

**ANTAGONISMO DE LAS ESPECIES DE *Trichoderma* PRESENTES
EN LA COMARCA LAGUNERA CONTRA *Fusarium oxysporum*
SCHLECHTEND.: fr. f. sp. *lycopersici* (SACC.) SNYDER Y H. N.
HANSEN Y *Verticillium dahliae* K.**

DANTE ROMAN ARCE JARDON

T E S I S

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE:**

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA DIRECCIÓN DE
POSTGRADO**

Asesor: Ph. D. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ

Torreón, Coahuila, México. Diciembre del 2007

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO

DIRECCIÓN DE POSTGRADO

**ANTAGONISMO DE LAS ESPECIES DE *Trichoderma* PRESENTES
EN LA COMARCA LAGUNERA CONTRA *Fusarium oxysporum*
SCHLECHTEND.: fr. f. sp. *lycopersici* (SACC.) SNYDER Y H. N.
HANSEN Y *Verticillium dahliae* K.**

TESIS

POR

DANTE ROMAN ARCE JARDON

Elaborada bajo la supervisión del comité particular de asesoría y aprobada
como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

Asesor principal




Asesor _____ **Ph. D. Vicente Hernández Hernández**
Dr. Arturo Palomo Gil

Asesor



_____ **Ph. D. Vicente De Paúl Álvarez Reyna**



_____ **Dr. Jerónimo Landeros Flores**
Director de Postgrado



_____ **M. C. Gerardo Arellano Rodríguez**
Jefe del Departamento de Postgrado

Torreón, Coah. México. Diciembre de 2007

DEDICATORIA

A mi Dios Padre

Quien no me deja solo en los momentos más difíciles de mi vida, estando a mi lado en todo momento y por permitirme llegar a culminar otra meta más *en* mi vida.

A mi esposa M^a Yolanda

Por su gran amor, su gran confianza, apoyo y comprensión, la cual me a dado fuerzas para seguir a delante, cumplir todo lo que me proponga en el paso de mi vida ya que gracias a ella tengo lo que tengo y soy lo que soy gracias mi amor.

A mis hijas

Ingrid Itzel y Arlette Airam que son mis fortalezas para seguir siempre adelante y nunca rendirme ante nada en el transcurso de mi vida.

A mis padres

Isabel e Salvador, por todos sus esfuerzos y sacrificios que realizaron para heredarme lo que ellos más anhelaron para mi una, profesión, así mismo por su apoyo incondicional en todas las etapas de mi vida. Gracias

A mis hermanos

Luís y Víctor por el cariño y el amor que nos enlaza, y por todo el apoyo que me han brindado en toda mi vida.

A mis abuelos

Luís Jardón Sandoval (Q.P.D.) y Petra Gonzaga Franco (Q.P.D.) por todo su amor que me brindaron en vida. Dios me los tenga en su santa gloria. Así como también a Susana Manrique por su apoyo, comprensión y cariño que ha brindado.

A mis Tíos (as)

Silvestre (Q.P.D), Ramón (Q.P.D), Arturo, Magdalena, Irene y Socorro, por esos momentos inolvidables que pasamos juntos. A mis Primos (as) Por toda su confianza, comprensión y cariño que siempre me han demostrado.

A mis suegros por brindarme su amistad, apoyo y confianza. A

mis cuñados (as) por brindarme su amistad y apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS. Por darme, sabiduría, paciencia y fuerzas en mi vida para salir adelante, pero sobre todo la oportunidad de vivir.

A MI ALMA MATER. Por adoptarme, criarme y enseñarme dentro de sus aulas y con sus profesores, los cuales siempre estarán presentes en mi vida. "GRACIAS"

A CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA por otorgarme la facilidad de seguir enriqueciendo mis conocimientos.

A MI ASESOR Ph. D. Vicente Hernández Hernández, por brindarme confianza y apoyo.

A los integrantes del comité revisor: Ph. D. Vicente Hernández Hernández, Ph. D. Vicente De Paúl Álvarez Reyna y al Dr. Arturo Palomo Gil, quienes con su ayuda afinaron el presente trabajo con sus sugerencias y correcciones.

AL Dr. Jerónimo Landeros Flores por brindarme su confianza, amistad y apoyo.

AL M.C. Gerardo Arellano Rodríguez, Por su gran amistad y apoyo durante el todo tiempo de la realización de mi postgrado.

