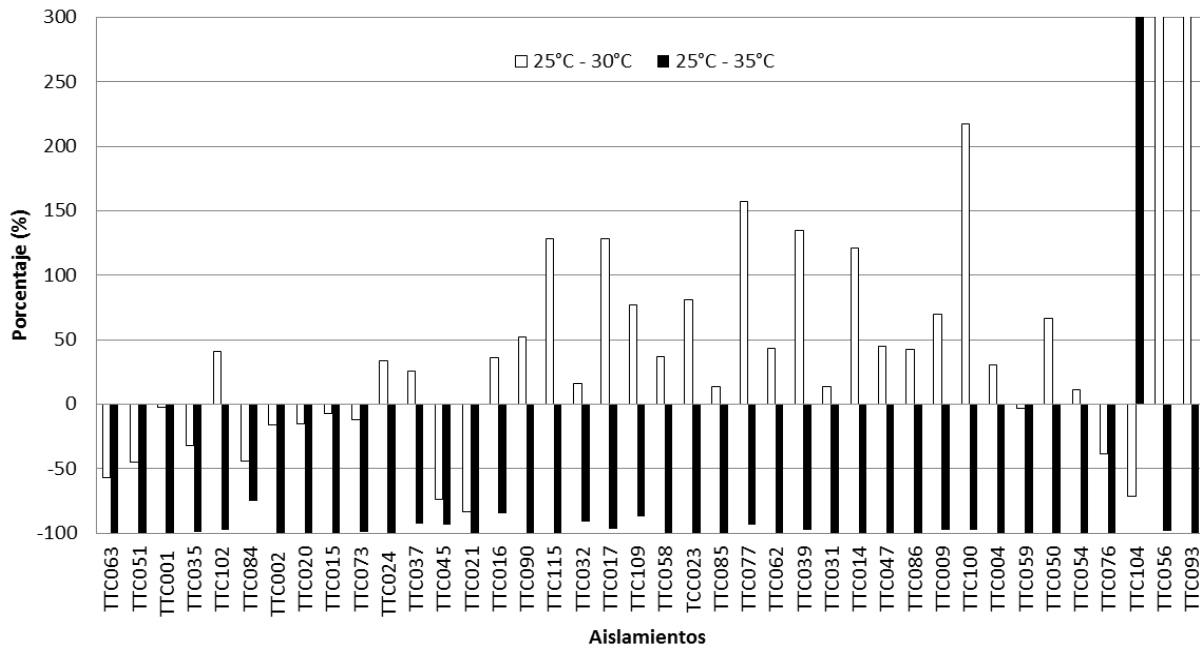
A 35°C, el análisis estadístico mostró diferencias significativas en la PdC entre los aislamientos ( $F = 11726 > 0.0001 P$ , y  $r^2 = 99$ ). La PdC osciló entre 0.0 y  $3.9 \times 10^8$ . Los aislamientos TTC084 ( $3.9 \times 10^8$ ), TTC104 ( $1.9 \times 10^8$ ), TTC016 ( $1.6 \times 10^8$ ) y TTC109 ( $1 \times 10^8$ ) mostraron la mayor PdC, mientras que la PdC se inhibió totalmente en los aislamientos TTC085, TTC047, TTC004, TTC050, TTC054 y TTC093. A esta temperatura, el 97.5% de los aislamientos mostraron una disminución en su PdC que fluctuó de 12.3 hasta 100%. Sólo, el aislamiento TTC104 mostró incremento en la PdC respecto a los valores obtenidos a 25°C. La especie de *T. spirale* no se encuentra adaptada a esta temperatura inhibiendo completamente la PdC (Cuadro 6).

**Cuadro 6.** Efecto de la temperatura en la esporulación de aislamientos nativos de *Trichoderma*.

Cepa	25°C		30°C		35°C	
	Media ± σ		Media ± σ		Media ± σ	
TTC063	3.1x10 <sup>9</sup> ±1.6x10 <sup>8</sup>	A	1.3x10 <sup>9</sup> ±3.3x10 <sup>8</sup>	EFGH	1.2x10 <sup>6</sup> ±2.1x10 <sup>5</sup>	LM
TTC051	2.1x10 <sup>9</sup> ±2.4x10 <sup>8</sup>	B	1.1x10 <sup>9</sup> ±1.6x10 <sup>8</sup>	FGHIJ	2.7x10 <sup>6</sup> ±1x10 <sup>5</sup>	I
TTC001	1.9x10 <sup>9</sup> ±3.5x10 <sup>7</sup>	BC	1.8x10 <sup>9</sup> ±5.4x10 <sup>7</sup>	BC	4.9x10 <sup>6</sup> ±1.5x10 <sup>5</sup>	H
TTC035	1.8x10 <sup>9</sup> ±1.1x10 <sup>8</sup>	BC	1.2x10 <sup>9</sup> ±1x10 <sup>8</sup>	EFGHI	1.3x10 <sup>7</sup> ±2.7x10 <sup>6</sup>	G
TTC102	1.8x10 <sup>9</sup> ±1.4x10 <sup>8</sup>	BC	2.6x10 <sup>9</sup> ±2.4x10 <sup>8</sup>	A	4.2x10 <sup>7</sup> ±3.5x10 <sup>6</sup>	E
TTC084	1.6x10 <sup>9</sup> ±1.2x10 <sup>8</sup>	BCD	8.9x10 <sup>8</sup> ±3.9x10 <sup>6</sup>	IJKLM	3.9x10 <sup>8</sup> ±2.6x10 <sup>7</sup>	A
TTC002	1.6x10 <sup>9</sup> ±2.1x10 <sup>8</sup>	CD	1.3x10 <sup>9</sup> ±2.2x10 <sup>8</sup>	EFGH	2.1x10 <sup>6</sup> ±5.1x10 <sup>5</sup>	IJ
TTC020	1.4x10 <sup>9</sup> ±3.6x10 <sup>7</sup>	DE	1.2x10 <sup>9</sup> ±5.2x10 <sup>7</sup>	EFGHIJ	1.7x10 <sup>6</sup> ±1x10 <sup>5</sup>	JK
TTC015	1.3x10 <sup>9</sup> ±2.1x10 <sup>8</sup>	DEF	1.2x10 <sup>9</sup> ±1.1x10 <sup>8</sup>	EFGHI	2.5x10 <sup>6</sup> ±0	PQ
TTC073	1.3x10 <sup>9</sup> ±2.3x10 <sup>8</sup>	DEFG	1.1x10 <sup>9</sup> ±1.3x10 <sup>8</sup>	FGHIJ	6.4x10 <sup>6</sup> ±3.5x10 <sup>5</sup>	H
TTC024	1.3x10 <sup>9</sup> ±2.8x10 <sup>7</sup>	DEFG	1.7x10 <sup>9</sup> ±7.4x10 <sup>7</sup>	BCD	1.3x10 <sup>6</sup> ±3x10 <sup>5</sup>	KL
TTC037	1.2x10 <sup>9</sup> ±1.3x10 <sup>8</sup>	EFG	1.5x10 <sup>9</sup> ±1.4x10 <sup>8</sup>	CDEF	8.6x10 <sup>6</sup> ±1.7x10 <sup>6</sup>	CD
TTC045	1.1x10 <sup>9</sup> ±1.2x10 <sup>8</sup>	EFGH	2.8x10 <sup>8</sup> ±2.8x10 <sup>7</sup>	OPQR	6.6x10 <sup>7</sup> ±1x10 <sup>6</sup>	D
TTC021	1x10 <sup>9</sup> ±8.7x10 <sup>7</sup>	FGHI	1.7x10 <sup>8</sup> ±1x10 <sup>7</sup>	QR	1.3x10 <sup>6</sup> ±1.7x10 <sup>5</sup>	KLM
TTC016	1x10 <sup>9</sup> ±6.8x10 <sup>7</sup>	FGHIJ	1.4x10 <sup>9</sup> ±1.4x10 <sup>8</sup>	DEFG	1.6x10 <sup>8</sup> ±1.5x10 <sup>7</sup>	B
TTC090	1x10 <sup>9</sup> ±8.9x10 <sup>7</sup>	FGHIJ	1.5x10 <sup>9</sup> ±1.9x10 <sup>8</sup>	BCDE	1.4x10 <sup>8</sup> ±1.9x10 <sup>5</sup>	KL
TTC115	9.9x10 <sup>8</sup> ±4.1x10 <sup>7</sup>	GHIJK	2.3x10 <sup>9</sup> ±6.8x10 <sup>7</sup>	A	1x10 <sup>6</sup> ±0	M
TTC032	8.4x10 <sup>8</sup> ±3.7x10 <sup>7</sup>	HJKLM	9.7x10 <sup>8</sup> ±8.2x10 <sup>7</sup>	HJKLM	7.4x10 <sup>7</sup> ±4.4x10 <sup>6</sup>	D
TTC017	8.2x10 <sup>8</sup> ±2.7x10 <sup>7</sup>	IJKLM	1.9x10 <sup>9</sup> ±2.1x10 <sup>8</sup>	B	2.6x10 <sup>7</sup> ±3x10 <sup>6</sup>	F
TTC109	7.9x10 <sup>8</sup> ±2.3x10 <sup>7</sup>	JKLMN	1.4x10 <sup>9</sup> ±2.7x10 <sup>7</sup>	DEFG	1x10 <sup>8</sup> ±2.7x10 <sup>6</sup>	C
TTC058	7.6x10 <sup>8</sup> ±4.4x10 <sup>7</sup>	KLMN	1x10 <sup>9</sup> ±1.5x10 <sup>8</sup>	GHIJK	2.8x10 <sup>5</sup> ±3.7x10 <sup>4</sup>	NOP
TTC023	7.2x10 <sup>8</sup> ±7.8x10 <sup>6</sup>	LMNO	1.3x10 <sup>9</sup> ±8.5x10 <sup>7</sup>	EFGH	3.5x10 <sup>5</sup> ±1.7x10 <sup>4</sup>	N
TTC085	7.1x10 <sup>8</sup> ±1.6x10 <sup>7</sup>	LMNO	8.1x10 <sup>8</sup> ±1x10 <sup>8</sup>	JKLM	0 ± 0	R
TTC077	6.6x10 <sup>8</sup> ±1.5x10 <sup>7</sup>	LMNO	1.7x10 <sup>9</sup> ±3.4x10 <sup>8</sup>	BCD	4.1x10 <sup>7</sup> ±2.7x10 <sup>6</sup>	E
TTC062	6.3x10 <sup>8</sup> ±3.6x10 <sup>7</sup>	MNO	9x10 <sup>8</sup> ±1x10 <sup>8</sup>	IJKLM	2.6x10 <sup>6</sup> ±2.3x10 <sup>4</sup>	NOPQ
TTC039	6.3x10 <sup>8</sup> ±2.1x10 <sup>7</sup>	MNO	1.5x10 <sup>9</sup> ±8.8x10 <sup>7</sup>	CDEF	1.4x10 <sup>7</sup> ±5.1x10 <sup>5</sup>	G
TTC031	6.3x10 <sup>8</sup> ±2.6x10 <sup>7</sup>	MNO	7.1x10 <sup>8</sup> ±4.1x10 <sup>7</sup>	KLMN	2.2x10 <sup>6</sup> ±2.1x10 <sup>5</sup>	IJ
TTC014	6.3x10 <sup>8</sup> ±1.2x10 <sup>7</sup>	NO	1.4x10 <sup>9</sup> ±1.1x10 <sup>8</sup>	DEFG	2.5x10 <sup>5</sup> ±1.1x10 <sup>4</sup>	OPQ
TTC047	6.2x10 <sup>8</sup> ±2.3x10 <sup>7</sup>	NO	9x10 <sup>8</sup> ±5x10 <sup>7</sup>	IJKLM	0 ± 0	R
TTC086	5.8x10 <sup>8</sup> ±2.6x10 <sup>7</sup>	OP	8.2x10 <sup>8</sup> ±8x10 <sup>7</sup>	JKLM	2.5x10 <sup>5</sup> ±0	PQ
TTC009	4.7x10 <sup>8</sup> ±3.1x10 <sup>7</sup>	PQ	8x10 <sup>8</sup> ±8.6x10 <sup>7</sup>	JKLM	1.3x10 <sup>7</sup> ±3.8x10 <sup>6</sup>	G
TTC100	4.7x10 <sup>8</sup> ±4.1x10 <sup>7</sup>	PQ	1.5x10 <sup>9</sup> ±2.6x10 <sup>8</sup>	CDEF	1.3x10 <sup>7</sup> ±3.4x10 <sup>6</sup>	G
TTC004	4.3x10 <sup>8</sup> ±1.9x10 <sup>6</sup>	QR	5.6x10 <sup>8</sup> ±2.7x10 <sup>7</sup>	MNOP	0 ± 0	R
TTC059	4.3x10 <sup>8</sup> ±2.7x10 <sup>7</sup>	QR	4.1x10 <sup>8</sup> ±5.6x10 <sup>7</sup>	NOPQ	3.4x10 <sup>5</sup> ±2.5x10 <sup>4</sup>	NO
TTC050	3.6x10 <sup>8</sup> ±5x10 <sup>7</sup>	R	6x10 <sup>8</sup> ±1.1x10 <sup>8</sup>	LMNO	0 ± 0	R
TTC054	3.4x10 <sup>8</sup> ±2.4x10 <sup>7</sup>	R	3.8x10 <sup>8</sup> ±2.3x10 <sup>7</sup>	NOPQ	0 ± 0	R
TTC076	3.3x10 <sup>8</sup> ±1.4x10 <sup>7</sup>	R	2x10 <sup>8</sup> ±2.6x10 <sup>7</sup>	PQR	2.7x10 <sup>5</sup> ±2.9x10 <sup>4</sup>	NOPQ
TTC104	1.8x10 <sup>7</sup> ±3.7x10 <sup>6</sup>	S	0.05x10 <sup>9</sup> ±4.8x10 <sup>3</sup>	R	1.9x10 <sup>8</sup> ±1.7x10 <sup>7</sup>	B
TTC056	1.5x10 <sup>7</sup> ±3.5x10 <sup>6</sup>	S	1.1x10 <sup>8</sup> ±2.2x10 <sup>7</sup>	QR	2x10 <sup>5</sup> ±0	Q
TTC093	1.4x10 <sup>7</sup> ±2.8x10 <sup>6</sup>	S	1.1x10 <sup>8</sup> ±1.4x10 <sup>7</sup>	QR	0 ± 0	R
TTC003	3.3x10 <sup>9</sup> ±2.3x10 <sup>8</sup>	**	1.7x10 <sup>9</sup> ±1.2x10 <sup>8</sup>	**	5x10 <sup>5</sup> ±0	**
TTC007	3.1x10 <sup>9</sup> ±4.3x10 <sup>7</sup>	**	1.5x10 <sup>9</sup> ±8.7x10 <sup>7</sup>	**	5x10 <sup>6</sup> ±5.8x10 <sup>4</sup>	**
TTC008	2.1x10 <sup>9</sup> ±1.8x10 <sup>8</sup>	**	1.4x10 <sup>9</sup> ±1.2x10 <sup>8</sup>	**	0 ± 0	**
TTC026	1.4x10 <sup>9</sup> ±1.2x10 <sup>8</sup>	**	1.5x10 <sup>9</sup> ±4.6x10 <sup>7</sup>	**	7.2x10 <sup>8</sup> ±3.8x10 <sup>7</sup>	**
TTC027	1.7x10 <sup>9</sup> ±9.6x10 <sup>7</sup>	**	1.9x10 <sup>9</sup> ±1.2x10 <sup>8</sup>	**	6.8x10 <sup>8</sup> ±2.1x10 <sup>7</sup>	**
TTC028	1.6x10 <sup>9</sup> ±1.8x10 <sup>8</sup>	**	1.6x10 <sup>9</sup> ±1.1x10 <sup>8</sup>	**	7.8x10 <sup>8</sup> ±4.1x10 <sup>7</sup>	**
TTC088	1.1x10 <sup>9</sup> ±1.3x10 <sup>8</sup>	**	8.8x10 <sup>8</sup> ±6x10 <sup>7</sup>	**	7.3x10 <sup>8</sup> ±3.7x10 <sup>7</sup>	**
TTC101	1.3x10 <sup>9</sup> ±1x10 <sup>8</sup>	**	1.5x10 <sup>9</sup> ±8.7x10 <sup>7</sup>	**	1.1x10 <sup>9</sup> ±1.5x10 <sup>8</sup>	**
TTC081	2.1x10 <sup>7</sup> ±2.6x10 <sup>6</sup>	**	1.8x10 <sup>8</sup> ±3.1x10 <sup>7</sup>	**	1.3x10 <sup>8</sup> ±2.8x10 <sup>7</sup>	**
TTC113	1.2x10 <sup>9</sup> ±1.5x10 <sup>8</sup>	**	1.7x10 <sup>9</sup> ±2.4x10 <sup>7</sup>	**	5.1x10 <sup>8</sup> ±3.9x10 <sup>7</sup>	**

