



UNIVERSIDAD JUÁREZ AUTÓNOMA DE TABASCO
DIVISIÓN ACADÉMICA DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

“Estudio en la duda. Acción en la fe”



“EFECTO ANTAGONICO *in vitro* DE CEPAS DE *Trichoderma* spp., OBTENIDOS EN SISTEMAS AGROFORESTALES CACAOTALES PARA EL CONTROL DE *Moniliophthora roreri*”

TESIS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTA:
DAVID LÓPEZ MORALES

DIRECTOR:
DR. EDMUNDO GÓMEZ MÉNDEZ

ASESOR:
DRA. HORTENSIA BRITO VEGA

VILLAHERMOSA, TABASCO. OCTUBRE 2016



UNIVERSIDAD JUÁREZ
AUTÓNOMA DE TABASCO

"ESTUDIO EN LA DUDA. ACCIÓN EN LA FE"



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS

COORDINACIÓN DE ESTUDIOS TERMINALES

Asunto: Autorización de Impresión de
Trabajo Recepcional bajo la
Modalidad de: Tesis.

Fecha: 15 de agosto de 2016

LIC. MARIBEL VALENCIA THOMPSON,
JEFA DEL DEPARTAMENTO DE CERTIFICACIÓN Y
TITULACIÓN DE LA UJAT.
P R E S E N T E.

Por este conducto y de acuerdo a la solicitud correspondiente por parte del interesado(a), informo a usted, con base al artículo 86 del Reglamento de Titulación Vigente en esta Universidad, la Dirección a mi cargo **autoriza** al (a) **C. David López Morales**, con **matrícula 092C9010**, egresado(a) de la licenciatura de **Ingeniería en Agronomía**, de la División Académica de Ciencias Agropecuarias, **la impresión de su trabajo recepcional** bajo la modalidad de **Tesis**, Titulado: **"Efecto antagónico *in vitro* de cepas de *Trichoderma spp.*, obtenidos en sistemas agroforestales cacaotales para el control de *Moniliophthora roreri*"**.

Sin otro particular, aprovecho la ocasión para enviarle un cordial saludo.

ATENTAMENTE

DR. ROBERTO FLORES BELLO
DIRECTOR

U.J.A.T.



DIVISIÓN ACADÉMICA DE
CIENCIAS AGROPECUARIAS
DIRECCIÓN

C.c.p.- Expediente Alumno.

Archivo

DR.RFB/MC.MBC

Miembro CUMEN desde 2008
Consortio de
Universidades
Mexicanas
UNA ALIANZA DE CALIDAD PARA LA EDUCACIÓN SUPERIOR

Km 25 de la carr. fed. 195, tramo Villahermosa-Teapa
Ra. La Huasteca, 2ª sección, 86298, Centro, Tabasco, México
Tel. (+52 993) 3581500-Ext. 6614
Correo electrónico: terminalesdaca@gmail.com

www.ujat.mx

www.facebook.com/ujat.mx | www.twitter.com/ujat | www.youtube.com/UJATmx

CARTA DE AUTORIZACIÓN

El que suscribe, autoriza por medio del presente escrito a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, para que utilice tanto física como digitalmente el Trabajo Recepcional en la Modalidad de Tesis, denominado: “ **Efecto antagónico *in vitro* de cepas de *Trichoderma* spp., obtenidos en sistemas agroforestales cacaotales para el control de *Moniliophthora roreri* ”; de la cual soy autor y titular de los Derechos de Autor.**

La finalidad del uso por parte de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco del Trabajo Recepcional antes mencionado, será únicamente y exclusivamente para difusión, educación y sin fines de lucro. Autorización que se hace de manera enunciativa mas no limitada para subirla a la Red Abierta de Bibliotecas Digitales (RABID), y cualquier otra red académica con las que la universidad tenga relación institucional.

Por lo antes mencionado, libero a la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco de cualquier reclamación legal que pudiera ejercer respecto al uso y manipulación de la Tesis mencionada y para los fines estipulados en éste documento.

Se firma la presente autorización en la ciudad de Villahermosa, Tabasco en el mes de septiembre del año 2016.

AUTORIZÓ



David López Morales

AGRADECIMIENTOS

A DIOS

Por haberme permitido vivir hasta este día, guiarme a lo largo de mi vida, por permitirme sonreír ante todos mis logros que son resultados de tu ayuda. Por haberme dado fortaleza para seguir adelante, por terminar una escala más en mis estudios y sobre todo por haberme dado una gran familia.

A MIS PADRES

A mi madre Francisca en especial que ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en momentos más difíciles.

A MIS ASESORES

Al Dr. Edmundo Gómez Méndez y Dra. Hortensia Brito Vega, quienes me permitieron trabajar con ellos y por la acertada dirección en esta presente investigación. Por apoyar y compartir conocimientos que fueron parte esencial para concluir mi tesis, pero sobre todo, por la sincera amistad que me brindaron.

A mi amiga Trinidad por su sincera amistad, por demostrarme que podemos ser grandes amigos y equipo de trabajo a la vez.

Al Programa de Fomento a la Investigación (PFI) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco, por la beca otorgada para la realización de la presente tesis por medio del proyecto de investigación “ Diversidad y caracterización de hongos endófitos en los sistemas agroforestales cacaotales ” con clave UJAT-2012-IB-22.

DEDICATORIA

A MIS PADRES

Por ser la parte más importante en mi vida. Y sabiendo que jamás existirá una forma de agradecer una vida de lucha, sacrificio y esfuerzo constante; solo deseo que entiendan que el logro mío es logro suyo; que el esfuerzo está inspirado en ustedes y que mi único ideal es ser una persona de provecho, un excelente profesionalista y un buen ser humano.

A MIS HERMANOS

Principalmente a Amalia, José Del Carmen y Juvencio por su apoyo incondicional y comprensión, me acompañaron en todo momento, muchas veces poniéndose en el papel de padre y sin ellos hubiera sido difícil realizar mis estudios. A los demás por sus ánimos que nunca faltaron y compartir conmigo buenos y malos momentos.

A MI NOVIA

Por ser una persona importante en mi vida. Por su apoyo, comprensión, consejos, ánimos y sobre todo por estar siempre a mi lado en momentos memorables. Te amo.

ÍNDICE GENERAL

CONTENIDO	PÁGINA
ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	3
2.1. Objetivo general.....	3
2.2. Objetivos específicos.....	3
2.3. Hipótesis.....	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA	4
3.1. Agroforestería.....	4
3.1.1. Importancia de la agroforestería.....	4
3.1.2. Función de la agroforestería.....	5
3.2. Situación mundial y nacional del cacao.....	5
3.3. Importancia del cultivo de cacao en México.....	6
3.4. Taxonomía del cacao (<i>Theobroma cacao</i> L.).....	6
3.4.1. Genotipos de cacao.....	7
3.4.2. Morfología del cacao.....	8
3.5. Enfermedades del cacao.....	8
3.5.1. <i>Moniliophthora roreri</i>	9
3.5.2. Condiciones bióticas de <i>M. roreri</i>	10
3.5.3. Morfología de <i>M. roreri</i>	10
3.5.4. Ciclo de vida de <i>M. roreri</i>	11
3.5.5. Control biológico de <i>M. roreri</i>	12
3.6. <i>Trichoderma</i> spp.	13
3.6.1. Taxonomía y morfología de <i>Trichoderma</i> spp.....	13
3.6.2. Condiciones bióticas de <i>Trichoderma</i>	13
3.6.3. Importancia de <i>Trichoderma</i>	14
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	15

4.1.	Localización del área de estudio.....	15
4.2.	Sitios de muestreo.....	15
4.3.	Colecta de fruto	17
4.4.	Colecta de suelo rizosférico.....	17
4.5.	Aislamientos de los hongos.....	17
4.5.1.	Aislamiento de <i>Moniliophthora roreri</i>	17
4.5.2.	Aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp.	18
4.6.	Identificación morfológica.....	19
4.6.1.	<i>Moniliophthora roreri</i>	19
4.6.2.	<i>Trichoderma</i> spp.....	19
4.7.	Determinación de tasa de crecimiento.....	19
4.8.	Antagonismo de <i>Trichoderma</i> contra <i>M. roreri</i>	19
4.9.	Diseño experimental.....	20
4.10.	Análisis estadísticos.....	20
V.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
5.1.	Aislamiento e identificación morfológica de <i>M. roreri</i>	21
5.2.	Aislamiento e identificación morfológica de <i>Trichoderma</i> spp.....	22
5.3.	Determinación de tasa de crecimiento.....	25
5.4.	Antagonismo de <i>Trichoderma</i> contra <i>M. roreri</i>	29
5.5.	Porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio (PICM) de <i>M. roreri</i> por <i>Trichoderma</i>	32
VI.	CONCLUSIONES.....	35
VII.	BIBLIOGRAFÍA.....	36
VIII.	ANEXOS.....	41

ÍNDICE DE CUADROS

CONTENIDO	PÁGINA
Cuadro 1. Datos pasaporte de cada colecta y su respectiva georeferenciación.....	16
Cuadro 2. Asignación simbólica y número de aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp., en los municipios de Tabasco y Chiapas.....	23
Cuadro 3. Tasa de crecimiento de <i>Trichoderma</i> y <i>M. roreri</i> crecidos en medio de cultivo PDA.....	27
Cuadro 4. Antagonismo de <i>Trichoderma</i> contra <i>Moniliophthora roreri</i> en medio de cultivo PDA.....	30
Cuadro 5. Porcentaje de inhibición de crecimiento del micelio (PICM) de <i>M. roreri</i> por <i>Trichoderma</i>	32

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

ÍNDICE DE FIGURAS

CONTENIDO	PÁGINA
Figura 1. Aislamiento y purificación de la cepa testigo (T17) <i>M. roreri</i> en caja Petri con medio de cultivo PDA.....	21
Figura 2. Identificación morfológica de los conidios de la cepa testigo (T17) <i>Moniliophthora roreri</i> : a) de forma globosas, b) subglobosas y c) elipsoidal.....	22
Figura 3. Estructuras microscópicas del género <i>Trichoderma</i> ; cepa T1: a) conidióforos y fiálides, b) esporas; cepa T2: c) conidióforos y fiálides d) esporas....	24
Figura 4. Estructuras microscópicas del género <i>Trichoderma</i> ; cepa T13: a) conidióforos y fiálides, b) esporas; cepa T14: c) conidióforos y fiálides d) esporas...	25
Figura 5. Velocidad de crecimiento de las cepas identificadas morfológicamente como el género <i>Trichoderma</i> (T1, T4, T9, T13 y T14) y cepa testigo <i>M. roreri</i> (T17).....	28
Figura 6. Antagonismo de <i>Trichoderma</i> contra <i>M. roreri</i> : cepa T17 (a=3, b=6 y c=9 días), cepa T1 con T17 (d=3, e=6 y f=9 días) y cepa T4 con T17 (g=3, h=6 e i=9 días).....	31
Figura 7. Porcentaje de inhibición de crecimiento del micelio (PICM) de las 16 cepas identificadas como género <i>Trichoderma</i> contra <i>M. roreri</i> (T17).....	34

RESUMEN

El hongo *Moniliophthora roreri* causante de la moniliasis del cacao (*Theobroma cacao* L.), una de las enfermedades más destructivas, ocasiona graves pérdidas que fluctúan de 30 % a 100 % de la producción en México y en los países dedicados a este cultivo. El uso del género *Trichoderma* han mostrado eficiencia sobre el control de *M. roreri*. El objetivo de este trabajo fue evaluar el antagonismo de aislados de *Trichoderma* spp., contra *M. roreri* en condiciones de laboratorio. Se muestrearon 16 sitios en sistemas agroforestales cacaotales de los municipios de Comalcalco, Cárdenas y Cunduacán, Tabasco, y de Ostucán, Chiapas. El aislamiento de *M. roreri* se realizó por el método de desinfección y siembra en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) y *Trichoderma* por el método de dilución en placa en PDA. Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 17 tratamientos, los cuales consistieron en 16 cepas de *Trichoderma* (T1 a T16) y una cepa de *M. roreri* como testigo (T17), cada una con tres repeticiones. Las variables evaluadas fueron tasa de crecimiento y antagonismo. Los datos fueron sometidos a un análisis de varianza y pruebas de Tukey ($\alpha=0.05$). Los resultados de la tasa de crecimiento variaron significativamente para ambos hongos. El crecimiento de la cepa de *M. roreri* fue muy lento con poca esporulación y con un diámetro de 2 mm día⁻¹ en promedio. Las cepas de *Trichoderma* obtuvieron un crecimiento de 8.17 a 23.50 mm día⁻¹. Con respecto al antagonismo de los 16 aislamientos identificados como el género *Trichoderma* todos mostraron su gran potencial antagónico sobre el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno con Porcentaje de Inhibición de Crecimiento del Micelio (PICM) superior a 92 %, lo que indica que la acción antagónica *in vitro* de *Trichoderma* contra *M. roreri* puede considerarse como agente promisorio para el control biológico de la moniliasis en el cultivo de cacao.