A MIS AMIGOS Y COMPAÑEROS DE POSTGRADO, por su amistad y compañía brindada en el transcurso de mis estudios de postgrado: Rosy, Oralia, Norma, Lili, Esther, Edson, Eduardo, Andrio, Tóala, Zermeño, Luna, Cesar, Ogaz y Chain.

A TODOS MIS MAESTROS por su valioso tiempo que invirtieron en mí, y sus valiosos conocimientos que me brindaron en esta etapa de mi vida.

A TODOS USTEDES MUCHAS GRACIAS.

COMPENDIO

ANTAGONISMO DE LAS ESPECIES DE *Trichoderma* PRESENTES EN LA COMARCA LAGUNERA CONTRA *Fusarium oxysporum* SCHLECHTEND.: fr. f. sp. *lycopersici* (SACC.) SNYDER Y H. N. HANSEN Y *Verticillium dahliae* K.

POR
DANTE ROMAN ARCE JARDON

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS EN PRODUCCIÓN
AGRÍCOLA

Torreón, Coahuila, Diciembre del 2007

Ph.D. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ- Asesor

Palabras clave: Control biológico, *Trichoderma*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*,
Verticillium dahliae

Trichoderma spp es un hongo habitante natural del suelo que puede vivir como saprofito o como parásito sobre otros hongos. La presente investigación consistió en identificar y evaluar el efecto antagónico de cepas de *Trichoderma* spp nativas de la Comarca Lagunera frente a cepas de *Fusarium oxysporum* f.

sp. *lycopersici* y *Verticillium dahliae*, fitopatógenos causantes de marchitez vascular en el cultivo de tomate. Se muestrearon 12 huertos nogaleros localizados en la Comarca Lagunera, obteniendo 86 muestras de las cuales se aislaron 45 cepas de *Trichoderma* spp de las que se seleccionaron 12 para la identificación morfológica con ayuda de claves taxonómicas y su evaluación como antagonistas, mediante enfrentamientos duales en laboratorio frente a los fitopatógenos. También se realizaron evaluaciones en macetas con arena infestada con los fitopatógenos por separados e inoculada con *Trichoderma*; colocadas bajo malla sombra 75%. Se evaluaron los 12 aislamientos y un testigo, con cuatro repeticiones, utilizando plantas de tomate para evaluar la actividad antagónica de *Trichoderma*. Los aislamientos fueron identificados como *T. harzianum*, *T. koningii* y *T. pseudokoningii*, obteniendo en mayor proporción la especie *T. harzianum*. Las 3 especies de *Trichoderma* mostraron actividad inhibitoria en el control de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* tanto en las pruebas *in vitro* como en maceta. En el control de *V. dahliae* las especies mostraron ser poco agresivas.

ABSTRACT

ANTAGONISM OF *Trichoderma* SPECIES FROM THE COMARCA LAGUNERA AGAINST *Fusarium oxysporum* SCHLECHTEND.: fr. f. sp. *lycopersici* (SACC.) SNYDER AND H. N. HANSEN AND *Verticillium dahliae* K.

BY

DANTE ROMAN ARCE JARDON

MASTER SCIENCE
AGRONOMIC PRODUCTIONUNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

TORREÓN, COAHUILA, DECEMBER OF 2007

Ph. D. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ -Advisor

Key words: Biological control, *Trichoderma* spp, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Verticillium dahliae*

Trichoderma spp is a soilborne fungus living as a saprophyte or as a parasitic on other fungí. This research consisted on: identificación of *Trichoderma* spp native of the Comarca Lagunera, and evaluation of their antagonistic effect against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* and *Verticillium*

dahliae, plant pathogens causing vascular wilt of tomato. Sampling was made on 12 orchards planted to pecan trees, obtaining 86 samples from which 45 strains of *Trichoderma* were isolated. Morphological identification by taxonomic keys and evaluation as antagonists by dual confrontation against the plant pathogens was made for 12 selected strains. Evaluations were also made on pots infested separately with the plants pathogens and with *Trichoderma* under a mesh with 75% shadow. The 12 isolates and a control with four replications were tested, utilizing tomato plants to evaluate the antagonistic activity of *Trichoderma*. The isolates were identified as *T. harzianum*, *T. koningii* and *T. pseudokoningii*, predominating the species *T. harzianum*. The three species of *Trichoderma* had antagonistic activity against *F. oxysporum* f. sp. *licopersici* *in vitro* as in pots. Against *V. dahliae*, the antagonism of the species was low.

INDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos	2
1.2 Hipótesis	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Pérdidas causadas por organismos dañinos	3
2.2 El control químico de las enfermedades de plantas	3
2.3 El control biológico de las enfermedades de las plantas	5
2.4 <i>Trichoderma</i> como agente de control biológico	6
2.4.1 El género <i>Trichoderma</i>	9
2.4.2 Características ecológicas de <i>Trichoderma</i>	10
2.5 Mecanismos de control biológico de <i>Trichoderma</i>	12
2.5.1 Estimulación de los mecanismos de defensa de las plantas (resistencia inducida)	13
2.5.2 Inactivación de los sistemas de ataque del patógeno	14
2.5.3 Competencia por los nutrimentos y espacio	15
2.5.4 Antibiosis	16
2.5.5 Micoparasitismo	17
2.6 Marchitamiento vascular causado por patógenos del suelo	20
2.6.1 Marchitamiento vascular	20
2.6.2 Géneros que producen marchitamiento	21
2.7 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	23
2.7.1 Distribución y rango de hospedantes	23
2.7.2 Sintomatología	23
2.7.3 Desarrollo de la enfermedad	24
2.7.4 Ubicación taxonómica y morfología	24
2.7.5 Medidas de control	25
2.7.6 <i>Trichoderma</i> spp contra <i>Fusarium</i> spp	26
2.8 <i>Verticillium dahliae</i>	27
2.8.1 Distribución y rango de hospedantes	27
2.8.2 Sintomatología	27
2.8.3 Ubicación taxonómica y morfología	28
2.8.4 Medidas de control	30
3. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1 Localización del área de estudio	31
3.2 Aislamiento de especies de <i>Trichoderma</i>	31
3.2.1 Sitios de muestreo	31
3.2.2 Aislamientos de <i>Trichoderma</i> spp	32
3.2.3 Purificación y conservación de aislamientos de <i>Trichoderma</i> spp.	32
3.2.4 Selección de especies de <i>Trichoderma</i>	33
3.2.5 Identificación de las especies de <i>Trichoderma</i>	33
3.3 Prueba <i>in vitro</i>	33
3.4 Prueba en invernadero	35
3.4.1 Ubicación del experimento	35
3.4.2 Preparación del inoculo de <i>Trichoderma</i>	35
3.4.3 Preparación del inoculo de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> y de <i>V. dahliae</i> .	36
3.4.4 Preparación del material vegetal	36

3.4.5 Aplicación de los microorganismos	37
3.4.6 Siembra en macetas	37
3.4.7 Selección de aislamientos de <i>Trichoderma</i>	37
3.4.8 Diseño experimental	38
3.4.9 Evaluación 4.	38
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
4.1 Aislamientos de especies nativas de <i>Trichoderma</i>	39
4.2 Identificación de las especies de <i>Trichoderma</i>	40
4.3 Prueba <i>in vitro</i>	41
4.3.1 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i>	41
4.3.2 <i>Verticillium dahliae</i>	42
4.4 Prueba en invernadero	44
4.4.1 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. lycopersici	44
4.4.1.1 Plantas sanas	44
4.4.1.2 Longitud de tallo	45
4.4.1.3 Peso total de planta y longitud de raíz	46
4.4.2 <i>Verticillium dahliae</i>	48
4.4.2.1 Plantas sanas	48
4.4.2.2 Longitud de tallo	48
4.4.2.3 Peso total de planta y longitud de raíz	49
CONCLUSIONES 6.	52
RESUMEN	53
6. LITERATURA CITADA	54
7. APÉNDICE A	62

INDICE DE CUADROS

- Cuadro 1. Ejemplos de aislados de *Trichoderma* usados en experimentos de control biológico contra fitopatógenos. 7
- Cuadro 2. Productos a base de *Trichoderma* registrados y comercializados como agentes de control biológico. 8
- Cuadro 3. Ubicación de los sitios de muestreo de *Trichoderma*. UAAAN-UL Torreón, Coah. 2006. 31
- Cuadro 4. Aislamientos de *Trichoderma* seleccionados para su evaluación. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007. 38
- Cuadro 5. Aislados de *Trichoderma* spp obtenidos por sitio de muestreo. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007. 39
- Cuadro 6. Especies de *Trichoderma* seleccionadas para éste estudio. UAAAN-UL Torreón, Coah., 2007. 40
- Cuadro 7. Diámetro de las colonias de *Trichoderma* spp en cultivos duales frente a *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, a las 48 y 72 horas. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007. 41
- Cuadro 8. Diámetro de las colonias de *Trichoderma* spp en cultivos duales frente a *Verticillium dahliae*. Lecturas a las 48 y 72 horas. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007. 42
- Cuadro 9. Semillas germinadas y plantas enfermas y sanas en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007. 44
- Cuadro 10. Efecto de *Trichoderma* sobre las plantas sobrevivientes de tomate sembradas en medio infestado con *Fusarium*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007. 45
- Cuadro 11. Longitud de tallo de las plántulas de tomate a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007. 46
- Cuadro 12. Peso total de la planta y longitud de raíz a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007. 47
- Cuadro 13. Semillas germinadas y plantas enfermas y sanas en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *V. dahliae*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