\*Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey  $\alpha = 0.05$ ).

\*\* No se consideraron en la comparación de medias (Tukey  $\alpha = 0.005$ ).



**Figura 9.** Porcentaje de producción de conidios de Trichoderma a 25-30°C (■) y 25-35°C (□)

\*Los aislamientos TCC104, TCC56 y TCC93 se elevan hasta los valores (997%), (636%) y (629%) respectivamente.

A los 25, 30 y 35°C los aislamientos TTC026, TTC027, TTC028, TTC088 y TTC101 de la especie de *T. longibrachiatum* mantuvieron una esporulación  $\geq 6.8 \times 10^8$ . El aislamiento TTC113 de *T. ressei* mostró una buena producción de esporas en las tres temperaturas ( $\geq 5.1 \times 10^8$ ) y TTC081, de esta misma especie, mejoró la producción de esporas al pasar de 25 a 30°C y 35°C ( $\geq 1.3 \times 10^8$ ). Las especies de *T. pleurotica* a los 35°C presentaron la más baja esporulación de las tres especies sin micoparasitismo a *M. roreri* con una producción entre  $5 \times 10^6$  y cero.

## 5 DISCUSIÓN

*Trichoderma* es un género de hongos cosmopolita (Klein y Eveleigh, 1998). Estos hongos son componentes predominantes de la micobiota edáfica en varios ecosistemas, en los que se incluyen los agrícolas (De Bellis *et al.*, 2007). Algunas especies de este género se utilizan como agentes de control biológico de hongos fitopatógenos (Kubicek y Penttilä, 1998; Harman *et al.*, 2004). La habilidad de *Trichoderma* como agente de biocontrol, radica en su capacidad de competencia por espacio y nutrientes, parasitismo y antibiosis (Harman, 2006). Estos mecanismos son complejos y el efecto en el control de hongos fitopatógenos es el resultado de la acción sinérgica de los mismos (Howell, 2003). En el presente estudio, se evaluó el potencial de biocontrol de 50 aislamientos nativos de *Trichoderma* sobre el hongo *M. roreri*, con la finalidad de seleccionar los aislamientos más promisorios para el control de este fitopatógeno.

Los aislamientos de *Trichoderma* representaron a nueve especies aisladas del agroecosistema cacao en el estado de Tabasco, México, de las cuales *T. harzianum*, *T. virens*, *T. spirale*, *T. brevicompactum*, *T. koningiopsis*, y *T. asperellum* mostraron habilidad parasítica sobre *M. roreri* (Cuadro 2, Figura 7). La completa colonización del pseudostroma de *M. roreri* por aislamientos de *T. virens* (TTC015, TTC023, TTC107, TTC104, TTC058, TTC059, TTC014) y *T. harzianum* (TTC100, TTC062), resultó en la completa supresión del crecimiento (Cuadro 2). Al respecto, el micoparasitismo de aislamientos de *T. harzianum*, *T. virens*, *T. asperellum* y *T. koningiopsis* sobre *M. roreri* se ha confirmado previamente por Evans *et al.* (2003), Krauss *et al.* (2006) y Solís y Suárez (2006). Así también, aislamientos de *T. harzianum* y *T. virens* han mostrado micoparasitismo sobre *M. pernicioso*, agente causal de la escoba de bruja del cacao (García *et al.*, 2012).

En los Cuadros 2 y 3 se puede verificar que el mecanismo de antagonismo por parasitismo fue el más observado sobre *M. roreri*, donde la mayoría de los

aislamientos de *Trichoderma* mostraron valores más altos de parasitismo en relación a la antibiosis, excepto los aislamientos TTC020, TTC035, TTC051, TTC002, TTC001, TTC063 y TTC024, los cuales mostraron parasitismo del 10 al 30% (Cuadro 2) con antibiosis del 35.3 a 55.5% (Cuadro 3). Al respecto, la capacidad de control del crecimiento de *M. royeri* por micoparasitismo ha sido reportada como el principal mecanismo de control de aislamientos de *T. harzianum* (Krauss *et al.*, 2006) y *T. virens* (Solís y Suárez, 2006). El micoparasitismo también es el principal mecanismo de control reportado sobre *M. pernicioso* por *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. stromaticum*, *T. pseudokoningii*, *T. pilulliferum*, *T. atriviridae* (Samuels *et al.*, 2000; Sobowale *et al.*, 2005; De Souza *et al.*, 2008; García *et al.*, 2012). El porcentaje de parasitismo, mostrado por aislamientos de una misma especie, fue variable en este estudio, lo cual confirma que no todos los aislamientos de una misma especie actúan de la misma manera; por tanto, no se debe generalizar que determinadas especies de *Trichoderma* son excelentes antagonistas, ya que esto depende del aislamiento (Hoyos, 2008), así también el tiempo de exposición entre fitopatógeno y antagonista es determinante en la velocidad de parasitismo que presentan los diferentes aislamientos.

Al evaluar el efecto antibiótico de *Trichoderma* sobre *M. royeri*, todos los aislamientos mostraron antibiosis; sin embargo, los valores más altos (40 – 55.5 %) se presentaron con *T. asperellum*, *T. koningiopsis* y tres aislamientos de *T. harzianum* (Cuadro 3). La acción antibiótica de aislamientos de *T. harzianum* también se describió sobre el crecimiento micelial de *M. royeri* y *M. pernicioso* (Bailey *et al.*, 2008; Anejaa *et al.*, 2005), y para *T. virens*, *T. longibrachiatum*, *T. viride* y *T. harzianum* sobre otros fitopatógenos (Mukherjee *et al.*, 2006; Tarus *et al.*, 2003; Manjula *et al.*, 2004). A nuestro conocimiento, no existen estudios para comparar la antibiosis de *T. pleuroticola* sobre fitopatógenos.