I. INTRODUCCIÓN

Los sistemas agroforestales cacaotales son herramientas importantes para la conservación de biodiversidad, porque tienen una gran diversidad de especies, formas de vida y variedad genética (Beer, 1999). Por su estructura estratificada son capaces de proporcionar hábitat, recursos y alimentos a una variedad de especies de animales y plantas (Guiracocha *et al.*, 2001).

El cacao es un cultivo que está ligado culturalmente al desarrollo del trópico cálido húmedo de México. El área cultivada a nivel nacional es de aproximadamente 61 562 hectáreas, de estas, 40 782 hectáreas se cultivan en Tabasco y 20 544 hectáreas en Chiapas (SAGARPA, 2014). En ambos estados representa una fuente importante de ingresos con el 99 % de la producción nacional de tal forma que en Tabasco 36 555 productores dependen económicamente de este cultivo y 11 069 en Chiapas (Avenidaño *et al.*, 2011).

Sin embargo, actualmente el cacao deja de ser atractivo para los productores porque se enfrenta a problemas fitosanitarios como la moniliasis o pudrición del fruto (Mazorcas) causado por el hongo *Moniliophthora roreri* y es considerada como una de las enfermedades más destructiva en América Latina (SAGARPA, 2014). El hongo en su fase invasiva se ha expandido recientemente fuera de su rango geográfico. La enfermedad es económicamente dañina en varios países como Ecuador, Costa Rica, Perú y Honduras; y el daño a gran escala puede resultar de la extensión de *M. roreri* en los países de mayor producción de cacao (Evans *et al.*, 2003). En México, esta enfermedad se reportó por primera vez en marzo de 2005 en Ignacio Zaragoza municipio de Pichucalco, Chiapas y posteriormente se encontró en Huimanguillo, Tabasco el mismo año (Phillips-Mora *et al.*, 2006).

En México, a causa de la moniliasis se registran pérdidas en la cosecha, altos costos económicos, sociales y ambientales, similar a lo observado en otros países de América Central. Su alta agresividad afecta negativamente la rentabilidad del cultivo al depender en gran parte del manejo de fungicidas, material genético resistente, manejo agronómico y cultural, causando pérdidas que oscilan entre el 20 % y 100 % de la producción (SAGARPA, 2014). En los estados productores de

cacao el poco o nulo manejo de las plantaciones de cacao, la edad avanzada de los productores y de las plantaciones, está provocando su abandono y derribo, y como consecuencia la pérdida de la diversidad genética (Avendaño *et al.*, 2011).

Para el control de esta enfermedad se han hecho numerosos estudios en diferentes lugares con microorganismos, especialmente hongos del género *Trichoderma* y bacterias del género *Bacillus* y *Pseudomonas* porque poseen capacidad de antagonismo contra *M. royeri* y otros fitopatógenos (Villegas *et al.*, 2005; Villamil *et al.*, 2012).

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1. Objetivo general

Evaluar en condiciones de laboratorio el antagonismo de aislados de *Trichoderma* spp., contra *Moniliophthora roreri* presentes en los sistemas agroforestales cacaotales de Tabasco y Chiapas.

2.1.1. Objetivos específicos

- Determinar la tasa de crecimiento de *Trichoderma* spp., y *M. roreri*
- Determinar el antagonismo de *Trichoderma* spp., contra *M. roreri*

2.2. Hipótesis

El hongo *Trichoderma* spp., aislado de los sistemas agroforestales cacaotales inhibe el crecimiento de *M. roreri* bajo condiciones de laboratorio.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1. Agroforestería

Durante la Edad Media se practicaba la agroforestería, esto implica una serie de técnicas que incluyen la combinación de árboles y cultivos alimenticios, entre otros (Mendieta y Rocha, 2007). La agroforestería es reconocida como un sistema productivo tanto de madera como de alimentos y como un sistema de manejo del suelo, de esta manera se tiene un mejor aprovechamiento de los recursos naturales y la mejora del ecosistema. Debe existir una interacción significativa entre los elementos arbóreos y no arbóreos del sistema, en términos ecológicos y económicos. Hasta la fecha el potencial de la agroforestería para la conservación de los suelos es generalmente aceptado (Palomeque, 2009).

3.1.1. Importancia de la agroforestería

La agroforestería es una de las formas de contribuir a la producción de alimentos tanto de animales como del propio ser humano. El sostenimiento de la seguridad alimentaria ha sido la meta principal desde el inicio de la civilización, se ha señalado que el alimento perdurable y la seguridad alimentaria pueden ser establecidos únicamente sobre la base de la seguridad ecológica. Los sistemas agroforestales interactúan biológicamente en un área con cultivos y animales. Para el agricultor es importante diversificar la producción en sus fincas y terrenos para facilitar la obtención de madera, leña, frutos, plantas medicinales, forrajes, entre otros (Mendieta y Rocha, 2007).

Las técnicas agroforestales son utilizadas en regiones de diversas condiciones ecológicas, económicas y sociales, en regiones con suelos fértiles los sistemas agroforestales pueden ser muy productivos y sostenibles; igualmente, estas prácticas tiene un alto potencial para mantener y mejorar la productividad en áreas que presenten problemas de baja fertilidad y exceso o escasez de humedad de los suelos. Este sistema contribuye al hallazgo de animales en peligro de extinción, para los agricultores estos sistemas cumplen una función productiva. Sin embargo, la presencia de animales en los sistemas agroforestales es vista como

beneficiosa, porque los mamíferos son una importante fuente de proteína para las familias indígenas (Guiracocha *et al.*, 2001).

3.1.2. Función de la agroforestería

La agroforestería tiene como función a la solución de los problemas de degradación de la tierra y del agua, y como una respuesta a la escasez de alimento, leña, ingreso, forraje animal y materiales de construcción. El objetivo de la agroforestería es reducir la erosión del suelo, mantenimiento de la fertilidad del suelo, mantenimiento de la cantidad y calidad del agua, retención de carbono, reducción de las emisiones de gases de efecto invernadero, mantenimiento y ordenación de la diversidad biológica en el paisaje agrícola (Mendieta y Rocha, 2007). Los sistemas agroforestales son una forma de uso de la tierra en donde leñosas perennes interactúan biológicamente en un área con cultivos y animales. Así también, los sistemas agroforestales pueden servir a los esfuerzos de conservación dependiendo de los factores como diseño y origen, su permanencia en el paisaje, su ubicación relativa al hábitat natural restante y el grado de conexión dentro del hábitat (Palomeque, 2009).

3.2. Situación mundial y nacional del cacao

La FAO (2010), reporta que existen 7.5 millones de hectáreas y 3.7 millones de TM. En 2009 se cosecharon 8 733 093 ha de cacao en el mundo, con una producción de 3 596 000 t y un rendimiento de 611 kg/ha. Costa de Marfil es el principal productor con 1 252 000 t y con un rendimiento de 611 kg/ha. En América, el principal productor es Brasil con una producción de 218 487 t en una superficie de 635 975 ha y un rendimiento de 343.5 kg/ha.

México se ubica en el 11° lugar a nivel mundial con una producción de 27 844 t en una superficie de 61 319 ha con un rendimiento de 0.460 kg/ha. Los principales productores de cacao en México son Tabasco y Chiapas, siendo el cacao el principal recurso agrícola. En Tabasco se cultiva en 40 782 ha, con una producción de 18 550 t y un rendimiento de 0.450 kg/ha. En Chiapas se cultiva en

20 299 ha, con una producción de 9 080 t y un rendimiento 0.450 kg/ha (SAGARPA, 2014).

3.3. Importancia del cultivo de cacao en México

El cacao (*Theobroma cacao* L.) es uno de los cultivos tropicales más importantes tanto en el ámbito nacional como internacional, pero se elabora y consume principalmente en regiones templadas (Jaimes y Aranzazu, 2010). Es probable que fueran los olmecas quienes domesticaron el cacao, hace tres mil años, pero se atribuye a los mayas la difusión de su uso. Los cacaotales son muy adecuados para reforestar áreas completamente taladas y pueden convertirse en corredores biológicos entre segmentos de selva, permitiendo la repoblación de aves, mamíferos, reptiles y anfibios, entre otros. Nuestros antepasados utilizaban el cacao como actividades culturales, alimentos (para preparar bebidas, dulces), medicina y como trueque en el que podían comprar otros productos como parte de su sistema económico. Sin embargo, mediante un adecuado manejo de los cultivos de cacao y la inclusión de valores agregados en la producción, como el cultivo orgánico, el cultivo de variedades específicas, los estrictos controles de fermentación y secado, así como el fomento de la manufactura de chocolate mexicano bajo ciertos estándares de calidad, podrían generar importantes ingresos económicos para los pequeños productores del sureste de México (Ogata, 2007).

3.4. Taxonomía del cacao (*Theobroma cacao* L.)

El cacao se cultivaba por los mayas antes de la llegada de los españoles. En 1700, Tournefort retuvo al cacao como genero, más tarde Linneo en 1737 lo sustituyó por *Theobroma* y como especie *cacao*. En 1964, José Cuatrecasas lo incluyo en la tribu de las bitnerieas de la familia de las *Sterculiaceas* por sus caracteres fundamentales del genero *Theobroma* (López, 1987).

El género *Theobroma* pertenece a la clase *Angiospermae*, Orden *Malvales* y a la familia *Malvaceae* (antes en la *Sterculiaceae*). Existen alrededor de 22 especies descritas, ubicadas principalmente en Sudamérica y partes de Centroamérica.

Especies como *Theobroma cacao* L. y *Theobroma bicolor* Humb. se distribuyen naturalmente hasta México. Otras especies mencionadas, *Theobroma grandiflorum* (Willd. Ex Spreng.) K. Schum en Brasil y Perú; *T. subincanum* Mart. en Brasil, Colombia y Venezuela; *T. speciosum* Willd. en Bolivia (Ogata, 2007).

La planta de cacao es de tamaño mediano, crece libremente bajo sombra intensa, puede alcanzar alturas hasta de 20 metros. Tiene un tronco recto que puede desarrollarse de formas muy variadas, según las condiciones ambientales. Por lo general, el cacao tiene su primera horqueta cuando alcanza 1.5 m de altura; en este punto, se desarrollan de 3 a 6 ramas principales a un mismo nivel, estas ramas forman el piso principal del árbol y se distinguen de los demás por ser la parte más productiva de la planta (López, 1987).

3.4.1. Genotipos de cacao

Cacao criollo. Es originario de Centroamérica, Colombia y Venezuela. Se distingue por tener frutos de cáscara suave, con 10 surcos, combinando un surco profundo con otro de menor profundidad. Los lomos son brotados, borroñosos y terminan en una punta delgada. Las semillas son dulces y de color blanco a violeta. De esta variedad se produce el cacao fino o de mejor calidad. Actualmente no existe cacao criollo puro, sino lo que llamamos variedades acriolladas debido a que han tenido varios cruces con otras variedades (López, 1987).

Forastero. Es originario de América del Sur y es el más cultivado en las regiones cacaoteras de África y Brasil. Se distingue porque tiene frutos de cáscara dura y más o menos lisa. Sus semillas o almendras son aplanadas de color morado y sabor amargo (FEDECACAO, 2010).

Trinitario. Surge del cruce del cacao Criollo y Forastero. Las mazorcas pueden ser de muchas formas y colores; las semillas son más grandes que las del cacao criollo y forastero; las plantas son fuertes, de tronco grueso y hojas grandes. En la actualidad la mayoría de los cacaotales que existen en el mundo son trinitarios (FEDECACAO, 2010).

López (1987) clasificó las variedades de cacao de Tabasco en el grupo de los criollos: rojo, verde con rojo, verde blanquizco liso y verde blanquizco rugoso.

Otros tipos como los neocriollos denominados así por la dominancia de almendras blancas, dentro de estos están: clonal n°1, esferoide y amelonado.

3.4.2. Morfología del cacao

La raíz pivotante alcanza una profundidad de 1.5 hasta 2.0 metros (anclaje y agua). Las raíces adventicias superficiales desarrollan hasta 5 metros de longitud, y son las bases de extracción de nutrientes. El tallo y las ramas son leñosos, alcanzan los 0.60 a 1.5 m de longitud y de 15 a 30 cm de diámetro. Ramifican en forma de verticilos de tres a cinco ramas y pueden formar dos o hasta tres estratos. Las hojas son de color verde, jóvenes de verde claro a rojizos, delgadas de textura firme. El tamaño varía de 15 a 50 cm de longitud por 4 a 10 cm de ancho, margen entero y ápice agudo o subagudo, lámina subovada, elíptica u oblonga. La Inflorescencia es cimadaciforme cubiertos de estambres, mide de 1 a 1.5 cm, es hermafrodita y pentámera, presenta ovario súpero pentacarpelar de placentación axilar y los pétalos son rosados o blanquecinos. El fruto presenta bayas que contiene de 20 a 60 semillas cubiertas de mucilagos, epicarpio carnoso de color amarillo hasta morado. La forma puede ser amelonado, angoleta, calabacillo y cundeamor dependiendo de la variedad (FEDECACAO, 2010).