Cuadro 14. Longitud de tallo de las plántulas de tomate a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *V. dahliae*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

Cuadro 15. Peso total de la planta y longitud de raíz a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *V. dahliae*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Detalles microscópicos del micoparasitismo de *Trichoderma harzianum* sobre *Pythium* (A) y *Rhizoctonia* (B). 19

Figura 2. Enfrentamiento dual del antagonista y los patógenos. 34

1. INTRODUCCIÓN

El biocontrol actualmente ocupa un lugar importante en las prácticas de manejo de enfermedades de las plantas causadas por patógenos del suelo, principalmente de los géneros *Fusarium*, *Phymatotrichum*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, y *Phytophthora* entre otros (Herrera-Estrella y Carsolio, 1998).

Patógenos importantes principalmente por su supervivencia, ya que pueden persistir en el suelo por varios años debido a las estructuras de resistencia que forman; su amplio rango de hospedantes. Generalmente afectan a los principales cultivos de interés para el hombre; debido a que se encuentran en la mayoría de los suelos, por su distribución espacial y medio donde prosperan (Hernández, 2002).

El control de fitopatógenos por medio de prácticas convencionales es difícil, debido a los problemas para obtener cultivares resistentes. El tratamiento con productos químicos a veces resulta deficiente, e incrementa los costos de producción, contribuye a la contaminación ambiental y deteriora la biota del suelo. La eficacia de la rotación de cultivos es reducida, por su amplio rango de hospedantes espontáneos, cultivados y por sobrevivir en el suelo por medio de esclerocios, bajo condiciones climáticas adversas, durante largos periodos. *Fusarium spp* y *Verticilium spp* son de los principales fitopatógenos del suelo en la Comarca Lagunera, que afectan prácticamente a todos los cultivos regionales, siendo especialmente importante en hortalizas y forrajes (Hernández, 2002).

Ante las limitaciones del manejo de las enfermedades, surge la necesidad de plantear alternativas sustitutivas o complementarias a las existentes, como el control biológico, importante para la recuperación del equilibrio de los ecosistemas y el aprovechamiento del potencial antagonista natural de ciertos microorganismos como *Trichoderma* spp, hongo anaerobio facultativo que se encuentra suelos agrícolas.

1.1 Objetivos

- Identificar las especies de *Trichoderma* spp nativas de la Comarca Lagunera de Coahuila.
- Evaluar el efecto antagónico *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum* f.sp. lycopersici y *V. dahliae*.

1.2 HIPÓTESIS

- En la Comarca Lagunera existen especies nativas de *Trichoderma*.
- Las especies nativas de *Trichoderma* son antagónicas sobre *F. oxysporum* f. sp. lycopersici y *V. dahliae*.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Pérdidas causadas por organismos dañinos

Globalmente, las pérdidas en la producción agrícola debidas a insectos plaga, maleza y enfermedades de las plantas constituyen un 30% del total de la producción. Sin embargo, en los países desarrollados de Europa y América del Norte estas pérdidas llegan a ser de hasta un 25% del rendimiento agrícola. En los países económicamente menos desarrollados, pueden ascender hasta el 50% de la producción. Entre los patógenos causantes de estas enfermedades se encuentran diversas especies de bacterias, nemátodos y virus, pero son los hongos los que ocasionan más de un tercio de las pérdidas de cultivos de importancia económica (Whipps y Lumsden, 2001).

Algunos fitopatógenos, como *Botrytis*, *Rhizoctonia* y *Fusarium*, responsables de enfermedades de hortalizas (pepino, espinaca, lechuga y tomate), plantas oleaginosas (soya) y ornamentales (begonias, gerberas), se han dispersado de manera considerable durante los últimos años debido a los cambios introducidos en los sistemas de cultivo (monocultivo, explotaciones intensivas) (Chet, 1993).