La selección de aislamientos sólo por parasitismo o antibiosis puede resultar en discriminar algunos aislamientos con ambas capacidades. De acuerdo con Monte

(2001), la combinación de parasitismo y antibiosis puede resultar en niveles de antagonismos importantes. Así, al evaluar el antagonismo potencial (AP) como la sumatoria de MP y AB actuando sinérgicamente, se observó que los aislamientos TTC017, TTC058, TTC015 (*T. virens*), TTC062, TTC090 (*T. harzianum*) y TTC004 (*T. spirale*), mostraron los valores más altos de AP (Cuadro 4). Los aislamientos que presentaron el 100% de micoparasitismo no necesariamente presentaron una buena antibiosis, tal como sucede con TTC100, TTC023, TTC059 con un porcentaje de antibiosis  $\leq 15\%$ , por lo que al evaluarse simultáneamente en el AP, éste se ve reducido (Figura 4).

Para la selección de un aislamiento no es suficiente con obtener sus características antagónicas. Es necesario tomar en cuenta otras características del agente de biocontrol tales como crecimiento micelial, producción de conidios y el efecto de la temperatura sobre el crecimiento y conidiación (García *et al.*, 2012; Roberts y Campbell, 1977; Benz, 1987). De los resultados obtenidos en este estudio, en cuanto a crecimiento micelial, se observó que todos los aislamientos crecen en las tres temperaturas que se evaluaron (25, 30 y 35 °C) (Cuadro 5); sin embargo, los aislamientos con mayor potencial de crecimiento a estas temperaturas fueron TTC084, TTC017, TTC100 y TTC102. Se tuvo un efecto favorable para el 75% de los aislamientos al pasar de 25 a 30°C. Al respecto, Jalil *et al.* (1997) reportaron 27°C como la temperatura óptima para *T. harzianum*. Dado que las esporas son las estructuras activas de los agentes de biocontrol en hongos, su producción es también otra característica importante en la selección de aislamientos promisorios (Badilla *et al.*, 1996). Al respecto, el 85% de los aislamientos mostraron producción de conidios a 35°C (Cuadro 6), su tolerancia puede explicarse por el origen tropical de los aislamientos; sin embargo, el rango de temperatura más favorable para la PdC fue de 25 a 30°C. A 35 °C, la producción de conidios de los aislamientos de *T. spirale* se inhibió al 100%. Los aislamientos con mayor potencial de PdC, en el rango de temperaturas evaluadas, fueron TTC063, TTC051, TTC001, TTC035, TTC102 y TTC115, con una

producción promedio de esporas que superó  $1 \times 10^9$ . La selección de las cepas con mayor producción de conidios puede permitir, que en condiciones de campo, se produzca inóculo secundario, que se disperse de manera natural dentro de la plantación. La alta producción de conidios es una característica importante para la producción de agentes de biocontrol a escala comercial (Milner *et al.*, 1993).

El notable crecimiento y esporulación (Cuadro 5 y 6) de la mayoría de las cepas en un rango de 25 a 35 °C, sugiere su adaptabilidad a temperaturas altas (tropicales), y se observó que a 30°C se tuvo mejor respuesta en crecimiento y esporulación de manera general, muy semejante a las condiciones ambientales del estado de Tabasco (temperatura media anual de 26°C) donde se pretenden emplear como agente de biocontrol de las zonas cacaoteras. Al respecto, Fargues *et al.* (1992) reportaron que aislamientos de regiones tropicales fueron más termotolerantes que aislamientos de clima templado. Una relación entre la tolerancia térmica y el clima de origen ha sido mostrada para otras especies de Hyphomycetes incluyendo *Beauveria bassiana*, *B. brongniartii*, *Metarhizium flavoviride* var. *acridum*, *Paecilomyces fumosoroseus* y *Nomuraea rileyi* (Fargues *et al.*, 1992; Vidal *et al.*, 1997).

Los aislamientos de *T. longibrachiatum* y *T. reesei* no mostraron micoparasitismo sobre *M. roreri* (Cuadro 2, Figura 6), lo cual coincide con García *et al.* (2012), donde aislamientos de estas especies no mostraron parasitismo sobre *M. pernicioso*, especie emparentada con *M. roreri*. *T. pleurotica* fue otra de las especies que no mostró parasitismo sobre *M. roreri* (Cuadro 2, Figura 6); sin embargo, ha sido reportada como patógeno de hongos comestibles (Sobieralski *et al.*, 2012). *T. longibrachiatum*, *T. reesei* y *T. pleurotica* mostraron antibiosis sobre *M. roreri* (Cuadro 2 y 3, Figura 6 y 7), similar con lo documentado por García *et al.* (2012), en *T. longibrachiatum* y *T. reesei* no mostraron antibiosis sobre *M. pernicioso*. La presencia de antibiosis en aislamientos que no muestran micoparasitismo hacia *M. roreri*, sugiere que estas especies poseen metabolitos



con actividad antifúngica o bien, que no permiten el crecimiento del patógeno por los mecanismos de competencia por espacio y nutrientes. Al respecto, se ha documentado que *Trichoderma* produce péptidos y polipéptidos cíclicos antibióticos tales como trichodermina, trichodermol, harzianolide, y sustancias antifúngicas volátiles y no volátiles (Vinale *et al.*, 2005). Así también, *Trichoderma* produce sustancias antifúngicas volátiles y no volátiles tales como pyronas, furanonas, butenolides, peptaibols y dipertenos (García *et al.*, 2012). Por lo que estos estudios deben de hacerse en un futuro.

Los datos generados en esta investigación muestran que los aislamientos con buen AP no mostraron necesariamente los mejores resultados en CM y PdC (Cuadro 4, 5 y 6); sin embargo, considerando todas las características evaluadas, los aislamientos que presentaron las mejores características *in vitro* para ser considerados agentes potenciales de biocontrol de *M. royeri* fueron TTC017 perteneciente a *T. virens*, y TTC090, TTC039 y TTC073 de la especie de *T. harzianum*. Los resultados muestran que aislamientos de una misma especie pueden comportarse diferencialmente en sus propiedades micoparasiticas, antibióticas, crecimiento micelial y producción de conidios. De acuerdo con De Souza *et al.* (2006) existe variabilidad genética entre aislamientos de *Trichoderma* de la misma especie.

## 6 CONCLUSIONES

1. De nueve especies de *Trichoderma* evaluadas del agroecosistema cacao de Tabasco, seis presentan capacidad parasitica sobre *M. roreri*.
2. Todos los aislamientos de *Trichoderma* muestran antibiosis frente a *M. roreri*.
3. Se encontró variabilidad intraespecifica e interespecifica de *Trichoderma* en parasitismo, antibiosis, crecimiento micelial y esporulación.
4. El micoparasitismo fue el mecanismo de biocontrol más expresado en *M. roreri* de las especies evaluadas de *Trichoderma*.
5. El rango de temperatura favorable para los aislamientos de *Trichoderma* asociados al agroecosistema cacao fue de 25 - 30 °C.
6. Con base en las características evaluadas, los aislamientos promisorios para el control biológico de *M. roreri* son TTC017 (*T. virens*), TTC090, TTC039 y TTC073 (*T. harzianum*).
7. La variabilidad en las características evaluadas demuestran la importancia que tiene la caracterización *in vitro* de aislamientos, y manifiesta el potencial, de las especies de *Trichoderma* asociadas al agroecosistema cacao, para desarrollar biofungicidas que pueden ser utilizados en un programa de manejo integrado de *M. roreri*.
8. Se documenta por primera vez que las especies *T. brevicompactum* y *T. spirale* ejercen acciones de micoparasitismo de sobre *M. roreri*.

## 7 RECOMENDACIONES

1. Realizar pruebas de multiplicación en arroz y otros sustratos, tanto de una sola cepa como combinaciones de ellas para llevarlas a condiciones de campo, así como darle seguimiento a su establecimiento en el sitio.
2. Determinar la capacidad como promotores del crecimiento y resistencia a enfermedades en plántulas de cacao de cada especie evaluada.
3. Realizar ensayos para determinar el efecto de la temperatura sobre el parasitismo y antibiosis.
4. Determinar las enzimas presentes en las especies de *Trichoderma* con micoparasitismo y en aquellas sin micoparasitismo.

## 8 LITERATURA CITADA

Aime, M.C. y 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* 97:1012-1022.

Alverson, W.S., Whitlock, B.A., Nyffler, R., Bayer, C. y Baum, D.A. 1999. Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data. *American Journal of Botany* 86:1474-1486.

Anejaa, M., Gianfagnaa, T.J. y Hebbarb, P.K. 2005. *Trichoderma harzianum* produces nonanoic acid, an inhibitor of spore germination and mycelial growth of two cacao pathogens. *Physiology and Molecular Plant Pathology* 67:304-307.

Aránzazu, F. 2000. Escoba de bruja en Colombia su Impacto Económico y Manejo. In: Mejía, F.L.A. y Arguello, C.O. (Compiladores). *Tecnología para el 56 Mejoramiento del Sistema de Producción del Cacao*. Bucaramanga, Colombia: CORPOICA. 144p.

ASERCA, 1994. Claridades agropecuarias. Tabasco y el cacao: crónica de una tradición. *Revista número 16*.

Attolini, L.A., 2011. Cuentas, dares y tomares del cacao: delicia, convite, rito mesoamericano. Aspectos antropológicos. *Revista Digital Universitaria UNAM* 12:1607-6079.

Ayala, Z.M., Mier, T., Robles, S.J. y Toriello, C. 2005. Variabilidad intraespecífica del crecimiento de *Lecanicillium lecanii* (= *Verticillium lecanii*) por efecto de la temperatura. *Revista Mexicana de Micología* 20:93-97.

Badilla, F.F. 1996. Manejo integrado de jobotos *Phyllophaga* spp. (Scarabaeidae) en el cultivo de la caña de azúcar en Costa Rica. pp. 104-113. En Seminario-Taller Centroamericano sobre la Biología y Control de *Phyllophaga* spp. Memoria Eds. Shannon P. J.; Carballo, M. Turrialba, Costa Rica. CATIE-PRIAG-ALA 104:113. Serie Técnica, Informe Técnico no. 277.

Bailey, B.A., Bae, H., Strem, M.D., Crozier, J., Thomas, S.E., Samuels, G.J., Vinyard, B.T. y Holmes, K.A. 2008. Antibiosis, mycoparasitism, and colonization success for endophytic *Trichoderma* isolates with biological control potential in *Theobroma cacao*. *Biological Control* 46:24–35.

Barnett H.L. y Hunter B.B. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. 4th edition. American Phytopathological Society Press. St. Paul, Minnesota, USA. 218 p.

Barondes, S.H. 1981. Lectins: their multiple endogenous cellular functions. *Annual Review of Biochemistry* 50:207–231.

Barros, N.O. 1966. Valor de las prácticas culturales como método para reducir la incidencia de *Monilia* en plantaciones de cacao. *Agricultura Tropical* 22:605-612.