3.5. Enfermedades del cacao

Las enfermedades son importantes factores limitantes de la producción mundial del cacao, causando pérdidas considerables superiores al 30 % del potencial productivo. En la actualidad, las enfermedades del cacao con mayor potencial de daños son las causadas por hongos basidiomicetes del género *Moniliophthora* mencionando *M. roreri* y *M. perniciosa*. El impacto devastador de la escoba de bruja (*M. perniciosa*), enfermedad que ocasionó en un periodo de 10 años la reducción de 70 % de la producción del cacao en Brasil y está presente en 10 países productores de Latinoamérica. En el Oriente de África, la producción del cacao está amenazada por el patógeno *Phytophthora megakarya*, agente causal de la mazorca negra. *Phytophthora* causa pérdidas cercanas a 10 % de la producción mundial (Jaimes y Aranzazu, 2010).

Phytophthora spp., se encuentra en todos los países productores de cacao. Se reportan especies de *Phytophthora* como *P. palmivora*, *P. capsici*, *P. megakarya* y *P. citrophthora* que se consideran que causan la enfermedad de mazorca negra. *Phytophthora palmivora* tiene un amplio límite de hospederos. En la planta *Phytophthora* puede infectar las raíces, tallo, ramas, flores, mazorcas y hojas. La escoba de bruja (*Crinipellis pernicioso*) fue reportada por primera vez en Surinam en 1895, más tarde en 1989 en países de la parte norte de América del Sur, Panamá, Trinidad y Granada. *Crinipellis pernicioso* afecta el tejido meristemático produciendo la característica escoba de brotes hipertrofiados en forma de abanico. Las yemas, frutos y cojines florales también se infectan (Thurston, 1989). La moniliasis (*Moniliophthora roreri*) afecta solo al fruto de cacao (Evans, 1981). Otras enfermedades que afectan a las plantaciones de cacao son *Ceratosystis fimbriata* transmitida por insectos, pero la transmisión mecánica es la más importante. El virus del retoño hinchado del cacao (CSSV) causada por un complejo de razas de virus (Thurston, 1989).

3.5.1. *Moniliophthora roreri*

La moniliasis también llamada pringue, hielo, enfermedad palúdica, helada, pudrición acuosa, helada, mancha ceniza y enfermedad de Quevedo dependiendo del país y de la región donde se presente. El organismo causante de la enfermedad fue descrita en 1933 por Cefferri y Parodi, y mediante las características fisiológicas y morfológicas observadas del hongo lo clasificaron como un hongo imperfecto de la clase *Deuteromycete*, género *Monilia* y especie *roreri* (Galindo y Enríquez, 1983; citado por López *et al.*, 2006). Evans *et al.* (1978) presentaron evidencias de que el hongo posee características propias de un *Basidiomicete* y proponen la reclasificación ubicándolo taxonómicamente como hongos mitospóricos (hongos imperfecto), clase *Hyphomycetes* (hongos que no forman cuerpos fructíferos), familia *Moniliaceae*, género *Moniliophthora* y especie *roreri*. En estudios recientes mediante el uso de pruebas morfológicas, citológicas y moleculares se clasificó a *M. roreri* en el orden Agaricales y en la familia *Marasmiaceae* (Aime y Phillips-Mora, 2005). López (1987) menciona que la

moniliasis fue observada por primera vez en Ecuador en 1916 extendiéndose por todo el país. Posteriormente se diseminó por todo Sudamérica siguiendo la ruta por Centroamérica hasta llegar a México. En marzo de 2005 fue detectada por primera vez en el municipio de Pichucalco, Chiapas, México y posteriormente se encontró en Huimanguillo, Tabasco el mismo año (Phillips-Mora *et al.*, 2006). Esta enfermedad es considerada como una de las amenazas más grave en la producción mundial del cacao atacando únicamente a los frutos de cacao y de parientes cercanos como el pataste (*Theobroma bicolor*), el cupuacu (*Theobroma grandiflorum*), entre otros (Phillips-Mora y Cerda, 2009).

3.5.2. Condiciones bióticas de *M. roreri*

La enfermedad se presenta en cualquier etapa de desarrollo del fruto, es favorecido por las condiciones ambientales presentadas en la época de mayor producción del cacao. En México y Colombia Jaimes y Aranzazu (2010), reportan pérdidas que oscilan entre el 40 % y 100 % de la producción y en algunos países de América Latina se observan pérdidas de 20 % a 100 %, convirtiéndose por lo tanto en el factor limitante para la producción del cacao en los países dedicados al cultivo.

En las plantaciones de cacao, el fruto es el único órgano infectado por *M. roreri*. La penetración y desarrollo del patógeno puede ocurrir en cualquier fase de su desarrollo, siendo más susceptibles en la etapa inicial. Externamente, los síntomas aparecen como puntos aceitosos muy pequeños y circulares, los cuales, se convierten en manchas irregulares de color amarillo y marrón. El proceso desde la infección a la aparición de la mancha tiene una duración aproximada de 60 ± 10 días dependiendo de la susceptibilidad del clon de cacao. Entre tres y cuatro días, se desarrolla el micelio blanco sobre las lesiones y luego aparecen las esporas, las cuales confieren un color crema a marrón (Jaimes y Aranzazu, 2010).

3.5.3. Morfología de *M. roreri*

El hongo *M. roreri* posee hifas hialinas y septadas, las septas sin conexiones de gancho pero con dolíporos típicos de 1.5 a 5 μm de ancho. Las conidias son de

formación basal, su forma varía de globosa a elipsoidal; son hialinas, forman cadenas de 4 a 10 conidias y miden de 7 a 10 μm de largo. Los conidióforos son más o menos verticales, ligeramente ramificados y ocasionalmente aislados y erectos, algunas veces trifurcados, hialinos, pluriseptados con una constricción en la septa y miden de 9 a 50 μm de longitud (Evans *et al.*, 1978).

3.5.4. Ciclo de vida de *M. royeri*

La fuente de inóculo capaz de producir la enfermedad moniliasis son los conidios. El origen de los conidios para desarrollar una nueva infección define dos ciclos de vida del hongo: primario y secundario. En el primer caso el inóculo llega a una mazorca sana procedente de un fruto con infección reciente sobre el cual se ha desarrollado un estroma esporulante. En el segundo caso, las esporas proceden de frutos infectados y momificados en ciclos anteriores que permanecen en el árbol durante mucho tiempo. La espóra germina y penetra en todos los estados de crecimiento. La penetración ocurre directamente a través de la epidermis y estomas siendo de uno a cinco tubos germinativos que se extienden sobre la epidermis y producen las hifas de infección. Estas hifas se observan después de ocho horas creciendo intercelularmente debajo de la epidermis; desarrollando más tarde los conidióforos y los conidios dentro de la corteza de las mazorcas. El periodo desde el inicio de la infección a la aparición de la mancha color café varía con la edad del fruto atacado, el fruto es más susceptible a las primeras etapas de desarrollo. En frutos que tienen entre uno y dos meses de edad, la aparición de síntomas ocurre entre 30 a 45 días después de la infección, mientras que con las mazorcas de edad mayor, los síntomas aparecen entre 60 y 90 días. A los tres o nueve días siguientes a la aparición de las manchas se forma el estroma y tres o cuatro días después, aparecen las fructificaciones reproductivas o esporas (López *et al.*, 2006).

El patógeno se mantiene en los frutos infectados que se encuentran adheridos a las plantas, los cuales mayormente se encuentran en parcelas abandonadas o sin manejo. En frutos momificados, el hongo produce varios ciclos de esporulación hasta por periodos de más de nueve meses (Evans, 1981).

3.5.5. Control biológico de *M. roreri*

Se han hecho numerosos estudios en diferentes lugares sobre el control de la moniliasis con microorganismos, especialmente bacterias antagónicas de los géneros *Bacillus* y *Pseudomonas*. La bacteria *Bacillus* tiene un amplio efecto antagónico *in vitro* sobre *Moniliophthora roreri* (Villamil *et al.*, 2012). Los hongos *Cladobotryum amazonense*, *Hypomyces* spp., *Verticillium lecanii*, *Penicillium* spp., *Clonostachys* spp., (*Gliocladium*), *Trichoderma* spp., *Aspergillus niger*, *Acremonium* spp., *Didymella* spp., *Nectria* spp., *Didymostilbe* spp., se han identificado como antagonistas de enfermedades del cacao (Krauss y Soberanis, 2003; Bateman *et al.*, 2005). Por otro lado, el género *Trichoderma* spp. ha sido utilizado por su capacidad de parasitar muchos fitopatógenos, el cual actúa mediante la producción de antibióticos, por medio de los cuales inhibe el desarrollo de otros hongos que compiten por espacio o nutrientes como ocurre en flores y frutos con *Botrytis* y *M. roreri* (Villegas, 2005).

Estudios recientes por Torres *et al.* (2015) encontraron nueve especies de *Trichoderma*: *Trichoderma asperellum*, *T. brevicompactum*, *T. harzianum*/H. *lixii*, *T. koningiopsis*/H. *koningiopsis*, *T. longibrachiatum*/H. *sagamiensis*, *T. pleuroticola*, *T. reesei*/H. *jecorina*, *T. spirale* y *T. virens*/H. *virens* aislados en sistemas agroforestales cacaotales en Tabasco, México. Estos mismos autores mencionan que estas especies son primer registro para el agroecosistema cacao en Tabasco. *Trichoderma asperellum*, *T. brevicompactum*, *T. koningiopsis*/H. *koningiopsis*, *T. pleuroticola*, *T. reesei*/H. *jecorina* y *T. spirale* son registros nuevos para la entidad y *Trichoderma pleuroticola* es registro nuevo para México. Rivas y Pavone (2010), reportan seis especies de *Trichoderma* tales como: *T. harzianum*, *T. virens*, *T. brevicompactum*, *T. theobromicola*, *T. pleurotum* y *T. koningiopsis* aislados de un sistema agroforestal de *Theobroma cacao*, encontrando el mayor abundante *T. harzianum* (61.1 %) una especie muy utilizadas en programas de control biológico. Michel-Aceves *et al.* (2008) reportan tres especies: *T. harzianum*, *T. longibrachiatum* y *T. koningii* aislados de un cultivo de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Por otro lado, diversos estudios basados en la búsqueda de

cepas de *Trichoderma* spp., han demostrado la eficacia para el control de enfermedades en diferentes cultivos. Por otro lado, Esparza (2009), reporta las cepas T14, T10, T9 (*T. asperellum*), la T2 (*T. harzianum*), la T13 (*T. gamsii*) y T12 (*T. inhamatum*) en el biocontrol de *Phytophthora parasítica* en plantas de Jamaica con porcentajes de inhibiciones variadas de 25.87 % a 97.5 %. Villamil *et al.* (2012), reporta las cepas H5 y H20 de *Trichoderma* como agentes biocontrol de *Moniliophthora roreri* aislados de frutos de cacao y rizósfera.

3.6. *Trichoderma* spp.

El género *Trichoderma* spp., fue descrito por primera vez en 1794 por Person quien clasificó cuatro especies (*T. viride*, *Xylohiha nigresce*, *Sporotrichum aureum* y *Trichotecium roseum*) que actualmente no se consideran relacionadas entre si, la primera delimitación genética de *Trichoderma* spp., la realizó Hartz en 1871, quien enfatizó la importancia y las características microscópicas en la delimitación del género, especialmente por la presencia de fiálides (Bisset, 1991). Romero *et al.* (2009) cita a Rifai (1969) quien describió nueve especies de *Trichoderma* spp., especialmente *T. harzianum*.

3.6.1. Taxonomía y morfología de *Trichoderma* spp.

Se han descrito alrededor de 40 taxones de *Trichoderma* spp., hasta la fecha. Sin embargo, basados en sus características morfológicas del orden de los Hypocreales, el número real podría ser más de 200 taxones (Samuels *et al.*, 1999). El género *Trichoderma* se encuentra dentro de la subdivisión *Deuteromycetes* (hongos imperfectos) ubicada en la clase *Hyphomycetes*, orden *Hyphales* y a la familia *Moniliaceae*. Este género posee conidióforos erectos o arrastrados, altamente ramificados más o menos cónicos, al final de los conidióforos presenta terminaciones filinas, esporas lisas hialinas. *Trichoderma* spp., es un antagonista de muchos hongos fitopatógenos (Agrios, 1995).