2.2 El control químico de las enfermedades de plantas

El principal método de control que se emplea habitualmente contra los microorganismos causantes de las enfermedades de las plantas cultivadas es el uso de agentes químicos. Los productos químicos son económicos y actúan rápidamente, pero constituyen un grupo de sustancias altamente tóxicas cuya persistencia en el medio ambiente conlleva graves problemas ecológicos como

la contaminación del agua subterránea y la entrada en la cadena alimenticia, lo cual tiene un fuerte impacto sobre gran cantidad de organismos, incluyendo en último término a los humanos. Además, el uso ininterrumpido de estas sustancias ha provocado la aparición de microorganismos patógenos resistentes a los productos químicos empleados para su control. Por ejemplo, han aparecido cepas de *Venturia inaequalis*, *Erysiphe cichoracearum* y *Botrytis cinérea* resistentes a benomilo; de *Phytophthora infestans*, *P. parasítica* y *Peronospora tabacina* resistentes a metalaxilo; otros hongos han mostrado resistencia a triadimetón (Cook y Baker, 1983). Lo anterior es considerado un grave problema en el tratamiento de muchas enfermedades, ocasionando un incremento en la dosis de fungicida y el uso de compuestos menos específicos que resultan dañinos a microorganismos benéficos para las plantas como son las micorrizas. Por otra parte, las restricciones al uso de fungicidas químicos para tratar las infecciones de los productos almacenados son mayores que las impuestas en el campo, lo que hace difícil el control de estas enfermedades (Wilson *et al.*, 1991).

La tendencia actual es reducción del uso de agroquímicos en la agricultura. Algunos como el bromuro de metilo, han sido prohibidos o se encuentran en vías de serlo. A mediados de la década de los 80s en algunos países miembros de la Unión Europea (Suecia, Dinamarca y Holanda), se decidió disminuir el empleo de sustancias químicas en la agricultura hasta en un 50% en un período de 10 años. Para lograrlo es necesario el desarrollo de nuevos métodos de control de enfermedades de plantas que puedan sustituir a los agentes químicos (Hjeljord y Tronsmo, 1998).

En los últimos años se ha desarrollado una estrategia de control integrado basada en la combinación de agentes de control biológico y químicos. Ello ha limitado la dosis necesaria del compuesto químico hasta niveles subletales gracias a un efecto sinérgico del agente químico con la acción del microorganismo antagonista. Por ejemplo, mediante la combinación de *Trichoderma harzianum* se ha logrado reducir la dosis necesaria de bromuro de metilo para controlar la enfermedad del tomate provocada por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Chet e Inbar, 1994). Algunos autores han propuesto que el efecto se debe a que dosis reducidas de fungicida estresan y debilitan al patógeno, haciéndolo más sensible al ataque del antagonista (Lorito *et al.*, 1996).

Muchas de las limitaciones que presenta el control biológico podrían resolverse con un mayor conocimiento de los agentes de control como de los mecanismos que éstos ejercen. Potenciar tales mecanismos mediante la obtención de cepas mejoradas que las hagan más competitivas frente a los agentes químicos es, en la actualidad, la línea de investigación más desarrollada.

2.4 *Trichoderma* como agente de control biológico

Los agentes de control biológico que se emplean contra fitopatógenos suelen ser microorganismos antagonistas como bacterias (*Bacillus* spp., *Pseudomonas*), estreptomicetos fundamentalmente. Entre estos últimos se comercializan algunas especies de los géneros *Pythium*, *Fusarium*, *Ampelomyces*, *Coniothyrium*, *Endothia*, *Gliocladium* y *Trichoderma* (Butt *et al.*,

2001). La mayor parte de la investigación que se ha llevado a cabo sobre control de enfermedades fungosas se refiere a cepas del hongo del género *Trichoderma*. La naturaleza antagonista de *Trichoderma* se descubrió hace más de 70 años (Weindling, 1932) y desde entonces, numerosas especies clasificadas dentro de este género se han utilizado en experimentos de control biológico de hongos patógenos de plantas (Benítez *etal.*, 1998) (Cuadro 1).