Bateman, R.P., Hidalgo, E., García, J., Arrollo, C., Ten Hoopen, G.M., Adonijah, H., y Krauss, U. 2005. Application of chemical and biological agents for the management of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) in Costa Rica cocoa (*Theobroma cacao*). *Annals of Applied Biology* 147:129-138.

Bayer, C., Fay, M.F., De Bruijn, A.Y., Savolainen, V., Morton, C.M., Kubitzki, K., Alverson, W.S. y Chase, M.W. 1999. Support for an expanded family concept of Malvaceae within a recircumscribed order Malvales: a combined analysis of plastid *atpB* and *rbcL* DNA sequences. *Botanical Journal of the Linnean Society* 129:267-303.

Benz, G. 1987. Environment, In: Epizootiology of insect Diseases. J.R. Fuxa and Y. Tanada, eds. John Wiley, New York 177-214.

Bradshaw, R.P., Whalley, M.W. y Craig, G.D. 1991. Interactions between *Pythium oligandrum* and the fungal foot rot pathogens. *Mycological Research* 95:861-865.

CESVETAB-SAGARPA, 2007. Informe mensual del avance de la moniliasis del cacao en Tabasco. Villahermosa, Tabasco: Oficina de la Subdelegación de la SAGARPA. 7 p.

Chet, I. 1987. *Trichoderma* - application, mode of action, and potential as biocontrol agent of soil-borne pathogenic fungi. Pages 137-160. in: Innovative Approaches to in: Innovative Approaches to Plant Disease Control. I. Chet, ed., John Wiley, New York.

Ciferri, R., y Parodi, E. 1933. Descrizione del fungo che causa la "Moniliasi" del Collins, R.P. y Halim, A.F. 1972. Characterization of the mayor aroma constituents of the fungus *Trichoderma viride* Pers. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 20:437-438.

CONAGUA [en linea]. Normales climatológicas Tabasco-Cárdenas 1951-2010. [Fecha de consulta: 15 octubre 2013]. Disponible desde: <<http://smn.conagua.gob.mx>>.

Cooney, J.M., Lauren, D.R., Jensen, D.J., y Perry-Meyer, L.J. 1997. Effect of harvest time on 6-n-pentyl-2h-pyran-2-one production by *Trichoderma* spp. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 45:2802-2806.

Córdova, A.V. Sánchez, H.M, Estrella, C.N., Macías, L.A., Sandoval, C.E., Martínez, S.T. y Ortiz, G.C. 2001. Factores que Afectan la Producción de Cacao

(*Theobroma cacao* L.) En el Ejido Francisco I Madero del Plan Chontalpa, Tabasco, México. Universidad y Ciencia 17:93-100.

Córdova, A.V., Mendoza, P.J., Vargas, V.L., Izquierdo, R.F. y Ortiz, G.C. 2008. Participación de las asociaciones campesinas en el acopio y comercialización de cacao (*Theobroma cacao* L.) en Tabasco, México. Universidad y Ciencia. 24:147-158.

Cuatrecasas, J. 1964. Cacao and its allies: a taxonomic revisión of the genus *Theobroma*. – Contributions from the United States Herbarium 35:379-614.

Cutler, H.G., y Hill, R.A. 1994. Natural fungicides and their delivery systems as alternative to synthetics. Biological Control of Postharvest Diseases: Theory and Practice (Eds.): C.L. Wilson and W. Wisniewski CRC Press, Florida 135-152.

Danielson, R.M. y Davey C.B. 1973. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. Soil Biol Biochem 5:485–494.

De Bach, P. 1968. Control biológico de las plagas de insectos y malas hierbas. Eds. México: Continental. 949p.

De Bellis, T., Kernaghan, G. y Widden, P. 2007. Plant community influences on soil microfungus 1 assemblages in boreal mixed-wood forests. Mycologia 99:356–367.

De Marco, J.L., Valadares, M.C. y Felix, C.R. 2003. Production of hydrolytic enzymes by *Trichoderma* isolates with antagonistic activity against *Crinipellis pernicioso*, the causal agent of witches' broom of cocoa. Brazilian Journal of Microbiology 34:33-38.

De Souza, J.T., Pomella, A.W., Bowers, J.H., Pirovani, C.P., Loguercio, L.L. y Hebbar, K.P. 2006. Genetic and Biological Diversity of *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the Cacao Witches' Broom Pathogen. *Phytopathology* 96:61-67.

De Souza, J.T., Bailey, B.A., Pomella, A.W.V., Erbe, E.F., Murphy, C.A., Bae, H. y Hebbar, P.K. 2008. Colonization of cacao seedlings by *Trichoderma stromaticum*, a mycoparasite of the witches' broom pathogen, and its influence on plant growth and resistance. *Biological Control* 46:36–45.

Diaz, B.M., Oggerin, M., Lopez, L.C., Rubio, V. y Fereres, A. 2009. Characterization and virulence of *Lecanicillium lecanii* against different aphid species. *BioControl* 54:825-835.

Dimbi, S., Maniania, N.K., Lux, S.A. y Mueke, J.M., 2004. Effect of constant temperatures on germination, radial growth and virulence of *Metarhizium anisopliae* to three species of African Tephritid fruit flies. *BioControl* 49:83-94.

Drummond, J. y Heale, J.B. 1988. Genetic studies on the inheritance of pathogenicity in *Verticillium lecanii* against *Trialeurodes vaporariorum*. *Journal of Invertebrate Pathology* 52:57-65.

Enríquez, G.A., Brenes, O. y Delgado, J.C. 1982. Desarrollo e impacto de la moniliasis del cacao en Costa Rica. Proceedings of the Eighth International Cocoa research Conference. Cocoa Producer's Alliance, Cartagena, Colombia. pp. 375-380.

Enríquez, G. y Suárez, C. 1978. Monilia disease of cocoa in Costa Rica. *Turrialba* 28:339-340.



Evans, H.C., Stalfer, J.A., Samson, R.A. y Benny, G.L. 1978. On the taxonomy of *Monilia roreri*: an important pathogen of *Theobroma cacao* in South America. Canadian Journal of Botany 56:2528-2532.

Evans, H.C. 1981. Pod rot of cacao caused by *Moniliophthora* (*Monilia*) *roreri*. Phytopathological Papers 24:44.

Evans, H.C, Holmes, K.A. y Thomas, S.E, 2003. Endophytes and mycoparasites associated with an indigenous forest tree, *Theobroma gileri*, in Ecuador and a preliminary assessment of their potential as biocontrol agents of cocoa diseases. Mycological Progress 2:149–160.

Fargues, J., Maniania, N.K., Delmas, J.C. y Smits, N. 1992. Influence de la temperature sur la croissance *in vitro* d'hyphomycetes entomopathogenes. Agronomie 12:557–564.

Foley, M.F. y Deacon, J.W. 1985. Isolation of *Pythium oligandrum* and other necrotrophic mycoparasites from soil. Transactions of the British Mycological Society 85:631–639.

Font Quer, P. 1977. Diccionario de botánica. (Eds.) Labor Barcelona España 427.

Fravel, D.R. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. Annual Review Phytopathology 43:337-359.

Fulton, R.H. 1989. The cacao disease trilogy: Black pod, *Monilia* pod rot, and Witches' Broom. Plant Disease 73:601-603.

Galindo, J.J. 1984. Programa de cacao investiga moniliasis. Actividades en Turrialba CATIE 12:8-9.

García, S.M., Tauk, T.S., Rocha, N.G. y Tapia, T.D. 2012. Evaluation of *Trichoderma* spp for the Biocontrol of *Moniliophthora perniciosa* Subgroup 1441. *Journal of Biology and Life Science* 3:18-36.

González, L.C., Sánchez, J.A., Porras, V.H., Umaña, S., y Murillo, D. 1983. Evaluación del fungicida clorotalonil y de la destrucción de mazorcas enfermas en el combate de la moniliasis del cacao. *Agronomía Costarricense* 7:1-7.

Greenberg, R., Bichier, P. y Cruz, A.A. 2000. The conservation value for birds of cacao plantations with diverse planted shade in Tabasco, Mexico. *Animal Conservation* 3:105-112.

Hardy, F 1960. Cacao Manual. Inter-American Institute of Agricultural Sciences. CATIE Turrialba 229-308.

Harman, G.E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I. y Lorito, M. 2004. *Trichoderma* spp. opportunistic avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology* 2:43-56.

Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96:190-194.

Holmes, K.A, Schroers, H.J, Thomas, S.E, Evans, H.C. y Samuels, G.J. 2004. Taxonomy and biocontrol potential of a new species of *Trichoderma* from the Amazon basin of South America. *Mycological Progress* 3:199–210.

Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87:4–10.

Hoyos, C. L., Duque, G., y Orduz P.S. 2008. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre aislamientos de *Sclerotinia* spp. y *Rhizoctonia* spp. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas 2:76-86.

Jalil, R.C., Norero, S.A. y Apablaza, G. 1997. Efecto de la temperatura sobre el crecimiento micelial de *Botrytis cinerea* y de su antagonista *Trichoderma harzianum*. Ciencia e Investigación Agraria 24:2-4.

Judd, W.S. y Manchester, S.R. 1997. Circumscription of Malvaceae (Malvales) as determined by a preliminary cladistic analysis of morphological, anatomical, palynological, and chemical characters. Brittonia 49: 384-405.

Klein, D. y Eveleigh E. 1998. Ecology of *Trichoderma*. In *Trichoderma* and *Gliocladium*. Basic Biology, Taxonomy and Genetics. Taylor and Francis Ltd 1:57–74.

Krauss, U., Bidwell, R. y Ince, J. 1998. Isolation and preliminary evaluation of mycoparasites as biocontrol agents against crown rot of banana. Biological Control Theory and Application 13:111-119.

Krauss, U., y Soberanis, W. 2001. Rehabilitation of diseased cacao fields in Peru through shade regulation and timing of biocontrol measures. Agroforestry System 53:179-184.

Krauss, U. y Soberanis, W. 2001b. Biocontrol of cocoa pod diseases with mycoparasite mixtures. Biological Control 22:149-158.

Krauss, U y Soberanis, W. 2002. Effect of fertilization and biocontrol application frequency on cocoa pod diseases. Biological Control 24:82-89.

Krauss, U., Ten Hoopen, M., Hidalgo, E., Martínez, A., Arroyo, C., García, J., Portugués, A., y Sánchez, V., 2003. Manejo integrado de la moniliasis (*Moniliophthora roreri*) del cacao (*Theobroma cacao*) en Talamanca, Costa Rica. *Agroforestería en las Américas* 10:52-58.

Krauss, U., Ten, H.G., Hidalgo, E., Matínez, A., Stirrup, T., Arroyo, C., García J. y Palacios, M. 2006. The effect of cane molasses amendment biocontrol of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) and black pod (*Phytophthora* spp.) of cocoa (*Theobroma cacao*) in Panama. *Biological Control* 39:232-239.

Kubicek, C.P. y Penttilä, M.E. 1998. Regulation of production of plant polysaccharide degrading enzymes by *Trichoderma*. In: *Trichoderma* and *Gliocladium*. Harman GE, Kubice CP. (Eds). Taylor and Francis Ltd 2:49–71.