3.6.2. Condiciones bióticas de *Trichoderma*

La temperatura óptima en la mayoría de las especies del género *Trichoderma* para su crecimiento linear en agar y producción de micelio está entre 20 y 28 °C, aunque crece bien entre 6 a 32 °C. El contenido mínimo de humedad para su crecimiento vegetativo es del 92 % y para su esporulación es de 93 al 95 %. Tiene cierta respuesta a la luz, especialmente azul y la violeta. La luz promueve la formación de esporas, el crecimiento de micelio y la coloración (Hidalgo, 1989; Domsch, *et al.*, 1993). La colonia de superficie blanca y reversa violeta, luego de 4 días de crecimiento en agar maltosa 4 % a 25 °C el diámetro de la colonia es de 7.1 – 8.3 cm especialmente *T. harzianum*. El micelio es escaso, de textura velutinosa. La escasa formación de micelio aéreo hace que la superficie sea levemente hirsuta, con el tiempo el centro de la colonia se torna algodonoso y se observa la esporulación en la zona periférica de la colonia en pústulas conidiógenas de color blanco, que luego se tornan verde grisáceo, el medio se torna a color vino tinto (Domsch, *et al.*, 1993). El sitio donde *Trichoderma* se encuentra es en la rizosfera y otro sitio importante de muestreo es el interior de la planta, se ha reportado la presencia de especies de *Trichoderma* creciendo endofíticamente en *Theobroma cacao* (Villamil *et al.*, 2012).

3.6.3. Importancia de *Trichoderma*

El género *Trichoderma* plantea un importante desafío para la sistemática, dado a que las relaciones filogenéticas de muchos de sus miembros todavía no son claras (Rivas y Pavone, 2010). El hongo *Trichoderma* es uno de los agentes de mayor uso en programas de control biológico como reguladores de fitopatógenos (Vinale *et al.*, 2008). Se ha reportado su uso en una diversidad de cultivos de importancia agrícola, como el cacao (*Theobroma cacao* L.) utilizado como un biocida para el biocontrol de *Crinipellis pernicioso* y *M. royeri* que causan enfermedades del cacao. *T. harzianum* es un hongo que desde el siglo XX ha sido la base del estudio conociendo su morfología, diversidad patogenia y la utilización como un biocontrolador de enfermedades en otras especies vegetales (Samuels *et al.*, 1999; Romero *et al.*, 2009).

IV. MATERIALES Y METODOS

4.1. Localización del área de estudio

El experimento se realizó en el laboratorio de sanidad vegetal en la División Académica de Ciencias Agropecuarias (DACA) de la Universidad Juárez Autónoma de Tabasco (UJAT), ubicado en el km 25+2 de la carretera Villahermosa-Teapa, Ranchería la Huasteca 2da Sección, municipio de Centro, Tabasco. Sus coordenadas geográficas son 17°46'56.0" latitud Norte y 92°57'28.0" longitud Oeste, a una altura de 30 msnm. De acuerdo al sistema de Köppen modificado por García (2010), el clima del área de estudio es Af (m) W>>(i) g, es decir, clima cálido húmedo con altas precipitaciones en verano. La temperatura media anual oscila entre los 25 a 28 °C, con máximas de 39 °C en mayo y mínima de 13.7 °C en febrero (Palma y Cisneros, 2000).

4.2. Sitios de muestreo

Se muestrearon 16 localidades (Cuadro 1) en los meses de noviembre y diciembre de 2014 en Tabasco y Chiapas, para la colecta de mazorcas de cacao con síntomas de moniliasis, así como la obtención de muestras de suelo.

Cuadro 1. Datos pasaporte de cada colecta y su respectiva georeferenciación.

Número de colecta	Municipio	Localidad	Coordenadas
1	Cunduacán, Tab.	Yoloxochilt 1ra sección	18° 06' 16.9"N 93° 16' 50.2"W
2	Cunduacán, Tab.	Miauhuathal	18° 06' 07.7"N 93° 09' 54.2"W
3	Cunduacán, Tab.	San Severo	18° 08' 05.5"N 93° 07' 48.9"W
4	Cunduacán, Tab.	Yoloxochilt 2da sección	18° 04' 55.7"N 93° 15' 06.4"W
5	Comalcalco, Tab.	Oriente 3ra sección	18° 18' 38.3"N 93° 13' 01.5"W
6	Comalcalco, Tab.	Oriente 2da sección	18° 18' 54.3"N 93° 12' 37.0"W
7	Comalcalco, Tab.	Chipilín	18° 19' 03.8"N 93° 13' 24.4"W
8	Comalcalco, Tab.	Benito Juárez	18° 18' 43.6"N 93° 12' 54.7"W
9	Cárdenas, Tab.	Arroyo hondo 2° sección	18° 01' 37.2"N 93° 25' 01.5"W
10	Cárdenas, Tab.	Poblado C-28	17° 59' 33.1"N 93° 20' 53.4"W
11	Cárdenas, Tab.	Arroyo hondo 1ra sección	18° 01' 01.0"N 93° 26' 11.5"N
12	Cárdenas, Tab.	Poblado C-31	17° 59' 33.2"N 93° 20' 55.2"W
13	Ostuacán, Chis.	Ra/San Lupe	17° 23' 28.9"N 93° 16' 50.7"W
14	Ostuacán, Chis.	San Joaquín	17° 23' 23.8"N 93° 16' 39.6"W
15	Ostuacán, Chis.	Ej. Viejo Xochimilco R. E.	17° 23' 38.4"N 93° 18' 01.7"W
16	Ostuacán, Chis.	San José	17° 23' 35.0"N 93° 17' 03.8"W

Tab= Tabasco; Chis= Chiapas; Ra= ranchería; Ej= ejido

4.3. Colecta de fruto

Los frutos de cacao se colectaron en estado de necrosis externa con mancha chocolate y abultamiento, con dos a tres meses de edad (Evans, 1981). El fruto se cortó con una tijera estéril y se colocó en bolsas de polietileno (ziplot). Se almacenaron a una temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ y posteriormente se trasladaron al laboratorio de sanidad vegetal para su proceso.

4.4. Colecta de suelo rizosférico

El suelo se colectó en plantaciones de cacao infestadas con moniliasis. Por cada sitio se tomaron muestras de suelo del área circundante de *T. cacao* por el método “cinco de oros” de acuerdo a la metodología descrita por Michel-Aceves *et al.* (2008). El muestreo consistió de cinco submuestras, eliminando la materia orgánica superficial y los primeros 4 cm de suelo, posteriormente se cavó a una profundidad de 20 cm con una pala recta. Las muestras de suelo se homogenizaron para tomar 1 kg, se colocaron en bolsas de polietileno (ziplot) y se almacenaron a una temperatura de $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ para su traslado y procesamiento al laboratorio de sanidad vegetal.

4.5. Aislamientos de los hongos

4.5.1. Aislamiento de *Moniliophthora roreri*

El aislamiento de *M. roreri* se realizó por el método de desinfección y siembra de acuerdo con la metodología descrita por López (1954) y Evans (1981), de las mazorcas de cacao colectadas con síntomas de moniliasis se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2.5 % durante 1 minuto y se hicieron pasar por agua destilada esterilizada para eliminar los residuos del hipoclorito de sodio e impurezas. Posteriormente, con el apoyo de un bisturí y en forma aséptica se tomaron fracciones de tejido interno y se sembraron en cajas Petri con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), mismas que se incubaron a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante 15 días. Para el reconocimiento de *M. roreri* se siguió el criterio de color blanco a crema y superficie espolvorizada sugerido por Evans (1981), se hicieron montajes al microscopio para observar la presencia de características de conidios y micelio.

Posteriormente, se hicieron reaislamientos de cepas de *M. rozeri* hasta obtener colonias puras. De las cajas Petri con una aguja de disección esterilizada se tomaron fracciones de micelio del fitopatógeno y se transfirió de nuevo en cajas Petri con medio de cultivo PDA hasta lograr purificar el hongo. Las cajas se incubaron a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante 15 días. Finalmente, se multiplicó el hongo en cajas Petri con PDA para la prueba de antagonismo.

4.5.2. Aislamiento de *Trichoderma* spp.

El aislamiento de *Trichoderma* se realizó por el método de dilución en placa de acuerdo a la metodología descrita por Rivas y Pavone (2010) y Villamil *et al.* (2012). De las muestras compuestas por cada sitio de muestreo se tomó 10 g del material edáfico, el cual se suspendió por separado en un matraz Herlenmeyer de 500 mL que contenía 100 mL de agua destilada esterilizada y se agitó durante 5 min. Posteriormente, de esta suspensión se tomaron alícuotas de 1 mL con una micropipeta graduada de 100 a 1000 μL y se transfirieron en tubos de ensayo que contenía 4 mL de agua destilada estéril, se realizaron diluciones seriadas de 1/10 (p/v) para cada muestra, de estas se sembraron alícuotas de 0.5 mL en cajas Petri con medio de cultivo PDA suplementado con ampicilina y amoxicilina (1 mg mL^{-1} cada uno) y se dispersó uniformemente sobre la superficie del medio de cultivo con una varilla "L" de vidrio. Las cajas fueron incubadas a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante ocho días.

Para el reconocimiento del género *Trichoderma* se siguió el criterio de crecimiento rápido y extendido de color blanco a verde sugerido por Rivas y Pavone (2010). Se hicieron montajes al microscopio para observar la presencia de características morfológicas de conidios y conidióforos.

Posteriormente, se hicieron reaislamientos de cepas de *Trichoderma* hasta obtener colonias puras. Pasando los ocho días, de las cajas Petri con un asa de platino se tomaron fracciones de micelio de la colonia con características morfológicas y se transfirió en medio de cultivo PDA dispersándolo en forma estriada. Las cajas se incubaron a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante ocho días. Una vez obtenidas las colonias puras se conservaron para la prueba de antagonismo

4.6. Identificación morfológica

4.6.1. *Moniliophthora roreri*

Para la identificación de *M. roreri* se utilizó un estereoscopio y un microscopio compuesto marca Carl Zeiss. Se realizó un montaje, en tanto que la fijación se hizo con ácido láctico y la tinción con lactofenol. Se colocó el cubreobjeto con el fin de observar las estructuras morfológicas, utilizando las claves taxonómicas propuestas por Phillips *et al.* (2006) y Evans (1981).

4.6.2. *Trichoderma* spp.

La identificación del género *Trichoderma* se realizó con base a las características morfológicas de los conidióforos y de los conidios siguiendo el protocolo descrito en la clave taxonómica de Samuels *et al.* (1999) y Villegas (2005). De las cepas de *Trichoderma* completamente esporuladas se realizó montajes en portaobjetos, la fijación se hizo con ácido láctico y la tinción con lactofenol. Se colocó el cubreobjeto con el fin de observar las estructuras morfológicas, utilizando un estereoscopio y un microscopio compuesto marca Carl Zeiss.

4.7. Determinación de tasa de crecimiento

Para determinar la tasa de crecimiento, en el centro de cajas Petri con medio de cultivo PDA se sembró un disco de 5 mm de diámetro de cultivos activos de 20 días de edad crecidos en PDA que correspondieron a los aislados de *Trichoderma* y *M. roreri*, las cajas Petri se incubaron a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, con 12 h de luz/oscuridad. Se midió el diámetro de crecimiento de *Trichoderma* y *M. roreri* cada 24 h con una regla graduada expresado en mm (Michel-Aceves *et al.*, 2008).

4.8. Antagonismo de *Trichoderma* contra *M. roreri*

Para determinar el antagonismo, se realizó por el método de cultivos duales según Villamil *et al.* (2012), con un asa de platino y en condiciones asépticas se tomó un disco de 5 mm de diámetro de PDA colonizado por *M. roreri* y se sembró en el centro de cajas Petri con medio de cultivo PDA, las cajas se incubaron a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ y se espero hasta que el hongo midiera aproximadamente 1 cm de diámetro,

debido al lento crecimiento del hongo. Pasado este periodo, se marcaron cuatro puntos sobre los ejes vertical y horizontal a una distancia de 2 cm del borde, donde se colocaron discos de 5 mm de diámetro de PDA colonizado por *Trichoderma* excepto en el testigo. Las cajas se incubaron a $25\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ durante 40 días. Cada tercer día se registró el crecimiento de la colonia (diámetro) de *M. roreri* expresado en mm utilizando una regla graduada.

Para obtener el Porcentaje de Inhibición de Crecimiento del Micelio (PICM) de *M. roreri* se calculó con base a la fórmula:

$$\% \text{ de inhibición} = [(D1-D2)/D1] \times 100$$

En donde: D1= Diámetro de la colonia de *M. roreri* creciendo en caja Petri con medio de cultivo PDA en ausencia de *Trichoderma* y D2= Diámetro de la colonia de *M. roreri* creciendo en caja Petri con medio de cultivo PDA en presencia de *Trichoderma* (Michel-Aceves *et al.*, 2008).

4.9. Diseño experimental

Para la tasa de crecimiento se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 17 tratamientos, los cuales consistieron en 16 cepas de *Trichoderma* (T1 a T16) y una cepa de *M. roreri* como testigo (T17), cada una con tres repeticiones, teniendo un total de 51 unidades experimentales. La unidad experimental consistió en una caja Petri colonizada por cada hongo. Para el caso de antagonismo la unidad experimental consistió en una caja Petri que contenía *Trichoderma* y *M. roreri* teniendo un total de 17 tratamientos considerando el testigo, el cual consistió en *M. roreri* creciendo en ausencia de *Trichoderma*.

4.10. Análisis estadísticos

Los datos obtenidos para cada variable fueron sometidos a un análisis de varianza y en su caso a una comparación de medias con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$), con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis system, versión 9.1, 2002-2003).

V. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

5.1. Aislamiento e identificación morfológica de *M. roreri*

El aislamiento de *M. roreri* en las mazorcas enfermas colectadas se procesó de acuerdo al procedimiento de desinfección y siembra propuesto por López (1954) y Evans (1981). Como resultado, se obtuvo una cepa testigo (T17) perteneciente al municipio de Ostucán, Chiapas (Figura 1). Debido a que el aislamiento de *M. roreri* en los otros sitios de muestreo mostraron un crecimiento muy lento con poca esporulación y presencia de microorganismos contaminantes como *Aspergillus* sp. y *Penicillium* sp. Estos microorganismos limitan el crecimiento de *M. roreri*, mismos que son reportados por otros autores como Suárez (2006) y González y Roble (2014).

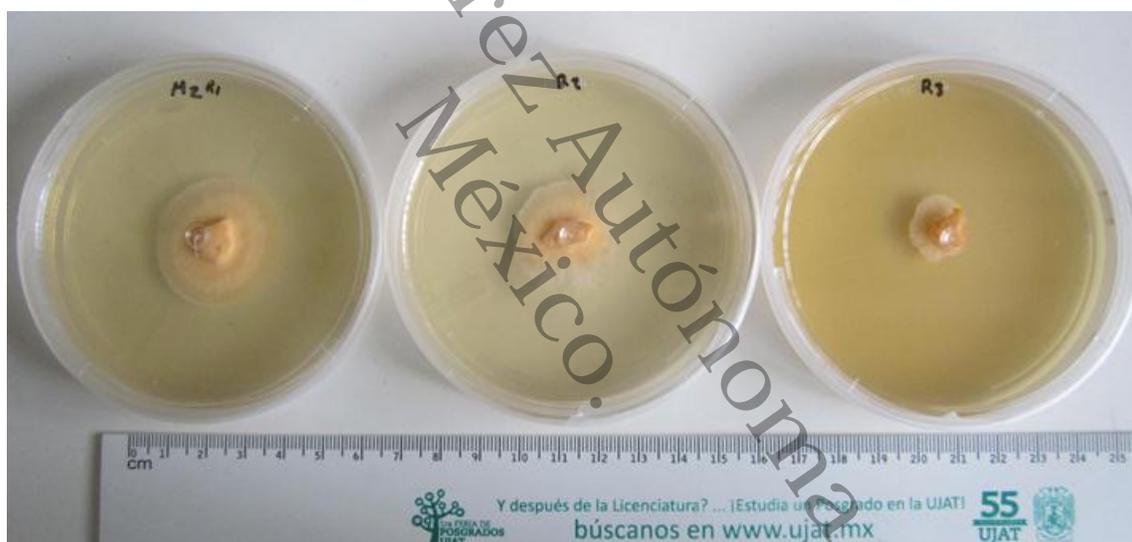


Figura 1. Aislamiento y purificación de la cepa testigo (T17) *M. roreri* en caja Petri con medio de cultivo PDA.

Las características morfológicas de la cepa testigo (T17) *M. roreri* observadas fueron micelio de color blanco que luego se tornó crema salmón, con formación de anillos concéntricos con tonalidades diferentes desde el centro de la colonia hasta el borde, borde regular/irregular y textura algodonosa, estas características macroscópicas concuerdan con lo descrito por Suárez (2006). Las observaciones microscópicas fueron conidios en cadenas con maduración basipétala, hialinas,

comúnmente globosas a subglobosas, elipsoidales muy escasas, micelio hialino y brillante (Figura 2). Estas características morfológicas de *M. roreri* coincidieron con las reportadas por Phillips-Mora *et al.* (2006) y Evans (1981).

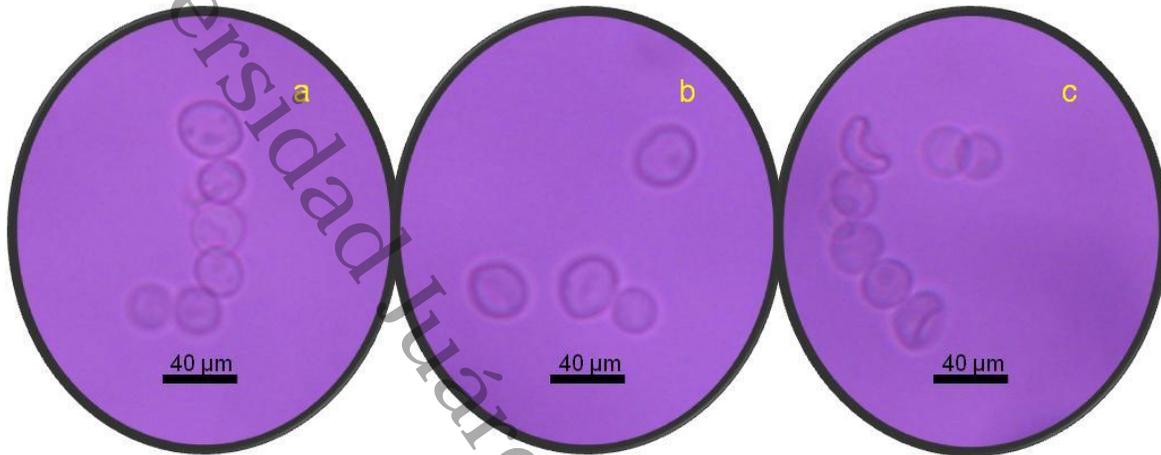


Figura 2. Identificación morfológica de los conidios de la cepa testigo (T17) *M. roreri*: a) de forma globosas, b) subglobosas y c) elipsoidal.

5.2. Aislamiento e identificación morfológica de *Trichoderma* spp.

En el Cuadro 2 se presentan los aislados del género *Trichoderma* spp., con base en sus características morfológicas específicas provenientes de los suelos rizosféricos de las plantaciones de cacao. Estos aislados se distribuyen de la siguiente manera: Cunduacán obtuvo el mayor número de cepas con cinco (T9 a T13), seguido de Comalcalco (T1 a T4) y Cárdenas (T5 a T8), Tabasco con cuatro cepas, respectivamente de cada municipio, y por último Ostuacán, Chiapas con tres cepas (T14 a T16). Las características del suelo de las localidades pertenecientes al estado de Tabasco donde se aisló *Trichoderma* spp., presentó un pH moderadamente ácido (5.6) a neutro (6.9), 9.3 porcentaje de materia orgánica y densidad aparente de 1.26 g/cm³ (Antele, 2015). Debido a que la colecta de suelo se realizó durante otoño-invierno en zona tropical no se encontró *Trichoderma* en todos los sitios de muestreo. Al respecto Michel-Aceves *et al.* (2008) indican que uno de los factores que pueden afectar la densidad de población de *Trichoderma* spp., es la época del año cuando se colecta la muestra,

se han aislado poblaciones altas durante primavera-verano, en comparación con el otoño-invierno en zonas templadas.

Cuadro 2. Asignación simbólica y número de aislamiento de *Trichoderma* spp., en los municipios de Tabasco y Chiapas.

Municipio	Localidad	Identificación de los tratamientos <i>Trichoderma</i> (T)
Comalcalco, Tab.	Chipilín	T ₁ , T ₂ , T ₃ y T ₄
Cárdenas, Tab.	Arroyo hondo 2° sección	T ₅ , T ₆ y T ₇
	Poblado C-28	T ₈
Cunduacán, Tab.	Yoloxochilt 1ra sección	T ₉ y T ₁₀
	Yoloxochilt 2da sección	T ₁₁
	Miauhuathal	T ₁₂ y T ₁₃
Ostuacán, Chis.	San Joaquín	T ₁₄
	Ra/San Lupe	T ₁₅ y T ₁₆

Tab= Tabasco; Chis= Chiapas; Ra= ranchería

A los 16 tratamientos para la identificación macroscópica del género *Trichoderma* spp., se observó a las 24 h, un micelio de color blanco y algodonoso con tonalidades diferentes formando anillos concéntricos de dos a siete, las cepas fueron cambiando de color verde claro a verde intenso a las 48 h, esto se debió a la alta producción de esporas en el micelio, tomando un color final de vino tinto. Estas características concuerdan con lo descrito por Villegas (2005), Rivas y Pavone (2010), y Romero *et al.* (2009).

Para las características microscópicas de las colonias de *Trichoderma* spp., se observó en forma general de las 16 cepas que los conidióforos son hialino, largos, ramificados, no verticilados y en los talos presentan los fiálides individuales o en grupos de dos o tres que nacen en pequeños racimos terminales, las axilas son de 90°, las conidias son hialinas de una sola célula de forma ovoides y algunas rugosas o ásperas (Figuras 3 y 4). Estas características coinciden con Samuels *et*

al. (1999) y Villegas (2005) quienes indican que morfológicamente el hongo *Trichoderma*, sus conidióforos sobresalen para varias especies con un agregado de masa conidial en forma de penachos los cuales son fértiles y presentan brazos cortos con axilas que se proyectan de 90° o 100°, poseen de uno hasta cuatro fiálides que son largos no verticilados y unicelulares en forma de botella, con ramificaciones irregulares que nacen en el centro del talo en formas pequeñas y al final están los conidios del tipo globosas, subglobosas o elipsoidales.

Samuels *et al.* (1999) y Torres-De la Cruz *et al.* (2015) indican que algunas especies tienen la capacidad de producir clamidosporas en sustratos naturales, estructuras de vital importancia para la sobrevivencia del género en el suelo bajo condiciones adversas. Es saprofito del suelo y de la madera y el crecimiento en el suelo es muy rápido.

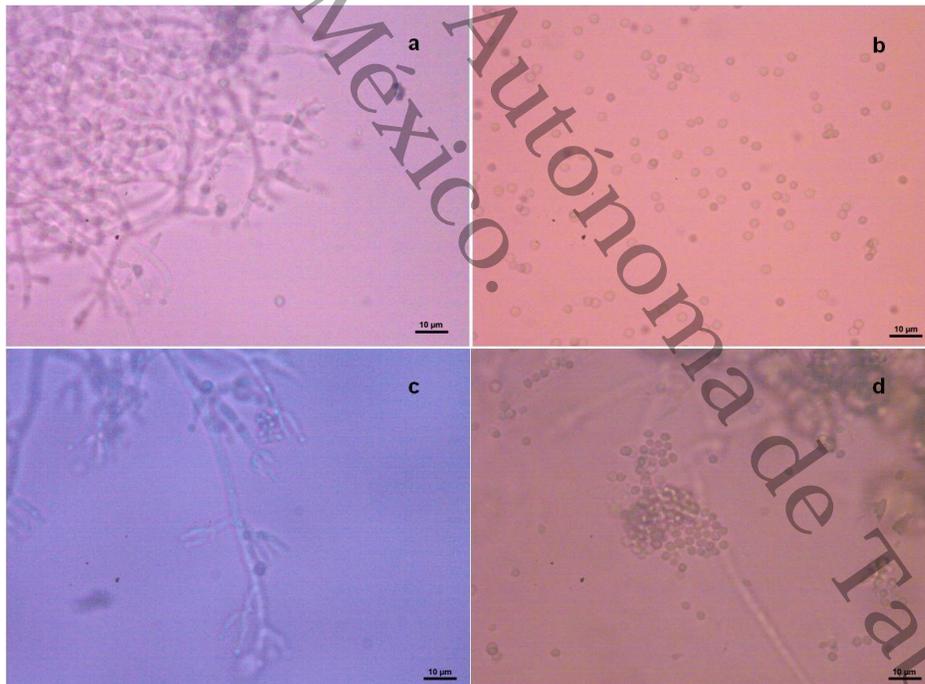


Figura 3. Estructuras microscópicas del género *Trichoderma*; cepa T1: a) conidióforos y fiálides, b) esporas; cepa T2: c) conidióforos y fiálides d) esporas.