Cuadro 1. Ejemplos de aislados de *Trichoderma* usados en experimentos de

Antagonista	Patógeno	Cultivo	Referencia
<i>T. harzianum</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Caña de azúcar	Vancura y Kunc (1989)
	<i>Pythium ultimum</i>	Lechuga	Lynch <i>etal.</i> (1991)
	<i>Fusarium oxysporum</i>	Narciso, Algodón	Bealey Pitt (1990)
	<i>Rhizoctonia solani</i>	Lechuga, haba	Lewis y Papavizas (1987)
	<i>Verticillium spp</i>	Tomate	Sivan y Chet (1987)
	<i>Botrytis cinérea</i>	Tomate	O'Neill <i>etal.</i> (1996)
<i>T. hamatum</i>		Fresa	Sutton y Peng (1993)
		Uva	Gullino(1992)
	<i>G. graminis</i>	Trigo y centeno	Sivasithamparam <i>et al.</i> (1988)
	<i>F. oxysporum</i>	Narciso	Beale & Pitt (1990)
<i>T. viride</i>	<i>R. solana</i>	Tomate	Lewis <i>et al.</i> (1990)
		Algodón, haba	Lewis y Papavizas (1991)
	<i>Penicillium digitatum</i>	Naranja	Rice (1995)
	<i>P. ultimum</i>	Lechuga	Lynch <i>et al.</i> (1991)
<i>T. virens</i>	<i>F. oxysporum</i>	Narciso	Bealey Pitt (1990)
	<i>R. solana</i>	Algodón, tomate	Lewis y Papavizas (1987)
		Papa, haba	
	<i>P. ultimum</i>	Algodón	Howell(1991)
<i>T. koningii</i>	<i>R. solana</i>	Papa, haba	Lewis y Papavizas (1987)
	<i>Phytophthora spp.</i>	Peral	Roigery Jeffers (1991)
	<i>G. graminis</i>	Trigo y centeno	Dewan y Sivasithamparam (1988) Latunde-Dada (1991)
<i>T. poiysporum</i>	<i>R. solana</i>	Leguminosas	
<i>T. reesei</i>	<i>Fomes annosus</i>	Bosques	Donnelly y Sheridan (1986)
<i>Trichoderma spp.</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>		Watts <i>etal.</i> (1988)
	<i>Rhizoctonia</i>	Hortalizas	Chet (1987)
	<i>Pythium</i>	varios cultivos	
	<i>Rhizoctonia</i>	Patata	Beagle-Ristano y Papavizas (1985)
	<i>Verticillium</i>	Champañón	Ricard (1988)
	<i>Pythium</i>	Guisante	Nelson <i>etal.</i> (1988)
	<i>Rhizoctonia</i>	Rábano	Mihuta-Grimm y Rowe (1986)
	<i>Sclerotium</i>	Manzana	Conway (1986)
<i>Gliocladium</i>	<i>V. dahliae</i>	Papa	Keinath <i>etal.</i> (1991)
<i>Roseum</i>			

Adaptado de: (Benítez *etal.*, 1998)

control biológico contra fitopatógenos.

Adicionalmente, más de la mitad de productos existentes en el mercado destinados al control de hongos fitopatógenos son preparados de *Trichoderma*. Actualmente se comercializan principalmente cepas de *T. viride*, *T. polysporum* y *T. harzianum*, siendo esta última la más empleada (Whipps y Lumsden, 2001) (Cuadro 2).

Adaptado de: (Whipps y Lumsden, 2001)

Cuadro 2. Productos a base de *Trichoderma* registrados y comercializados como agentes de control biológico.

Cepa	Patógeno	Aplicación	Producto comercial
		Suelo y raíces	

T. viride *T. polysporum* *T. harzianum*

2.4.1 El género *Trichoderma*

Las especies del género *Trichoderma* forman parte de un grupo complejo de hongos filamentosos clasificados en la subdivisión Deuteromycotina y asociados a la fase sexual de la subdivisión Ascomycotina, pertenecientes al orden Hipocreales. Se reproducen clonalmente mediante un ciclo de vida asexual en el que se alternan micelio y conidios. El micelio se caracteriza por poseer hifas más o menos ramificadas, septadas y con más de un núcleo por célula. Los conidios poseen un sólo núcleo haploide, son ovoides, de color verde (excepcionalmente hialinos) que a su vez se forman sobre estructuras muy ramificadas o conidioforos estos se sitúan sobre células especiales denominadas fialides (Rosen *et al.*, 1974). En determinadas condiciones nutricionales o frente a la desecación se produce otro tipo de estructuras de resistencia denominadas clamidosporas (Lewis y Papavizas, 1984).

Un número creciente de especies de *Trichoderma* han sido relacionadas con una fase sexual o teleomorfo representada por especies del género *Hypocrea*, por ejemplo a *T. reesei* con *Hypocrea jecorina*, demostrando que *Trichoderma* puede representar a un grupo de derivados clónales de *Hypocrea* que han perdido la capacidad de realizar ciclo sexual (Kuhls *et al.*, 1996).