Kubicek, C.P., Mach, R.L., Peterbauer, C.K. y Lorito, M., 2001. *Trichoderma*: from genes to biocontrol. *Journal of Plant Pathology* 83:11–23.

Lipa, J.J. y Slizynsky, K. 1973. Wskazówki metodyczne I terminologia dowyznaczenia snedniej dawki swiertelnej (LD50) W Patologii Owadow i toksykologii. *Prace Naukowe Instytutu Ochrony Roslin* 15:59-83.

López, G.M., y Enríquez V.O. 1980. Presencia de *Monilia roreri* Cif. et Par. en el cacao, *Theobroma cacao* L. en la frontera de Costa Rica-Nicaragua. Managua, Nicaragua. Ministerio de Desarrollo Agropecuario. 150 p.

López, L.L. y Carbonell, T. 1999. Characterization of Spanish strains of *Verticillium lecanii*. *Revista Iberoamericana de Micología* 16:136-142.

Lorito, M., Harman, G., Prieto, A.Di. y Hayes, C. 1990. Extracellular chitinolytic enzymes produced by *T. harzianum*, purification, characterization and molecular cloning. *Phytopathol* 82:10-77.

Lorito, M., Woo, S.L., Laccarino, M., Scala, F., 2006. Microrganismi antagonisti, in: *Microrganismi Benefici per le Piante*. Idelson-Gnocchi 146–175.

Maddison, A.C., Macias, G., Moreira, C., Arias, R., y Neira, R. 1995. Cocoa production in Ecuador in relation to dry-season escape from pod rot caused by *Crinipellis pernicioso* and *Moniliophthora roreri*. *Plant Pathology* 44:982–998.

Manjula, K., Kishore, G.K., Girish, A.G., Singh, S.D. 2004. Combined application of *Pseudomonas fluorescens* and *Trichoderma viride* has an improved biocontrol activity against stem rot in groundnut. *Plant Pathology* 20:75-80.

McLaughlin, H. 1950. Observation on cacao in Peru. *Cacao Information Bulletin* 2:3-4.

Mejía, C.L., Rojas, I.E., Maynard, Z., Van, B.S., Arnold, E.A., Hebbbar, P., Samuel, J.G., Robbins, N. y Allen, H.E. 2008. Endophytic fungi as biocontrol agents of *Theobroma cacao* pathogens. *Biological Control* 46:4–14.

Melgarejo, P. y Sagasta, E. 1989. Influence of *Penicillium frequentans* and two of its antibiotics on production of stromata by *Monilinia laxa* in culture. *Can. J. Bot.* 67:83-87.

Milner, R.J., Rogers, D.J., Mcrae, C.M., Huppatz, R.J. y Brier, H. 1993. Preliminary evaluation of the use of *Metarhizium anisopliae* as a mycopesticide for control of peanut scarabs. *Pest control in sustainable agricultura*, Melbourne: CSIRO 253-255.

Monte, E. 2001. Understanding *Trichoderma*: between biotechnology and microbial ecology. *International Microbiology*, 4:1-4.

Mukherjee, M., Horwitz, B.A., Sherkhane, P.D., Hadar, R. y Mukherjee, P.K. 2006. Asecondary metabolite biosynthesis cluster in *Trichoderma virens*: evidence from analysis of genes underexpressed in a mutant defective in morphogenesis and antibiotic production. *Current Genetics* 50:193–202.

Muller, A. 1941. El reconocimiento de las enfermedades de las plantas cultivadas de Venezuela. *Boletín de la Sociedad Venezolana de Ciencias Naturales* 8:99-113.

Murillo D y González LC. 1984. Evaluación en laboratorio y campo de fungicidas para el combate de la moniliasis del cacao. *Agronomía Costarricense* 8:83-89

Neethling, D. y Nevalainen, H. 1996. Mycoparasitic species of *Trichoderma* produce lectins. *Can. J. Microbiol* 42:141–146.

Nelson, P.E., Toussoun, T.A. y Marasas, W.F. 1983. *Fusarium* Species: An Illustrated 21 Manual for Identification. Pennsylvania State University Press 206p.

Ogata, N. 2007. El cacao. CONABIO. *Biodiversitas* 72:1-5.

Orellana, R.G. 1956. La moniliasis y otras enfermedades del cacao en el este de Panamá. *Boletín Fitosanitario FAO* 4:168-169.

Ortiz, G.C. 1996. Etude de la diversité génétique de populations de *Phytophthora* pathogènes du cacaoyer (*Theobroma cacao* L.) et du cocotier (*Cocos nucifera* L.). Thèse du doctorat, Université Paul Sabatier. Toulouse, France. 85p.

Ortiz, G.C. 2011. Tabasco: Olmeca-Maya Chontal Tierra Cacaotera Privilegiada, Secretaría de Turismo del Estado de Tabasco-Concejo De Ciencia Y Tecnología del Estado de Tabasco, Nacional, Ferias Empresariales, Artículo En Extenso Incluido En La Revista Titulada: 2do. Festival Del Chocolate Tabasco.

Ortíz, G.F., Torres de la C.M. y Hernández M.S. 2015. Comparación de dos sistemas de manejo del cultivo del cacao, en presencia de *Moniliophthora roreri*, en México. Revista Fitotecnia Mexicana. 38:191-196.

Pal, K.K. y Gardener, B.M. 2006. Biological Control of Plant Pathogens. The Plant Health Instructor DOI: 10.1094/PHI-A-2006-1117-02.

Phillips, M.W. y Krauss, U. 2001. Investigaciones recientes del Catie sobre agroecosistemas de cacao. Turrialba 71-70.

Phillips, M.W. 2003. Origin, biogeography, genetic diversity and taxonomic affinities of the cacao (*Theobroma cacao* L.) fungus *Moniliophthora roreri* (Cif.) Evans *et al.* as determined using molecular, phytopathological and morphophysiological evidence. Ph.D. Thesis. University of Reading, Reading, UK. 349p.

Phillips, M. W. 2004. La moniliasis del cacao: una seria amenaza para el cacao en México. In: Simposio Nacional sobre enfermedades tropicales. Resúmenes de ponencias. Tabasco, México, 25-30 de mayo.

Phillips, M.W., Coutiño, A., Ortiz, C.F., López, A.P., Hernández, J., y Aime, M.C. 2006. First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot (moniliasis disease) of cocoa in Mexico. Plant Pathology 55:584.

Phillips, M.W., Cawich, J., Garnett, W., y Aime, M.C. 2006b. First report of frosty pod rot (moniliasis disease) caused by *Moniliophthora roreri* on cacao in Belize. *Plant Pathology* 55:584.

Phillips, M.W., y Wilkinson, M.J. 2007. Frosty pod of cacao: A disease with a limited geographic range but unlimited potential for damage. *Phytopathology* 97:1644-1647.

Phillips, M.W., Ortiz, C.F. y Aime, M.C. 2007. Fifty years of frosty pod rot in Central America: Chronology of its spread and impact from Panama to Mexico. *Proceedings of the 15th International Cocoa Research Conference Proceedings Nigeria* 1:1039-1047.

Phillips, M.W., Castillo, J., Arciniegas, A., Mata, A., Sanchez, A., Leandro, M., Astorga, C., Motamayor, J., Guyton, B., Seguíne, E. y Schnell, R. 2009. Overcoming the main limiting factors of cacao production in Central America through the use of improved clones developed at CATIE. In: 16th International cocoa research conference COPAL 93-99.

Phillips, M.W., Arciniegas, L. y Mata, Q.A. 2012. Catálogo de clones de cacao seleccionados por el CATIE para siembras comerciales. Manual Técnico no. 105.

Porrás, V.H. y Enríquez, G. 1998. Spread of monilia pod rot of cocoa through Central America. IICA, San José, Costa Rica. 20 p.

Roberts, D.W. y Campbell, A.S. 1977. Stability of entomopathogenic fungi. In *Environmental Stability of Microbial Insecticides*. Eds. CM Ignoffo and DL Hostetter. *Entomological Society of America*, 10:19-76.



Rorer, J.B. 1918. Enfermedades y plagas del cacao en Ecuador y métodos modernos apropiados al cultivo del cacao. Guayaquil, Ecuador: Asociación de Agricultores, pp. 17-40.

Rossmann, A.Y., Samuels, G.J., Rogerson, C.T. y Lowen, R. 1999. Genera of Bionectriaceae, Hypocreaceae and Nectriaceae (Hypocreales) proposed for acceptance or rejection. IMA Fungus 4:41:51.

Samuels, G.J. 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematic of the genus. Mycological research, 100:923-935.

Samuels, G.J., Pardo, S.R., Hebbbar, K.P., Lumsden, R.D., Bastos, C.N., Costa, J.C. y Bezerra, J.L. 2000. *Trichoderma stromaticum* sp. nov., a parasite of the cacao witches broom pathogen. Mycological Research 104:760-764.

SAS Institute Inc. 1988. SAS User's Guide: Statistics. Release 6.03 Ed. SAS Institute INC. Cary, NC. USA. 1028 p.

Scarselletti, R., y Faull, J.L. 1994. In vitro activity of 6- Pentil- $\alpha$ -pyrone, a metabolite of *Trichoderma harzianum*, in the inhibition of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Mycological Research 98:1207-1209.

Seng, J., Herrera, G. Vaughan, C.S. y McCoy, M.B. 2014. Use of *Trichoderma* fungi in spray solutions to reduce *Moniliophthora roreri* infection of *Theobroma cacao* fruits in Northeastern Costa Rica. Revista Tropical Biology 62:899-907.

SIAP [en línea]. Cierre de la producción agrícola por cultivo 2014. [Fecha de consulta: 15 enero 2015]. Disponible desde: <[http:// www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)>.

SIAP [en línea]. Cierre de la producción agrícola por cultivo 2011. [Fecha de consulta: 15 octubre 2013]. Disponible desde: <[http:// www.siap.gob.mx](http://www.siap.gob.mx)>.

Smith, H.W. 1995. Forest occurrence of *Trichoderma* species: emphasis on potential organochlorine (xenobiotic) degradation. *Ecotoxicology and environmental safety*. 32:179-183.

Soberanis, W., Rios, R., Arévalo, E., Zúñiga, L., Cabezas, O., y Kraus, U. 1999. Increased frequency of phytosanitary pod removal in cacao (*Theobroma cacao*) increases yield economically in eastern Peru. *Crop Protection* 18:677-685.

Sobieralski, K., Siwulski, M., Komon, Ż. M., Błaszczuk, L., Górski, R., Spiżewski, T. y Sas, G.I. 2012. Evaluation of the growth of *Trichoderma pleurotum* and *Trichoderma pleuroticola* isolates and their biotic interaction with *Pleurotus* sp. *Journal of Plant Protection Research* 52:235-239.

Sobowale, A.A., Cardwell, K.F., Adegboyega, C.O., Ranajit, B. y Segun, G.J. 2005. Growth inhibition of *Fusarium verticillioides* (SACC.) nirenberg by isolates of *Trichoderma pseudokoningii* strains from maize plant parts and its rhizosphere. *Journal of Plant Protection Research* 45:249-265.

Solis, H.K. y Suárez, C.C. 2006. Uso de *Trichoderma* spp para control del complejo Moniliasis-Escoba de Bruja del cacao en Ecuador. 15va Conferencia Internacional de Investigación en Cacao, San José Costa Rica del 09 al 17 de octubre del 2006, 93:98.