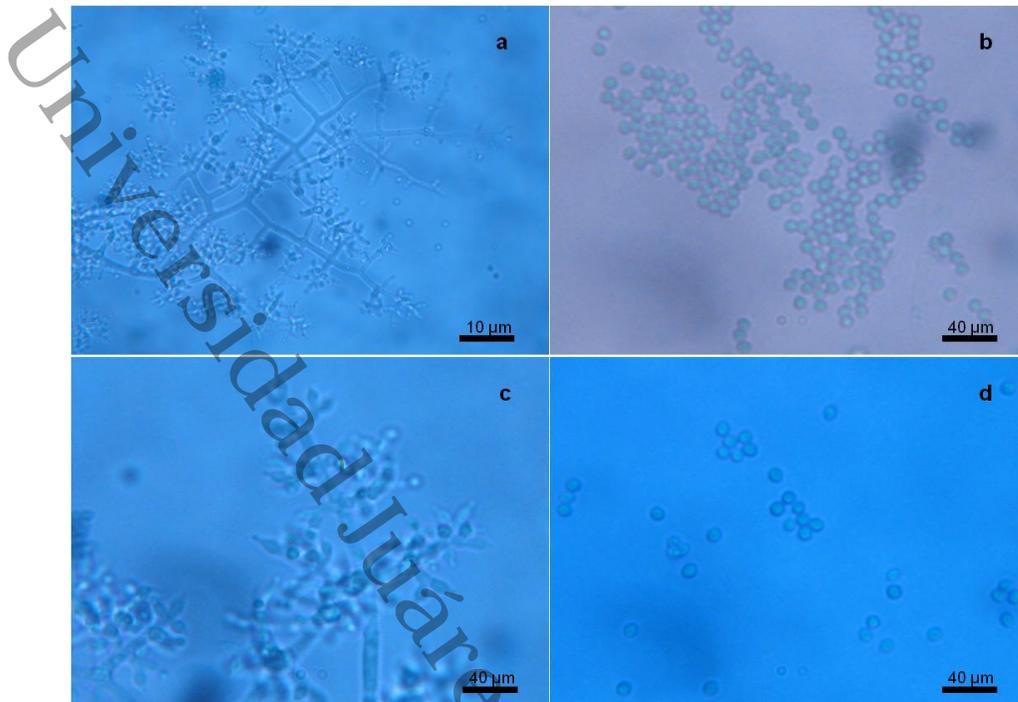


Figura 4. Estructuras microscópicas del género *Trichoderma*; cepa T13: a) conidióforos y fiálides, b) esporas; cepa T14: c) conidióforos y fiálides d) esporas.

5.3. Determinación de tasa de crecimiento

La velocidad de crecimiento de *M. roreri* incubado a 25 °C fue muy lento y con poca esporulación, con un diámetro de 2 mm/día en promedio. El micelio cubrió la totalidad de la caja Petri a los 40 días con 85 mm. Estudios realizados por Gonzales y Roble (2014), encontraron que *M. roreri* presentó un diámetro de crecimiento micelial de 3.22 mm/día de incubación a 27 °C. Por otro lado, Suárez (2006), encontró un diámetro de crecimiento de 3.5 mm/día de incubación a 28 °C. Mientras que el crecimiento de *Trichoderma* varió de 8.17 a 23.5 mm de diámetro a las 24 h y de 38.67 a 65.50 mm a las 48 h, cubriendo en su totalidad la caja Petri a las 72 h (Cuadro 3). Esta característica de lentitud de *M. roreri* resulta de gran ventaja para el uso de hongos antagónicos con velocidades de crecimiento mayor que impida el desarrollo de este patógeno (Suárez, 2006).

El análisis de varianza indicó diferencias significativas para las 24 horas ($F_{cal}= 10.87$; $\alpha= 0.0001$), 48 horas ($F_{cal}= 42.32$; $\alpha= 0.0001$) y 72 horas ($F_{cal}= 147.67$; $\alpha= 0.0001$) de evaluación ver anexo A. A las 24 horas para *Trichoderma* se observó que el aislado T13 presento la media más alta con 23.5 mm de diámetro que corresponde a un incremento de 187.64 % en comparación con el T1 que presentó la media más baja con 8.17 mm. Sin embargo, el T13 fue igual estadísticamente a la mayoría de los tratamientos. Con respecto a *M. roreri* (T17= testigo), obtuvo un crecimiento de 2.50 mm de diámetro, presentando la media mas baja de todos los tratamientos, siendo aún superado por la media mas baja de *Trichoderma* T1 con un incremento de 226.8 % y con 840 % por la media mas alta T13.

Con respecto a la lectura realizada a las 48 horas, se observa una tasa de crecimiento similar a la lectura anterior donde el tratamiento T14 incrementó un 69.38 % con respecto al tratamiento T1 que fue el más bajo con 38.67 mm, mientras que el T13 que presentó la media más alta a las 24 horas, ahora tuvo un incremento de 53.43 % con respecto al T1. En cuanto al tratamiento T17 (Testigo) *M. roreri* sigue presentando la media más baja de todos los tratamientos.

Para la medición realizada a las 72 horas se observa la misma tendencia en cuanto a los tratamientos que mostraron mayor crecimiento a las 24 y 48 horas. Con respecto al fitopatógeno T17 sigue presentando la media más baja de todos los tratamientos con 6.17 mm al tercer día de incubación (Cuadro 3).

Cuadro 3. Tasa de crecimiento de *Trichoderma* y *M. roreri* crecidos en medio de cultivo PDA.

Tratamientos	24 Horas (mm)	48 Horas (mm)	72 Horas (mm)
T1	8.17 cd*	38.67 e	68.33 b
T2	20.33 ab	53.00 bcd	85.00 a
T3	17.17 ab	55.00 bc	85.00 a
T4	18.00 ab	52.67 bcd	85.00 a
T5	18.67 ab	57.83 ab	85.00 a
T6	17.67 ab	57.67 ab	85.00 a
T7	17.33 ab	59.67 ab	85.00 a
T8	9.17 cd	46.00 cde	69.33 b
T9	14.50 bc	44.17 de	73.00 b
T10	19.00 ab	53.50 bcd	85.00 a
T11	17.50 ab	55.83 abc	85.00 a
T12	17.67 ab	56.50 ab	85.00 a
T13	23.50 a	59.33 ab	85.00 a
T14	19.33 ab	65.50 a	85.00 a
T15	14.67 bc	61.83 ab	85.00 a
T16	18.83 ab	61.17 ab	85.00 a
T17 (testigo)	2.50 d	4.83 f	6.17 c

*Letras iguales dentro de las columnas no hay diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre tratamientos.

Michel-Aceves *et al.* (2008), reportan la tasa de crecimiento obtenidas a las 24 horas a una temperatura de $27\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ en PDA valores altos de cepas de *Trichoderma*, entre ellos cuatro *T. longibrachiatum* con 52.3 mm, 51.3 mm, 47.5 mm y 44.3 mm y valores bajos lo presentó una cepa de *T. koningii* (Tk) y dos cepas de *T. harzianum* (Thz), con una tasa de crecimiento de 17.0 mm, 16.3 mm y 6.8 mm, respectivamente.

Estos valores son altos en comparación con las 16 cepas (T1 a T16) del género *Trichoderma* evaluadas a las 24 horas, lo cual podría deberse a factores diferentes en cuanto a temperatura, humedad relativa y que en este caso podrían pertenecer a otras especies.

En la Figura 5 se observan algunas cepas (T1, T4, T9, T13, T14 y T17) representativas del género *Trichoderma* identificadas con las claves taxonómicas antes descritas, las cuales presentaron diferencias significativas. A las 24 horas el crecimiento del micelio fue lento esto puede deberse a su adaptación de temperatura, nutrición y humedad relativa, posteriormente a las 48 horas su crecimiento exponencial fue más rápido, puede deberse a la formación masiva y madurez conidial y a las 72 horas todas las cepas llegaron a su etapa estacionaria llenando completamente la caja Pétri con 85 mm; respecto a la diferencia del testigo T17 (*M. roreri*) tanto las 24, 48 y 72 horas su tasa de crecimiento fue muy lento, lo cual coincide con Villamil *et al.* (2012) y Suárez (2006).

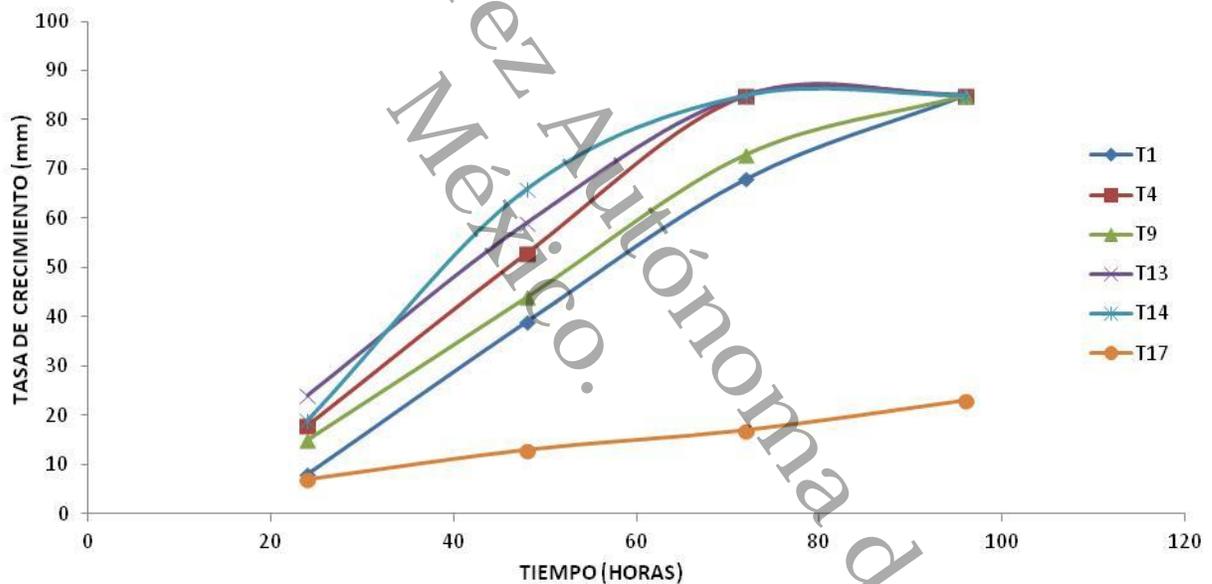


Figura 5. Velocidad de crecimiento de las cepas identificadas morfológicamente como el género *Trichoderma* (T1, T4, T9, T13 y T14) y cepa testigo *M. roreri* (T17).

5.4. Antagonismo de *Trichoderma* contra *M. royeri*

Los resultados del antagonismo de *Trichoderma* contra *M. royeri* presentan un análisis de varianza con diferencias altamente significativas para el tercer día (Fcal= 15.01; α = 0.0001), sexto día (Fcal= 24.40; α = 0.0001) y noveno día (Fcal= 82.98; α = 0.0001) de evaluación ver anexo B. En el Cuadro 4 se presentan el antagonismo donde se reporta que en la primera medición (tercer día) se observó que la mayoría de los aislados de *Trichoderma* presentaron efecto antagónico con un crecimiento del micelio de *M. royeri* que va de 1 a 2 mm; mientras que los aislados que presentaron menor efecto antagónico fueron el T12, T14 y T15. En forma general todos los tratamientos tuvieron un efecto antagónico al disminuir el crecimiento del micelio de *M. royeri*, en comparación con el testigo (T17), que presentó un crecimiento del micelio de 5.17 mm, lo cual indica que los hongos evaluados limitaron en gran medida el crecimiento, mediante parasitismo, competencia, antibiosis, entre otros.

Para la segunda medición (sexto día) se observa un comportamiento similar que en la primera lectura para todos los tratamientos con un crecimiento del micelio del fitopatógeno que va de 2.83 a 4.83 mm, el menor efecto antagónico se presentó el tratamiento T9 con un crecimiento del micelio del fitopatógeno de 6.33 mm. Sin embargo, se observa de manera general para todos los tratamientos un efecto antagónico comparado con el testigo que presentó un crecimiento de 12 mm.

Para la tercera medición (noveno día) se observa una detención del crecimiento del micelio de *M. royeri* debido al efecto antagónico de *Trichoderma*, en la mayoría de los tratamientos, excepto en los T3, T8 y T9 que permitieron un crecimiento aproximado de 1 mm en comparación con la lectura anterior.

Cuadro 4. Antagonismo de *Trichoderma* contra *Moniliophthora roreri* en medio de cultivo PDA.

Tratamientos	Día 3 (mm)	Día 6 (mm)	Día 9 (mm)
T1	1.00 d*	2.67 c	2.67 d
T2	1.83 bcd	3.33 c	3.33 cd
T3	1.00 d	3.50 c	4.67 c
T4	2.00 bcd	4.50 bc	4.50 cd
T5	1.50 bcd	4.17 bc	4.17 cd
T6	1.50 bcd	4.00 c	4.00 cd
T7	1.17 cd	3.50 c	3.50 cd
T8	1.17 cd	4.17 bc	5.17 c
T9	1.83 bcd	6.33 b	7.67 b
T10	1.00 d	3.67 c	3.67 cd
T11	1.00 d	3.83 c	3.83 cd
T12	2.67 b	4.33 bc	4.33 cd
T13	2.00 bcd	4.33 bc	4.33 cd
T14	2.50 bc	4.17 bc	4.17 cd
T15	2.67 b	4.83 bc	4.83 c
T16	2.00 bcd	3.67 c	3.67 cd
T17 (Testigo)	5.17 a	12.00 a	17.67 a

*Letras iguales dentro de las columnas no hay diferencias significativas ($\alpha=0.05$) entre tratamientos.