Las primeras clasificaciones taxonómicas existentes son preliminares y se basan fundamentalmente en las características morfológicas de las especies, que a menudo no aportan información suficiente para discernir unas de otras. Aunque existe un concepto general de morfología básica de *Trichoderma* (crecimiento rápido, esporulación abundante, conidios verdes y conidioforos mal definidos), éste no está establecido por completo, existiendo

na integración con otros géneros hifomicetos. Rifai (1969), por ejemplo, dividió el género en nueve agregados de especies; Gams y Bissett (1998), definieron las secciones *Trichoderma*, *Longibrachiatum*, *Pachybasium* e *Hypocreanum*. Desde entonces y con la aplicación de diversas técnicas moleculares como cariotipos electroforéticos, análisis de isoenzimas, análisis de polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP), polimorfismos de fragmentos de ADN amplificados al azar (RAPD), secuenciación de ADN (por ejemplo, de secuencias espadadoras intergénicas del ADN ribosómico o ITS), junto con técnicas bioquímicas y fisiológicas, se han ido redefiniendo o confirmando tanto secciones completas como especies dentro del género (Lieckfeldt *etal.*, 1998).

Por ejemplo, la inclusión en el género *Trichoderma* de *Gliocladium virens*, uno de los hongos más citados en control biológico, ha sido aceptada sólo después de ser determinada mediante el análisis de secuencias de ITS (Rehner y Samuels, 1994).

2.4.2 Características ecológicas de *Trichoderma*

Las características ecológicas de los hongos pertenecientes a este género los hacen especialmente adecuados para su aplicación como agentes de control biológico de enfermedades producidas por hongos. Las especies de *Trichoderma* son ubicuas, se hallan ampliamente distribuidas tanto geográficamente como en distintos tipos de suelo, siendo predominantes en hábitats donde abundan restos vegetales y madera en descomposición. Son hongos saprofitos, con la excepción de algunas especies que además son micoparásitas. Poseen gran capacidad de colonización de distintos ambientes

debido a que crecen muy rápidamente, tienen pocos requerimientos nutricionales y sobreviven en condiciones adversas (Papavizas, 1985).

Una de las características más interesantes de las cepas de *Trichoderma* es que tienen capacidad metabólica diversa. Las especies de este género son capaces de transformar una amplia variedad de materia orgánica mediante la producción de gran cantidad de enzimas extracelulares que degradan distintos tipos de polímeros, entre ellos polisacáridos como celulosa, quitina, laminarina, pectina, almidón y xilano. Esto lo convierte en un microorganismo de interés biotecnológico (Buchert *et al.*, 1998; Galante *et al.*, 1998; Espósito y da Silva, 1998).

Rara vez se ha asociado a *Trichoderma* con enfermedades de plantas, al contrario, se considera un organismo benéfico para las mismas. La promoción del crecimiento vegetal por parte de *Trichoderma* es un fenómeno observado en varios tipos de cultivos (Lindsey y Baker, 1967; Harman *et al.*, 1989). Este fenómeno se manifiesta como una potenciación de la germinación de las semillas, una floración más abundante y temprana e incremento de altura y peso de las plantas (Chang y Baker, 1986). En experimentos de invernadero se ha observado un incremento de la producción hasta de un 300%. Sin embargo, los mecanismos mediante los cuales se produce este efecto permanecen aún sin identificar. Uno de ellos podría ser la capacidad de *Trichoderma* para solubilizar metales, como el zinc, manganeso, hierro o cobre, convirtiéndolos en nutrientes asimilables por las plantas (Altomare *et al.*, 1999). Otro efecto indirecto podría ser la eliminación de la rizosfera de patógenos de menor incidencia, como es el caso de *Pythium*, sin los cuales las plantas alcanzan su

máximo potencial de desarrollo (Harman *et al.*, 1989). Aún así, en experimentos de laboratorio en los que sólo están presentes *Trichoderma* y la planta a ensayar, también se produce el estímulo del crecimiento. Existe evidencia de que hay factores difusibles, aún no identificados, que intervienen en el desencadenamiento de la respuesta de la planta, dado que experimentos en los que los dos organismos, planta y hongo, se separan mediante una membrana de celofán dan resultados similares (Windham *et al.*, 1986). Una hipótesis más reciente propone que *Trichoderma* es capaz de limitar e incluso revertir el efecto del daño en la raíz causado por *R. solani* (Björkman *et al.*, 1998).