Tarus, P.K., Lang'At-Thoruwa, C.C., Wanyonyi, A.W. y Chhabra, S.C. 2003. Bioactive metabolites from *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma longibrachiatum*. *Bulletin of Chemical Society of Ethiopia*, 17:185-190.

Tchameni, S.N., Ngonkeu, M.E.L., Begoude, B.A.D. Nana, L.W., Fokom, R., Owona, A.D., Mbarga, J.B., Tchana, T., Tondje, P.R., Etoa, F.X. y Kuate, J. 2011. Effect of *Trichoderma asperellum* and arbuscular mycorrhizal fungi on cacao growth and resistance against black pod disease. *Crop Protection* 30:1321-1327.

Téliz, O.D. y Mora, A.A. 2007. El Aguacate y su Manejo Integrado. 2da. Ed. Mundi-Prensa 287-306p.

Torres de la C.M., Ortiz, G.C., Téliz, O.D., Mora, A.A. y Nava, D.C. 2011. Temporal progress and integrated management of frosty pod rot [*Moniliophthora roreri* (Cify Par.) Evans *et al.*] of cocoa (*Theobroma cacao*) in Tabasco, Mexico. *Journal of Plant Pathology* 93:31-36.

Torres de la C.M., Ortiz, G.C., Téliz, O.D., Mora, A.A. y Nava, D.C. 2013. Efecto del Azoxystrobin sobre *Moniliophthora roreri*, Agente Causal de la Moniliasis del Cacao (*Theobroma cacao*). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 31:65-69.

Torres de la C.M., Cortez, M.H., Ortiz, G.C., Cappello, G.S. y De la Cruz, P.A. 2013b. Caracterización de aislamientos nativos de *Metarhizium anisopliae* y su patogenicidad hacia *Aeneolamia postica*, en Tabasco, México. *Revista colombiana de Entomología*. 39:40-46.

UNCTAD [en línea]. Producción del cacao. [Fecha de consulta: 10 de noviembre 2014]. Disponible desde: <[http:// www.unctad.info/es/Infocomm-SP/Bebidas-tropicales/Cacao/Mercado/](http://www.unctad.info/es/Infocomm-SP/Bebidas-tropicales/Cacao/Mercado/)>.

Verma, M., Brar, S.K., Tyagi, R.D., Surampalli, R.Y. y Valéro, J.R. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. Review. *Biochemical Engineering Journal* 37:1–20.

Vidal, C., Fargues, J. y Lacey, L.A. 1997. Intraspecific variability of *Paecilomyces fumosoroseus*: effect of temperature on vegetative growth. *Journal of Invertebrate Pathology* 70:18–26.

Villamil, C.J., Blanco, V.J. y Viteri, R.S. 2012. Evaluación *in vitro* de microorganismos nativos por su antagonismo contra *Moniliophthora roreri* Cif & Par en cacao (*Theobroma cacao* L.). *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín* 65:6305-6315.

Vinale, F., Marra, R., Scala, F., Lorito, M., Ghisalberti, E. L., Sivasithampram, K. 2005. Secondary metabolites produced by two commercial strains of *Trichoderma harzianum*. *Journal of Plant Pathology*, 87:267–309.

Vinale, F., Sivasithampara, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Woo, S.L. y Lorito, M. 2008. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology & Biochemistry* 40:1–10.

Whitlock, B., Bayer, C., y Baum, D. 2001. Phylogenetic relationships and floral evolution of the Byttnerioideae (“Sterculiaceae” or Malvaceae s.l.) based on sequences of the chloroplast gene *ndhF*. *Systematic Botany* 26:240-437.

Wood, G. A. R. 1978. Markets for fine flavoured versus bulk cocoas. *Cocoa Growers* 27:5-11.

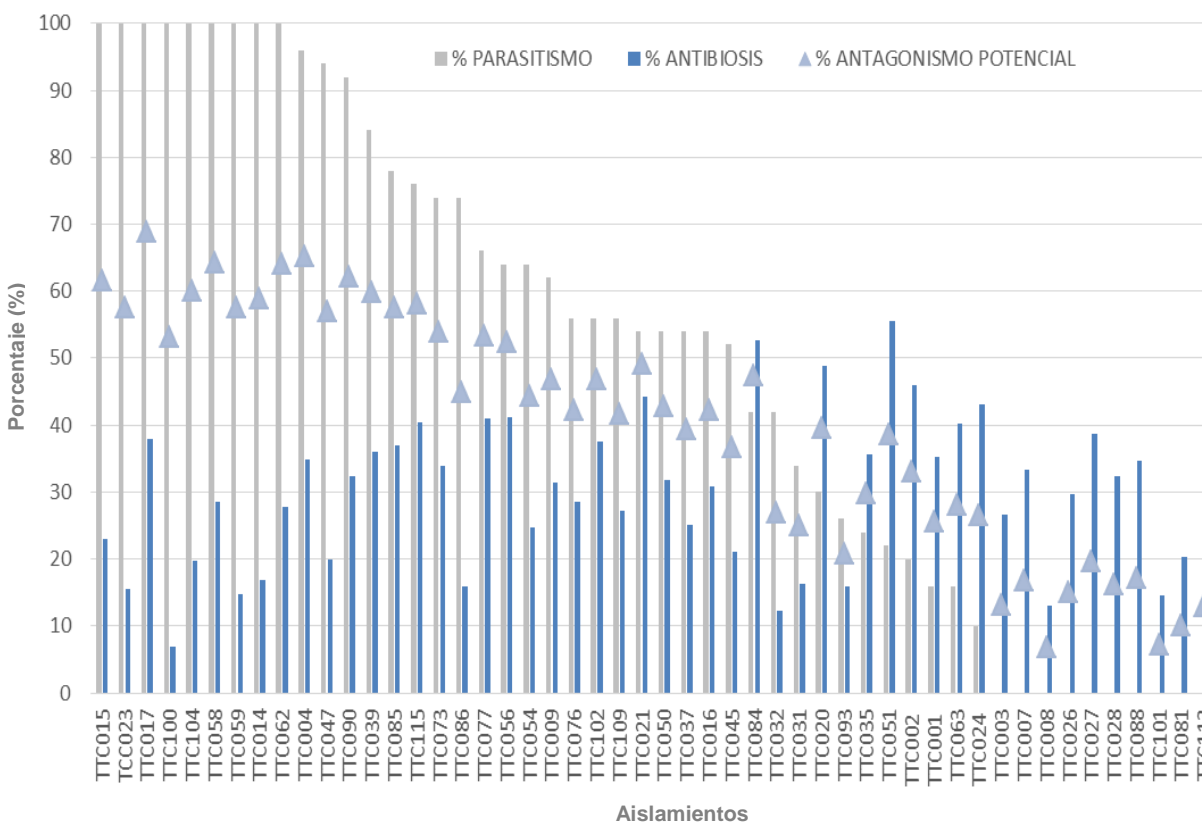
Woo, S.L., Scala, F., Ruocco, M., Lorito, M., 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology* 96:181–185.

Woo, S.L. y Lorito, M., 2007. Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. *Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management* 6:107–130.

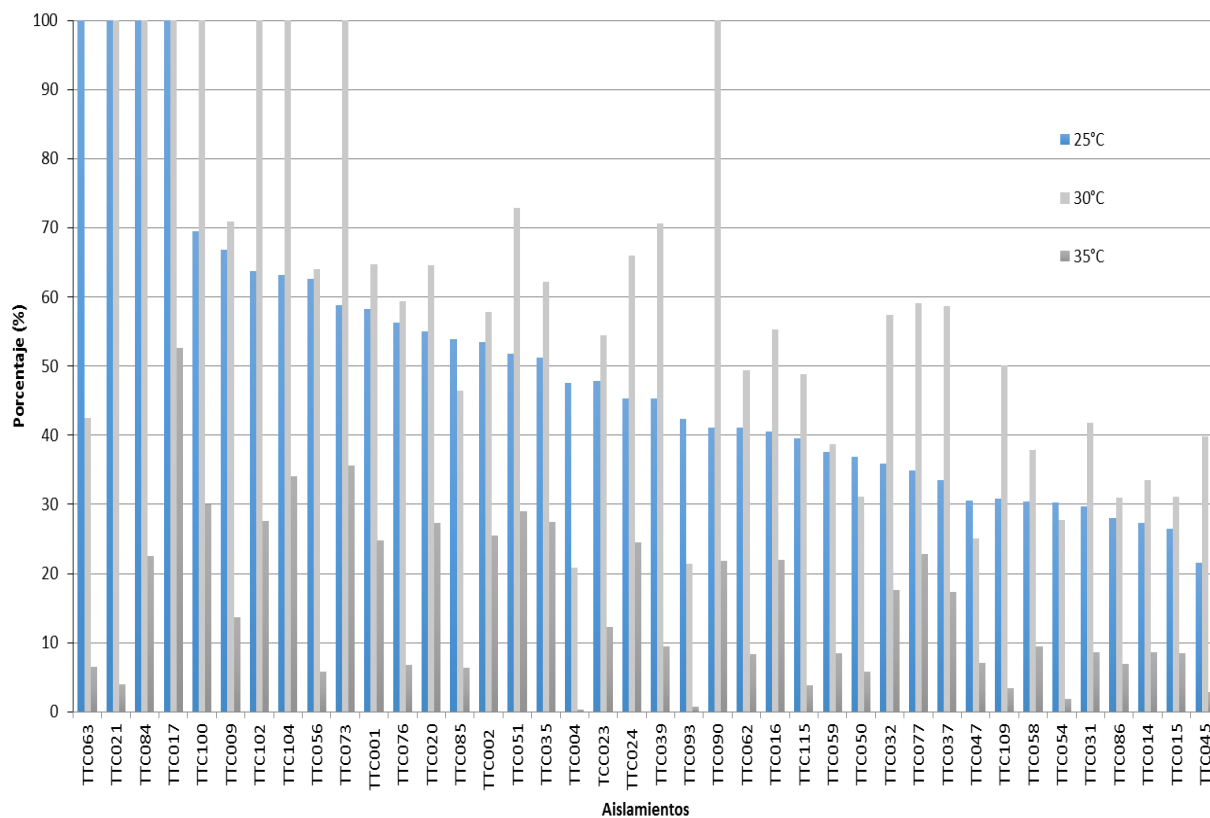
Zavaleta, M.E. 2000. Alternativas de manejo de las enfermedades de las plantas. *Terra* 17:3.