Las 16 cepas identificadas como el género *Trichoderma* mostraron su gran potencial antagónico sobre el crecimiento micelial al compartir un sustrato común (PDA) con las cepas del hongo fitopatógeno *M. roreri* (T17) ver Figura 6. Esto demuestra la capacidad antagónica de estos aislados que al sexto día de incubación el hongo fitopatógeno *M. roreri* había dejado de crecer mientras que el hongo antagonista continuaba creciendo hasta invadirlo totalmente, Suárez y Rangel (2013) indican que esto se debe a la manifestación microscópica de los procesos de micoparasitismo. Suárez y Cabrales (2008) afirman que la mayoría de las especies de *Trichoderma* tienen un buen micoparasitismo capaz de detectar su hospedante a distancia y posteriormente comienza su ramificación de forma atípica hacia el hongo fitopatógeno y secreta sustancias (enzimas hidrolíticas, metabólicas antifúngicos), quien además debe iniciar su competencia por espacio y nutrientes.

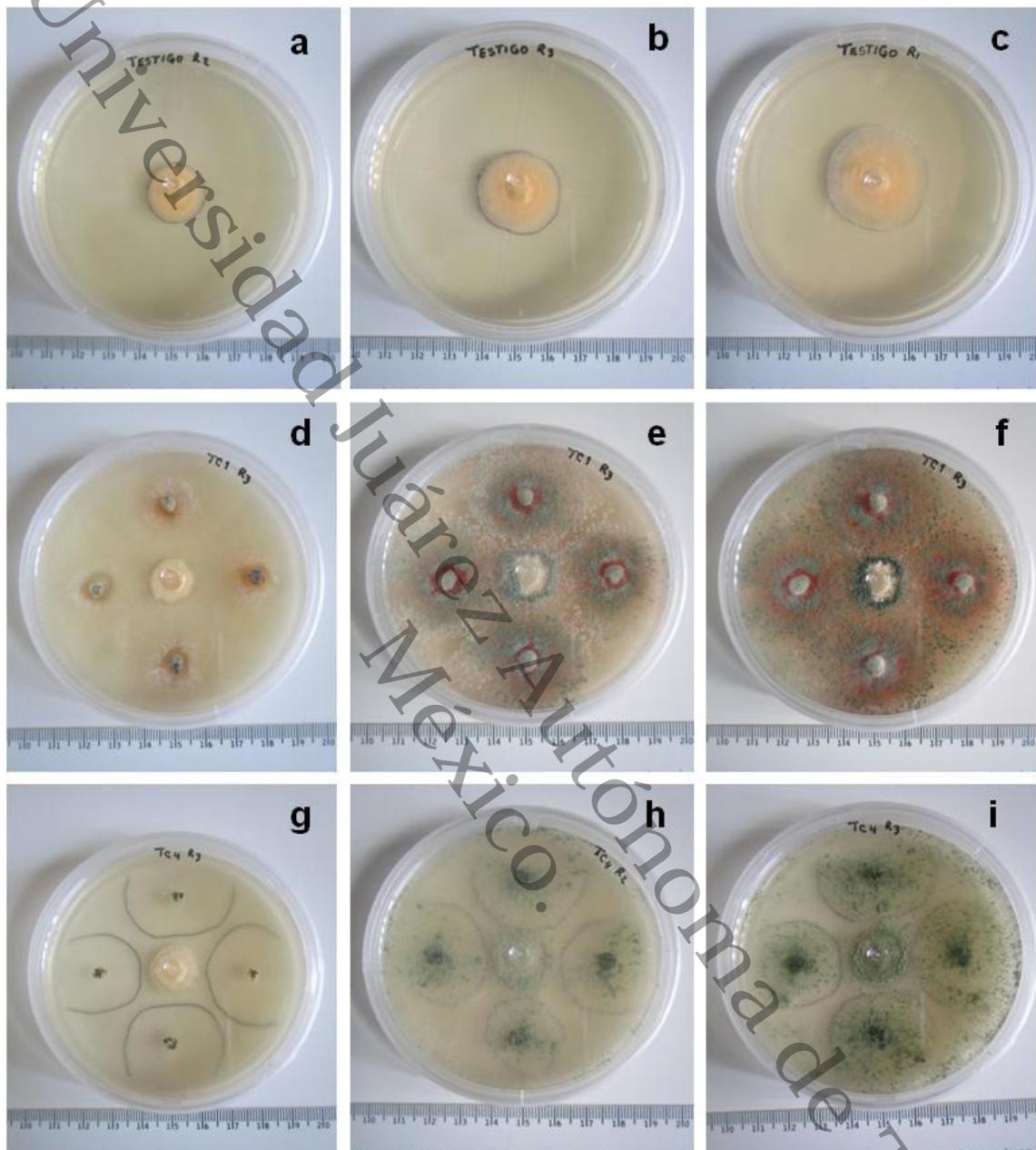


Figura 6. Antagonismo de *Trichoderma* contra *M. royeri*: cepa T17 (a=3, b=6 y c=9 días), cepa T1 con T17 (d=3 días, e=6 días y f=9 días) y cepa T4 con T17 (g=3, h=6 e i=9 días).

5.5. Porcentaje de Inhibición de Crecimiento del Micelio (PICM) de *M. royeri* por *Trichoderma*

En el Cuadro 5 se presentan el porcentaje de inhibición de crecimiento del micelio de *M. royeri* por *Trichoderma*, los cuales mostraron valores superior a 92%, excepto el T9 que obtuvo un PICM de 89.33%. El valor más alto lo obtuvo el T1 con 96.29 % teniendo una diferencia de 6.96 % con respecto al tratamiento que presento el valor más bajo. Con base a estos resultados se deduce que el hongo *Trichoderma* tiene un efecto inhibitorio *in vitro* frente al fitopatógeno *M. royeri* lo cual puede considerarse como un agente promisorio en el control biológico de este fitopatógeno (Figura 7). Suárez y Cabrales (2008) describe que el antagonista es producto de sustancias con capacidad para interferir en procesos como la germinación, la producción de esporas y el crecimiento micelial de hongos fitopatógenos.

Cuadro 5. Porcentaje de inhibición de crecimiento del micelio de *M. royeri* por *Trichoderma*.

Municipio	Tratamientos	% de inhibición
Comalcalco, Tab.	T1+M	96.29
	T2+M	95.36
	T3+M	93.50
	T4+M	93.74
Cárdenas, Tab.	T5+M	94.20
	T6+M	94.43
	T7+M	95.13
	T8+M	92.81
Cunduacán, Tab.	T9+M	89.33
	T10+M	94.90
	T11+M	94.66
	T12+M	93.97
	T13+M	93.97
Ostuacán, Chis.	T14+M	94.20
	T15+M	93.27
	T16+M	94.90

Por otro lado, Suárez y Rangel (2013) observaron las interacciones entre antagonistas y fitopatógenos en los puntos de contacto de las colonias, siendo posible distinguir las estructuras de antagonistas entre ellos. En la mayoría presentaron deformación de esporas y conidias, estrangulamiento y lisis de las hifas y micelio por los tratamientos de *Trichoderma* contra *M. royeri*. El antagonista inhibitorio de crecimiento radial que pueden ser hongos o bacterias varios autores confirman su capacidad que tienen en la producción de varios antibióticos y la antibiosis como su principal mecanismo de acción por ejemplo, Corrales *et al.* (2010) indican que *Bacillus brevis* produce péptidos extracelulares antagónicos que inducen a la hinchazón del citoplasma de las células que conforman las hifas, así como la formación de las células vegetativas del hongo. Existen otros microorganismos que se caracterizan por producir amilasas, proteasas y antibióticas como el Megacin, además de otras sustancias antagónicas que ayudan al control de patógenos de plantas.

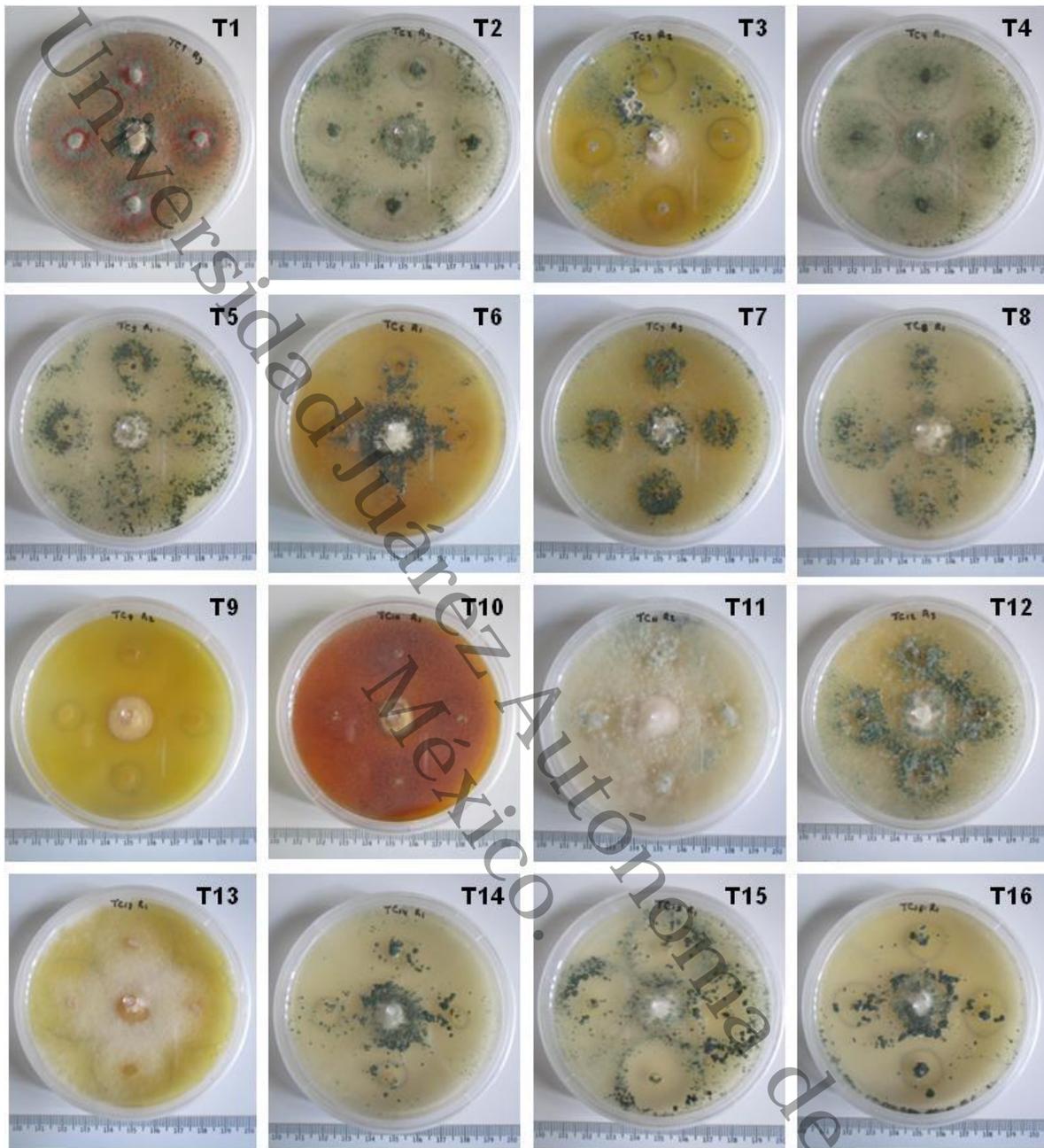


Figura 7. Porcentaje de inhibición de crecimiento del micelio (PICM) de las 16 cepas identificadas como género *Trichoderma* contra *M. roreri* (T17).

VI. CONCLUSIONES

La tasa de crecimiento de *Trichoderma* osciló de 8.17 a 23.50 mm día⁻¹, mientras que la tasa de crecimiento de *M. roreri* fue de 2 mm día⁻¹ en promedio. Esta característica de lentitud de *M. roreri* resulta de gran ventaja para el uso del género *Trichoderma* como hongo antagonico.

El Porcentaje de Inhibición de Crecimiento del Micelio (PICM) de *M. roreri* fue de 92 % en los 16 aislamientos de *Trichoderma*.

En los sistemas agroforestales cacaotales existen microorganismos nativos como hongos del género *Trichoderma* que pueden ser utilizados como biocontroladores de *M. roreri* al mostrar su capacidad de antagonismo *in vitro*.

Universidad Juárez Autónoma de Tabasco.
México.