## 9 ANEXOS

### ANEXO 1. Antagonismo potencial (%) de *Trichoderma* sobre *Moniliophthora roreri*.

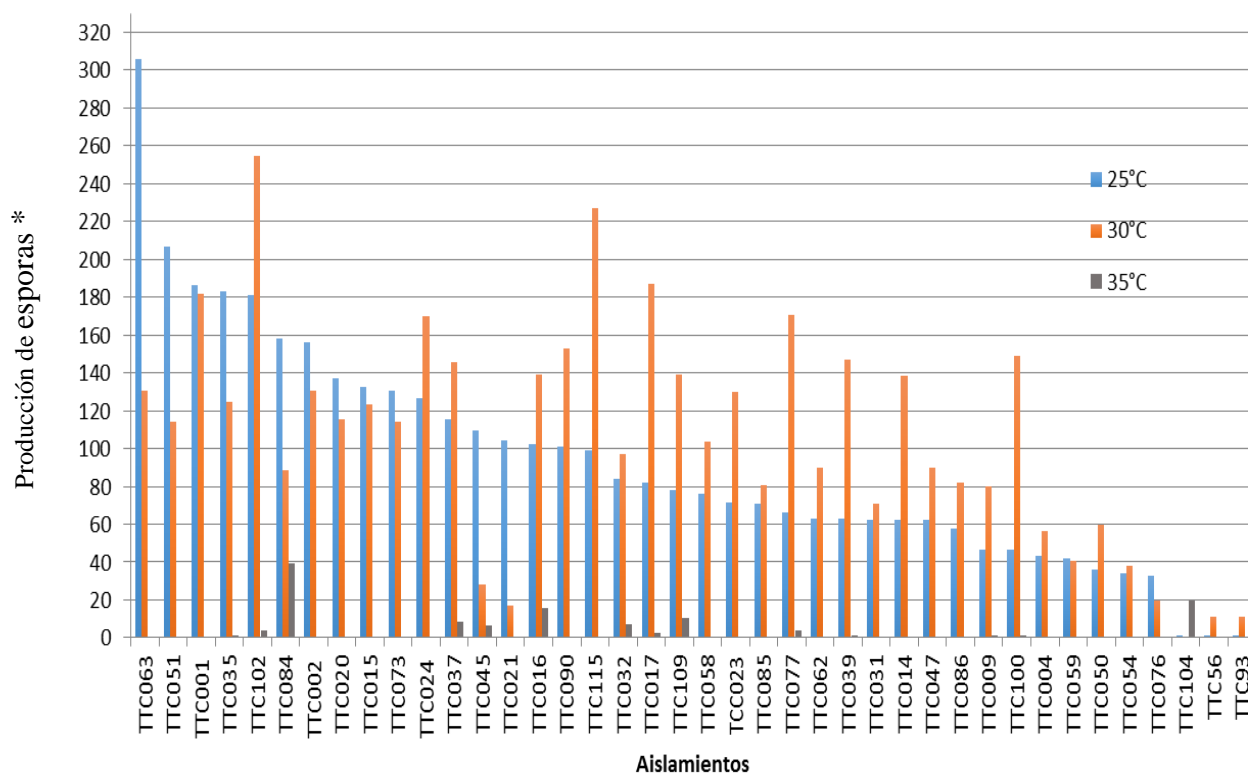


**ANEXO 2.** Efecto de la temperatura sobre el crecimiento micelial ( $\text{mm}^2$ ) expresados en porcentaje (%).



\*El 100% equivale a una caja Petri completamente llena.

**ANEXO 3.** Efecto de la temperatura sobre la esporulación de *Trichoderma*.



\* La escala utilizada debe de multiplicarse por  $1 \times 10^7$ .