VII. BIBLIOGRAFIA

- Agrios, G.N. 1995.** Fitopatología. 2da edición. Limusa. México D.F. 838 p.
- Aime, M.C. and Phillips-Mora, W. 2005.** The causal agents of witches' broom and frosty pod rot of cacao (chocolate, *Theobroma cacao*) form a new lineage of Marasmiaceae. *Mycologia*, 97(5): 1012-1022.
- Antele, G.J.B. 2015.** Levantamiento nutrimental de los suelos y bioquímicas de la mazorca (*Theobroma cacao* L.) en los sistemas agroforestales-cacaotales. Tesis de licenciatura. DACA-UJAT. Villahermosa, Tabasco, México. 50 p.
- Avendaño, A.C.H., Villarreal, F.J.M., Campos, R.E., Gallardo, M.R.A., Mendoza, L.A., Aguirre, M.J.F., Sandoval, E.A. y Espinosa, Z.S. 2011.** Diagnóstico del cacao en México. 1ra edición. ISBN: 978-607-12-0219-2. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México. 80 p.
- Bateman, R., Hidalgo, E., García, J., Arrollo, G., Hooper, G. Adonijah, V. and Krauss, U. 2005.** Application of chemical and biological agents for the management of frosty pod rot (*Moniliophthora roreri*) in Costa Rica cacao (*Theobroma cacao*). *Annals of Applied Biology*, 147: 129-138.
- Beer, J. 1999.** *Theobroma cacao*: un cultivo agroforestal. *Agroforestería en las Américas*, 6(22):4.
- Bissett, J. 1991.** A revision of the genus *Trichoderma* spp. Infrageneric classification. *Canadian Journal of Botany*, 69: 2357-2372.
- Corrales, L.C., Sánchez, L.C., Cuervo, J., Bautista, D., Gonzales, L. y Guevara, M. 2010.** Evaluación del efecto biocontrolador de *Bacillus* spp. frente a *Fusarium* spp., bajo condiciones de invernadero en *Rosmarinus officinalis* L. *Ciencias Biomédicas*, 8(13): 71-72.
- Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T. 1993.** Compendium of soil fungi. IHV-Verlag. 859 p.
- Esparza, L.L.L. 2009.** Efectividad *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en aislados de *Phytophthora parasitica* D. obtenidos de plantas de Jamaica. Instituto de Enseñanza e Investigación en Ciencias Agrícolas. Tesis, maestro en ciencias. Montecillo, Texcoco, estado de México. 69 p.

- Evans, H.C. 1981.** Pod rot of cacao caused by *Moniliophthora* (*Monilia*) *roreri*. ISBN: 0-81598-484-3. Phytopathological Papers. 44 p. <http://www.cabdirect.org/abstracts/19811373782.html>; consulta: agosto 2014.
- Evans, H.C., Stalpers, J.A., Samson, R.A. y Benny, G.L. 1978.** On the taxonomy of *Monilia roreri*, an important pathogen of *Theobroma cacao* in South América. Canadian Journal of Botany, 56: 2528-2532.
- 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(2): 149-160.
- FAO, 2010.** Calidad de los alimentos vinculados con el origen y las tradiciones en América Latina. Guayaquil, Ecuador. 50 p. <http://www.fao.org/fileadmin/templates/olq/documents/Ecuador/ppp/taller%20nacional%20ecuador/2DiagnosticoCadenaCacaoSergioPino.pdf>; consulta: septiembre 2014.
- FEDECACAO. 2010.** Generalidades del cacao. <http://www.fedecacao.com.co/cw/ca/eventos/2011-monilia/com/fedecacao-generalidades-cultivo-cacao.pdf>; consulta: septiembre 2014.
- Gonzalez, F.A.B. y Roble O.A.D. 2014.** Aislamiento y caracterización del hongo *Moniliophthora roreri* (*monilia*) en frutos de *Theobroma cacao* L. (cacao) del cultivar San José del Real de la carretera, Usulután. Tesis de licenciatura. Universidad el Salvador-Facultad de Química y Farmacia. San Salvador, el Salvador. 193 p.
- Guiracocha, G., Harvey, C., Somarriba, E., Krauss, U. y Carrillo, E. 2001.** Conservación de la biodiversidad en sistemas agroforestales con cacao y banano en Talamanca, Costa Rica. Agroforestería en las Américas, 8(30): 7-11.
- Hidalgo, A. 1989.** Comparación de dos métodos para la selección de aislamientos de *Trichoderma* para el combate biológico de *Fusarium* y *Rhizoctonia* en

- clavel. Tesis licenciatura. San José, Costa Rica. Universidad de Costa Rica. 89 p.
- Jaimes, S.Y. y Aranzazu, H.F. 2010.** Manejo de las enfermedades del cacao (*Theobroma cacao* L.) en Colombia, con énfasis en monilia (*Moniliophthora roreri*). 1° edición. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria, CORPOICA. La Suiza, Colombia. 90 p.
- Krauss, U. y Soberanis, W. 2003.** Biological control of frosty pod (*Moniliophthora roreri*) and other pod pathogens in Peru. In: 13° Conferencia Internacional de Investigación en Cacao. 741-748 p.
- López, B.O., González, M.O., Lee, R.V., Alvarado, G.A., Ramírez, G.S.I., Ramírez, G.M., Méndez, R.J.L. y Gehrke, V.M. 2006.** Diagnóstico y técnicas para el manejo de la moniliasis del cacao. Universidad Autónoma de Chiapas. Facultad de Ciencias Agrícolas. Huehuetán, Chiapas, México. Campus IV. 40 p.
- López, M.R. 1987.** El cacao en Tabasco. Primera edición. Serie Agronomía n°13. Universidad Autónoma Chapingo. 287 p.
- López, R. 1954.** Fisiología de la germinación de esporas de *Monilia* sp. Cacao en Colombia, 3: 183-207.
- Mendieta, L.M. y Rocha, M.L.R. 2007.** Sistemas agroforestales. Universidad agraria. Managua, Nicaragua. 117 p.
- Michel-Aceves, A.C., Otero, S.M.A., Martínez, R.R.D., Ariza, F.R., Barrios, A.A. y Rebolledo, M.A. 2008.** Control biológico *in vitro* de enfermedades fungosas en tomate *Lycopersicon esculentum* Mill. Avances en investigación agropecuaria, 12(3): 55-68.
- Ogata, N. 2007.** El Cacao. Biodiversitas, 72: 1-5.
- Palma-López, D.J. y Cisneros, D.J. 2000.** Plan de uso sustentable de los suelos de Tabasco. 2da edición. ISPROTAB-FUNDACIÓN PRODUCE TABASCO-COLEGIO DE POSGRADUADOS. Villahermosa, Tabasco, México. 145 p.
- Palomeque, F.E. 2009.** Sistemas agroforestales. Huehuetán, Chiapas, México. 29 p. epalomeque_4@hotmail.com; epalomeque4@gmail.com; consulta: octubre 2014.

- Phillips-Mora, W. y Cerda, R. 2009.** Catálogo: enfermedades del cacao en Centroamérica. 1° edición. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza, CATIE. Turrialba, Costa, Rica. 24 p.
- Phillips-Mora, W., Coutiño, A., Ortiz, C.F., López, A.P., Hernández, J. and Aime, M.C. 2006.** First report of *Moniliophthora roreri* causing frosty pod rot (moniliasis disease) of cocoa in México. Plant pathology, 55: 584.
- Rivas, C.M. y Pavone, M.D. 2010.** Diversidad de *Trichoderma* spp. en plantaciones de *Theobroma cacao* L. del estado Carabobo, Venezuela, y su capacidad biocontroladora sobre *Crinipellis pernicioso* (Stahel) Singer. Interciencia, 35(10): 777-783.
- Romero, A.O., Huerta, L.M., Damian, H.M.A., Dominguez, H.F. y Arellano, V.D.A. 2009.** Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. Revista Colombiana de Biotecnología, 11(2): 143-151.
- SAGARPA, 2014.** Sistema producto cacao. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación (SAGARPA). <http://www.sagarpa.gob.mx/Paginas/default.aspx>; consulta: octubre 2014
- Samuel, G.J., Lieckfeldt, E. y Nirenberg, H.I. 1999.** *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. Sydowia, 51(1): 71-88.
- Suárez, C.L.Y. 2006.** Aislamiento e identificación de *Moniliophthora roreri* causante de la moniliasis en municipios del Nororiente Colombiano y ensayos preliminares para su control biológico. Revista Respuestas, 11(1): 3-8.
- Suárez, C.L.Y. y Rangel, R.A.L. 2013.** Aislamiento de microorganismos para control biológico de *Moniliophthora roreri*. Acta Agronómica, 62(4): 370-378.
- Suárez, L.Y. y Cabrales, C.P. 2008.** Identificación de especies de cepas nativas de *Trichoderma* sp. y evaluación de su potencial antagonista *in vitro* frente al hongo fitopatógeno nativo *Moniliophthora roreri* en el departamento de Norte de Santander. Revista Respuestas, 13(1): 45-56.

- Thurston, H.D. 1989.** Enfermedades de cultivos en el Trópico. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). Programa de Mejoramiento de Cultivos Tropicales. Turrialba, Costa Rica. 144-151 pp.
- Torres-De la Cruz, M., Ortiz, G.C.F., Bautista, M.C., Ramírez, P.J.A., Ávalos, C.N., Cappello, G.S. y De la Cruz, P.A. 2015.** Diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. Revista Mexicana de Biodiversidad, 86: 947-961.
- Villamil, C.J.E., Blanco, V.J.E. y Viteri, R.S.E. 2012.** Evaluación *in vitro* de microorganismos nativos por su antagonismo contra *Moniliophthora roreri* Cif & Par en cacao (*Theobroma cacao* L.). Revista Facultad de Agronomía Medellín, 65(1): 6305-6315.
- Villegas, M. 2005.** Características generales de *Trichoderma* y su potencial biológico en la agricultura sostenible. <http://www.oriusbiotecnologia.com/escritos-tecnicos/128-trichoderma-pers-caracteristicas-generales-y-su-potencial-biologico-en-la-agricultura-sostenible>; consulta: octubre 2014.
- Vinale, F., Sivasithanparam, K., Ghisalberti, E.L., Marra, R., Woo, S.L. y Lorito, M. 2008.** *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. Soil Biology & Biochemistry, 40: 1-10.

VIII. ANEXOS

A) Análisis de varianza de tasa de crecimiento de *Trichoderma* y *M. royeri*

24 Horas

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	16	976.313725	61.019608	10.87	<.0001
ERROR	34	190.833333	5.612745		
TOTAL	50	1167.147059			
		R-Square	Coeff Var	Root MSE	vd Mean
		0.836496	14.48744	2.369123	16.35294

48 Horas

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	16	7186.352941	449.147059	42.32	<.0001
ERROR	34	360.833333	10.612745		
TOTAL	50	7547.186275			
		R-Square	Coeff Var	Root MSE	vd Mean
		0.952190	6.214467	3.257721	52.42157

72 Horas

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	16	13585.50980	849.09436	147.67	<.0001
ERROR	34	195.500000	5.750000		
TOTAL	50	13781.00980			
		R-Square	Coeff Var	Root MSE	vd Mean
		0.985814	3.058490	2.397916	78.40196

B) Análisis de varianza de antagonismo de *Trichoderma* contra *M. royeri*

Día 3					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	16	53.186274	3.324142	4.52	<.0001
ERROR	34	25.000000	0.735294		
TOTAL	50	78.186274			
		R-Square	Coeff Var	Root MSE	vd Mean
		0.680251	5.621098	0.857493	15.25490

Día 6					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	16	195.686274	12.230392	9.11	<.0001
ERROR	34	45.666667	1.343137		
TOTAL	50	241.352941			
		R-Square	Coeff Var	Root MSE	vd Mean
		0.810789	6.470261	1.158938	17.91176

Día 9					
FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	16	544.627451	34.039216	28.58	<.0001
ERROR	34	40.500000	1.191176		
TOTAL	50	585.127451			
		R-Square	Coeff Var	Root MSE	vd Mean
		0.930784	5.915189	1.091410	18.45098

Efecto antagónico in vitro de cepas de Trichoderma spp., obtenidos en sistemas agroforestales cacaotales para el control de Moniliophthora roreri.

INFORME DE ORIGINALIDAD

19%

ÍNDICE DE SIMILITUD

FUENTES PRIMARIAS

1	www.revista.ccba.uady.mx Internet	454 palabras — 5%
2	www.coursehero.com Internet	178 palabras — 2%
3	www.scribd.com Internet	159 palabras — 2%
4	www.scielo.org.co Internet	124 palabras — 1%
5	colposdigital.colpos.mx:8080 Internet	109 palabras — 1%
6	docplayer.es Internet	107 palabras — 1%
7	dapa.ciat.cgiar.org Internet	94 palabras — 1%
8	doczz.es Internet	72 palabras — 1%
9	www.researchgate.net Internet	63 palabras — 1%
10	silo.tips Internet	58 palabras — 1%
11	core.ac.uk	

Internet

46 palabras — < 1%

12 myslide.es
Internet

44 palabras — < 1%

13 repositorio.unesum.edu.ec
Internet

38 palabras — < 1%

14 www.archivos.ujat.mx
Internet

34 palabras — < 1%

15 documents.mx
Internet

32 palabras — < 1%

16 repositorio.utn.edu.ec
Internet

30 palabras — < 1%

17 www.redalyc.org
Internet

27 palabras — < 1%

18 www.ruta.org
Internet

24 palabras — < 1%

19 es.slideshare.net
Internet

23 palabras — < 1%

20 fdocuments.in
Internet

23 palabras — < 1%

21 hdl.handle.net
Internet

23 palabras — < 1%

22 cortolima.gov.co
Internet

21 palabras — < 1%

EXCLUIR CITAS

ACTIVADO

EXCLUIR FUENTES

DESACTIVADO

EXCLUIR BIBLIOGRAFÍA

ACTIVADO

EXCLUIR COINCIDENCIAS < 20 PALABRAS