## ANEXO 4. Evaluación del potencial de control biológico de *Trichoderma*

Cepa	Antagonismo potencial						Desarrollo micelial						Esporulación								
	Especie	Media ± σ		Media ± σ	Área	%	Media ± σ	Área	%	Media ± σ	Área	%	Media ± σ	Área	%	Media ± σ	Área	%			
TTC017	<i>T. virens</i>	68.8±1.79	A	40±0	5027	100	A	40±0	5027	100	A	29±1	2642	53	A	8.2x10 <sup>8</sup> ±2.7x10 <sup>7</sup>	IJKLM	1.9x10 <sup>8</sup> ±2.1x10 <sup>8</sup>	B	2.6x10 <sup>7</sup> ±3x10 <sup>6</sup>	F
TTC004	<i>T. spirale</i>	65.2±2.59	AB	27.6±3.2	2393	48	CDEFGHIJ	18.3±1.3	1052	21	K	2.1±1	14	0	N	4.3x10 <sup>8</sup> ±1.9x10 <sup>8</sup>	QR	5.6x10 <sup>8</sup> ±2.7x10 <sup>7</sup>	MNOP	0 ± 0	R
TTC058	<i>T. virens</i>	64.2±1.92	ABC	22±0.7	1521	30	MNOP	24.6±0.1	1901	38	GHI	12.3±0.1	475	9	FGH	7.6x10 <sup>8</sup> ±4.4x10 <sup>7</sup>	KLMN	1x10 <sup>8</sup> ±1.5x10 <sup>8</sup>	GHIJK	2.8x10 <sup>5</sup> ±3.7x10 <sup>4</sup>	NOP
TTC062	<i>T. harzianum</i>	64±0.71	ABC	25.6±0.7	2059	41	GHIJKLM	28.1±0.3	2481	49	CDEFG	11.6±0.4	423	8	GHI	6.3x10 <sup>8</sup> ±3.6x10 <sup>7</sup>	MNO	9x10 <sup>8</sup> ±1x10 <sup>8</sup>	IJKLM	2.6x10 <sup>5</sup> ±2.3x10 <sup>4</sup>	NOPQ
TTC090	<i>T. harzianum</i>	62.2±1.79	ABC	25.6±1	2059	41	GHIJKLM	40±0	5027	100	A	18.7±1.5	1099	22	CD	1x10 <sup>8</sup> ±8.9x10 <sup>7</sup>	FGHIJ	1.5x10 <sup>8</sup> ±1.9x10 <sup>8</sup>	BCDE	1.4x10 <sup>5</sup> ±1.9x10 <sup>5</sup>	KL
TTC015	<i>T. virens</i>	61.6±0.89	ABCD	20.6±2	1333	27	PQ	22.3±1.3	1562	31	HIJ	11.6±0.1	423	8	GHI	1.3x10 <sup>8</sup> ±2.1x10 <sup>8</sup>	DEF	1.2x10 <sup>8</sup> ±1.1x10 <sup>8</sup>	EFGHI	2.5x10 <sup>5</sup> ±0	PQ
TTC104	<i>T. virens</i>	60±2.74	BCDE	31.8±1.1	3177	63	BC	40±0	5027	100	A	23.3±0.1	1706	34	B	1.8x10 <sup>8</sup> ±3.7x10 <sup>8</sup>	S	0.05x10 <sup>8</sup> ±4.8x10 <sup>3</sup>	R	1.9x10 <sup>5</sup> ±1.7x10 <sup>5</sup>	B
TTC039	<i>T. harzianum</i>	59.8±3.90	BCDE	26.9±0.2	2273	45	EFGHIJKL	33.6±1.7	3547	71	B	12.3±0.2	475	9	FGH	6.3x10 <sup>8</sup> ±2.1x10 <sup>7</sup>	MNO	1.5x10 <sup>8</sup> ±8.8x10 <sup>7</sup>	CDEF	1.4x10 <sup>5</sup> ±5.1x10 <sup>5</sup>	G
TTC014	<i>T. virens</i>	58.8±1.79	BCDE	20.9±0.3	1372	27	OPQ	23.1±1	1676	33	HIJ	11.7±0.4	430	9	GHI	6.3x10 <sup>8</sup> ±1.2x10 <sup>7</sup>	NO	1.4x10 <sup>8</sup> ±1.1x10 <sup>8</sup>	DEFG	2.5x10 <sup>5</sup> ±1.1x10 <sup>4</sup>	OPQ
TTC115	<i>T. harzianum</i>	58.2±2.95	BCDE	25.1±0.5	1979	39	IJKLMN	28±1.2	2463	49	CDEFG	7.7±0.2	186	4	K	9.9x10 <sup>8</sup> ±4.1x10 <sup>7</sup>	GHIJK	2.3x10 <sup>8</sup> ±6.8x10 <sup>7</sup>	A	1x10 <sup>5</sup> ±0	M
TTC085	<i>T. spirale</i>	57.6±2.79	CDE	29.4±0.6	2715	54	BCDEFGHI	27.3±0.6	2341	47	DEFG	10±0.02	314	6	HI	7.1x10 <sup>8</sup> ±1.6x10 <sup>7</sup>	LMNO	8.1x10 <sup>8</sup> ±1x10 <sup>8</sup>	JKLM	0 ± 0	R
TTC059	<i>T. virens</i>	57.6±1.82	CDE	24.5±0.6	1886	38	JKLMNO	24.9±1.1	1948	39	GHI	11.6±1.1	423	8	GHI	4.3x10 <sup>8</sup> ±2.7x10 <sup>7</sup>	QR	4.1x10 <sup>8</sup> ±5.6x10 <sup>7</sup>	NO PQ	3.4x10 <sup>5</sup> ±2.5x10 <sup>4</sup>	NO
TTC023	<i>T. virens</i>	57.6±1.52	CDE	27.6±2	2393	48	CDEFGHIJK	29.5±0.6	2734	54	BCDEF	14±1.1	616	12	EFG	7.2x10 <sup>8</sup> ±7.8x10 <sup>6</sup>	LMNO	1.3x10 <sup>8</sup> ±8.5x10 <sup>7</sup>	EFGH	3.5x10 <sup>5</sup> ±1.7x10 <sup>4</sup>	N
TTC047	<i>T. brevicompactum</i>	57±3.16	CDE	22.2±2.8	1548	31	MNOP	20±2.1	1257	25	JK	10.6±0.2	353	7	HI	6.2x10 <sup>8</sup> ±2.3x10 <sup>7</sup>	NO	9x10 <sup>8</sup> ±5x10 <sup>7</sup>	IJKLM	0 ± 0	R
TTC073	<i>T. harzianum</i>	54±2.35	DEF	30.7±2.8	2961	59	BCDE	40±0	5027	100	A	23.9±0.5	1795	36	AB	1.3x10 <sup>8</sup> ±2.3x10 <sup>8</sup>	DEFG	1.1x10 <sup>8</sup> ±1.3x10 <sup>8</sup>	FGHIJ	6.4x10 <sup>6</sup> ±3.5x10 <sup>5</sup>	H
TTC077	<i>T. harzianum</i>	53.4±3.78	EF	23.6±0.6	1750	35	KLMNOP	30.8±1.5	2980	59	BCD	19.1±0.5	1146	23	CD	6.6x10 <sup>8</sup> ±1.5x10 <sup>7</sup>	LMNO	1.7x10 <sup>8</sup> ±3.4x10 <sup>8</sup>	BCD	4.1x10 <sup>5</sup> ±2.7x10 <sup>6</sup>	E
TTC100	<i>T. harzianum</i>	53.2±1.30	EF	33.3±1	3484	69	B	40±0	5027	100	A	21.9±0.1	1507	30	BC	4.7x10 <sup>8</sup> ±4.1x10 <sup>7</sup>	PQ	1.5x10 <sup>8</sup> ±2.6x10 <sup>8</sup>	CDEF	1.3x10 <sup>5</sup> ±3.4x10 <sup>6</sup>	G
TTC056	<i>T. harzianum</i>	52.4±2.19	FG	31.6±2.2	3137	62	BCD	32±1.7	3217	64	BC	9.6±0.1	290	6	IJ	1.5x10 <sup>8</sup> ±3.5x10 <sup>8</sup>	S	1.1x10 <sup>8</sup> ±2.2x10 <sup>7</sup>	QR	2x10 <sup>5</sup> ±0	Q
TTC021	<i>T. koningiopsis</i>	49.2±4.32	FGH	40±0	5027	100	A	40±0	5027	100	A	7.9±0.1	196	4	JK	1x10 <sup>8</sup> ±8.7x10 <sup>7</sup>	FGHI	1.7x10 <sup>8</sup> ±1x10 <sup>7</sup>	QR	1.3x10 <sup>6</sup> ±1.7x10 <sup>5</sup>	KLM
TTC084	<i>T. koningiopsis</i>	47.4±1.40	FGH	40±0	5027	100	A	40±0	5027	100	A	19±0.7	1134	23	CD	1.6x10 <sup>8</sup> ±1.2x10 <sup>8</sup>	BCD	8.9x10 <sup>8</sup> ±3.9x10 <sup>6</sup>	IJKLM	3.9x10 <sup>5</sup> ±2.6x10 <sup>5</sup>	A
TTC009	<i>T. spirale</i>	46.8±2.17	FGHI	32.7±1	3359	67	B	34±1.2	3632	72	B	14.7±0.3	679	14	EF	4.7x10 <sup>8</sup> ±3.1x10 <sup>7</sup>	PQ	8x10 <sup>8</sup> ±8.6x10 <sup>7</sup>	JKLM	1.3x10 <sup>5</sup> ±3.8x10 <sup>6</sup>	G
TTC102	<i>T. virens</i>	46.8±5.17	FGHI	31.9±1.4	3197	64	BC	40±0	5027	100	A	21±0.7	1385	28	BC	1.8x10 <sup>8</sup> ±1.4x10 <sup>8</sup>	BC	2.6x10 <sup>8</sup> ±2.4x10 <sup>8</sup>	A	4.2x10 <sup>5</sup> ±3.5x10 <sup>6</sup>	E
TTC086	<i>T. brevicompactum</i>	45±3.67	GHIJ	21.1±1.4	1399	28	OPQ	22.3±3.2	1562	31	IJ	10.5±0.7	346	7	HI	5.8x10 <sup>8</sup> ±2.6x10 <sup>7</sup>	OP	8.2x10 <sup>8</sup> ±8x10 <sup>7</sup>	JKLM	2.5x10 <sup>5</sup> ±0	PQ
TTC054	<i>T. spirale</i>	44.4±3.21	HJ	22±1.1	1521	30	MNOP	21.1±3.6	1399	28	JK	5.5±0.08	95	2	L	3.4x10 <sup>8</sup> ±2.4x10 <sup>7</sup>	R	3.8x10 <sup>8</sup> ±2.3x10 <sup>7</sup>	NO PQ	0 ± 0	R
TTC050	<i>T. brevicompactum</i>	42.8±2.17	HJK	24.3±2.2	1855	37	KLMNO	22.3±0.4	1562	31	HIJ	9.7±0.5	296	6	IJ	3.6x10 <sup>8</sup> ±5x10 <sup>7</sup>	R	6x10 <sup>8</sup> ±1.1x10 <sup>8</sup>	LMNO	0 ± 0	R
TTC016	<i>T. virens</i>	42.2±3.03	HJK	25.5±1.1	2043	41	HJKLMN	29.7±0.6	2771	55	BCDEF	18.7±0.2	1099	22	CD	1x10 <sup>8</sup> ±6.8x10 <sup>7</sup>	FGHIJ	1.4x10 <sup>8</sup> ±1.4x10 <sup>8</sup>	DEFG	1.6x10 <sup>6</sup> ±1.5x10 <sup>7</sup>	B
TTC076	<i>T. harzianum</i>	42.2±3.56	HJK	30±0.1	2827	56	BCDEFG	30.8±2	2980	59	BCD	10.4±0.3	340	7	HI	3.3x10 <sup>8</sup> ±1.4x10 <sup>7</sup>	R	2x10 <sup>8</sup> ±2.6x10 <sup>7</sup>	PQR	2.7x10 <sup>5</sup> ±2.9x10 <sup>4</sup>	NOPQ
TTC109	<i>T. harzianum</i>	41.6±6.31	HJK	22.1±0.8	1534	31	MNOP	28.3±1	2516	50	CDEFG	7.4±0.3	172	3	K	7.9x10 <sup>8</sup> ±2.3x10 <sup>7</sup>	JKLMN	1.4x10 <sup>8</sup> ±2.7x10 <sup>7</sup>	DEFG	1x10 <sup>5</sup> ±2.7x10 <sup>5</sup>	C
TTC020	<i>T. koningiopsis</i>	39.6±2.19	IJKL	29.7±0.5	2771	55	BCDEFGH	32.2±1.4	3257	65	BC	20.9±0.3	1372	27	BC	1.4x10 <sup>8</sup> ±3.6x10 <sup>7</sup>	DE	1.2x10 <sup>8</sup> ±5.2x10 <sup>7</sup>	EFGHIJ	1.7x10 <sup>5</sup> ±1x10 <sup>5</sup>	JK
TTC037	<i>T. harzianum</i>	39.4±3.21	IJKL	23.2±1.2	1691	34	LMNOP	30.6±0.8	2942	59	BCD	16.6±0.5	866	17	DE	1.2x10 <sup>8</sup> ±1.3x10 <sup>8</sup>	EFG	1.5x10 <sup>8</sup> ±1.4x10 <sup>8</sup>	CDEF	8.6x10 <sup>7</sup> ±1.7x10 <sup>6</sup>	CD
TTC051	<i>T. asperellum</i>	38.6±3.21	JKL	28.8±1.1	2606	52	BCDEFGHIJ	34.2±0.2	3675	73	B	21.5±0.9	1452	29	BC	2.1x10 <sup>8</sup> ±2.4x10 <sup>8</sup>	B	1.1x10 <sup>8</sup> ±1.6x10 <sup>8</sup>	FGHIJ	2.7x10 <sup>6</sup> ±1x10 <sup>5</sup>	I
TTC045	<i>T. brevicompactum</i>	36.6±2.19	KLM	18.6±2.6	1087	22	Q	25.3±3.5	2011	40	GHI	6.7±0.1	141	3	KL	1.1x10 <sup>8</sup> ±1.2x10 <sup>8</sup>	EFGH	2.8x10 <sup>8</sup> ±2.8x10 <sup>7</sup>	OPQR	6.6x10 <sup>5</sup> ±1x10 <sup>6</sup>	D
TTC002	<i>T. asperellum</i>	33±1.87	LMN	29.2±1.8	2679	53	BCDEFGHI	30.4±0.5	2903	58	BCDE	20.2±0.5	1282	26	BCD	1.6x10 <sup>8</sup> ±2.1x10 <sup>8</sup>	CD	1.3x10 <sup>8</sup> ±2.2x10 <sup>8</sup>	EFGH	2.1x10 <sup>6</sup> ±5.1x10 <sup>5</sup>	IJ
TTC035	<i>T. asperellum</i>	29.8±3.96	MNO	28.6±0.9	2570	51	BCDEFGHIJ	31.6±1.2	3137	62	BCD	21±1	1385	28	BC	1.8x10 <sup>8</sup> ±1.1x10 <sup>8</sup>	BC	1.2x10 <sup>8</sup> ±1x10 <sup>8</sup>	EFGHI	1.3x10 <sup>5</sup> ±2.7x10 <sup>6</sup>	G
TTC063	<i>T. koningiopsis</i>	28±5.05	NO	40±0	5027	100	A	26.1±	2140	43	EFGH	10.1±0.2	320	6	HI	3.1x10 <sup>8</sup> ±1.6x10 <sup>8</sup>	A	1.3x10 <sup>8</sup> ±3.3x10 <sup>8</sup>	EFGH	1.2x10 <sup>5</sup> ±2.1x10 <sup>5</sup>	LM
TTC032	<i>T. virens</i>	27±1.73	NOP	24±1.3	1810	36	KLMNOP	30.3±0.7	2884	57	BCDEF	16.8±1	887	18	DE	8.4x10 <sup>8</sup> ±3.7x10 <sup>7</sup>	HUJKL	9.7x10 <sup>8</sup> ±8.2x10 <sup>7</sup>	HUJKL	7.4x10 <sup>5</sup> ±4.4x10 <sup>6</sup>	D
TTC024	<i>T. asperellum</i>	26.6±2.50	NOP	26.9±1.5	2273	45	DEFGHIJKL	32.5±1.2	3318	66	BC	19.8±0.9	1232	25	BCD	1.3x10 <sup>8</sup> ±2.8x10 <sup>7</sup>	DEFG	1.7x10 <sup>8</sup> ±7.4x10 <sup>7</sup>	BCD	1.3x10 <sup>6</sup> ±3x10 <sup>5</sup>	KL
TTC001	<i>T. asperellum</i>	25.6±2.30	OPQ	30.5±0.5	2922	58	BCDEF	32.2±0.9	3257	65	BC	19.9±0.8	1244	25	BCD	1.9x10 <sup>8</sup> ±3.5x10 <sup>7</sup>	BC	1.8x10 <sup>8</sup> ±5.4x10 <sup>7</sup>	BC	4.9x10 <sup>5</sup> ±1.5x10 <sup>5</sup>	H
TTC031	<i>T. virens</i>	25±3.8	OPQ	21.8±0.5	1493	30	NOP	25.9±0.1	2107	42	FGHI	11.7±0.9	430	9	GHI	6.3x10 <sup>8</sup> ±2.6x10 <sup>7</sup>	MNO	7.1x10 <sup>8</sup> ±4.1x10 <sup>7</sup>	KLMN	2.2x10 <sup>5</sup> ±2.1x10 <sup>5</sup>	IJ
TTC093	<i>T. spirale</i>	20.8±3.96	PQR	26±0.6	2124	42	FGHIJKL	18.5±0.7	1075	21	K	3.2±0.2	32	1	M	1.4x10 <sup>8</sup> ±2.8x10 <sup>6</sup>	S	1.1x10 <sup>8</sup> ±1.4x10 <sup>7</sup>	QR	0 ± 0	R
TTC027	<i>T. longibrachiatum*</i>	19.6±0.55	QR	40±0	5027	100	*	40±0	5027	100	*	40±0	5027	100	*	1.7x10 <sup>8</sup> ±9.6x10 <sup>7</sup>	*	1.9x10 <sup>8</sup> ±1.2x10 <sup>8</sup>	*	6.8x10 <sup>5</sup> ±2.1x10 <sup>7</sup>	*
TTC088	<i>T. longibrachiatum*</i>	17.2±1.92	RS	30.9±3.9	3000	60	*	40±0	5027	100	*	40±0	5027	100	*	1.1x10 <sup>8</sup> ±1.3x10 <sup>8</sup>	*	8.8x10 <sup>8</sup> ±6x10 <sup>7</sup>	*	7.3x10 <sup>5</sup> ±3.7x10 <sup>7</sup>	*
TTC007	<i>T. pleuroticola*</i>	16.8±1.48	RS	28.3±1.6	2516	50	*	32±1.2	3217	64	*	14.8±0.5	688	14	*	3.1x10 <sup>8</sup> ±4.3x10 <sup>7</sup>	*	1.5x10 <sup>8</sup> ±8.7x10 <sup>7</sup>	*	5x10 <sup>5</sup> ±5.8x10 <sup>4</sup>	*
TTC028	<i>T. longibrachiatum*</i>	16.2±1.1	RS	38.3±2.3	4608	92	*														