2.5 Mecanismos de control biológico de *Trichoderma*

El mejoramiento de los agentes de control biológico, pasa por el conocimiento de sus mecanismos de acción. *Trichoderma* es el antagonista en el que más se ha estudiado este fenómeno. Los mecanismos generales de control biológico que *Trichoderma* emplea pueden dividirse según su efecto en directo o indirecto. Los de efecto directo incluyen la inactivación de las enzimas del patógeno, competencia por espacio y nutrimentos, secreción de metabolitos secundarios con efecto antibiótico y ataque directo al fitopatógenos o micoparasitismo. Además, indirectamente, *Trichoderma* es capaz de proteger a la planta del patógeno mediante la inducción de sus sistemas de defensa (Whipps y Lumsden, 2001).

2.5.1 Estimulación de los mecanismos de defensa de las plantas (resistencia inducida)

La resistencia inducida, que puede ser localizada o sistémica, se traduce en una respuesta mayor y rápida de los mecanismos de defensa de la planta ante el ataque de un patógeno. Esta respuesta incluye la secreción de enzimas como proteasas, peroxidasas, glucanasas, quitinasas y finalmente, la lignificación de las paredes celulares que rodean el lugar de infección para limitar la dispersión del patógeno (Meera *et al.*, 1994).

Se ha observado que muchas cepas de *Trichoderma* son capaces de inducir resistencia sistémica en las plantas, ya que aplicadas en la rizosfera producen protección contra patógenos del suelo o foliares (Meera *et al.*, 1994). Esta resistencia viene acompañada en muchos casos de un incremento de actividad de peroxidasa y quitinasa en zonas distantes de la raíz (Yedidia *et al.*, 1999) y la síntesis de moléculas de la planta que intervienen en este tipo de respuesta, como es el ácido salicílico (De Meyer *et al.*, 1998).

Las moléculas implicadas en el desarrollo de la resistencia sistémica, parecen ser las enzimas hidrolíticas que secreta *Trichoderma*. La producción de xilanasas y celulasas por *Trichoderma* se ha relacionado en muchos casos con la síntesis de etileno en las plantas. Otra de las hormonas implicada en la respuesta sistémica (Dean *et al.*, 1989). La acción de estas enzimas sobre la pared vegetal (celulosa, pectina, xilanos) o la pared celular de los hongos circundantes (quitina, glucanos, proteínas) puede dar lugar a la liberación de moléculas que sirven como inductores del sistema de defensa vegetal. Sin embargo, se ha comprobado que las enzimas hidrolíticas pueden servir como

2.5.3 Competencia por los nutrientes y espacio

Las especies de *Trichoderma* son muy versátiles en la utilización de sustratos como fuente de carbono y nitrógeno, lo cual les permite colonizar un medio rápidamente, evitando la proliferación de otros microorganismos en el mismo habitat (Hjeljord y Tronsmo, 1998). Además, poseen la capacidad de aprovechar eficientemente los nutrientes limitantes que pueda haber en el entorno al poseer transportadores de alta afinidad (Delgado-Jarana *et al.*, 2003). El hierro en estado soluble, cuya concentración en el suelo se encuentra por debajo de 10^{-8} M a pH neutro, es uno de los factores que establecen una dura competencia (Handelsman y Stabb, 1996). La producción de sideróforos de alta afinidad parece ser el principal mecanismo de inhibición del desarrollo de *F. oxysporum* por la cepa T-35 de *T. harzianum* (Chet e Inbar, 1994).

En otros casos, el rápido desarrollo y colonización de *Trichoderma* de las zonas adecuadas para la infección, como áreas de necrosis, heridas o partes concretas de la planta, impiden físicamente el acceso y establecimiento del patógeno en su hospedante. Por ejemplo, el recubrimiento de los capuchones florales de la vid por *Trichoderma* protege contra la infección posterior de la uva por *B. cinérea* (Harman *et al.*, 1996). También se ha observado la colonización de heridas recientes en raíces de pepino por *T. harzianum* (Thrane *et al.*, 1997) y se sabe que este mecanismo impide la infección de las raíces de eucalipto por *Armillaria luteobubalina* (Nelson *et al.*, 1995).

Otra ventaja que tiene *Trichoderma* al establecerse en el suelo es que es muy resistente al efecto fungistático resultante de los metabolitos liberados por otros microorganismos, siendo capaz de desarrollarse en condiciones de

competencia extrema. Muchas cepas son asimismo resistentes a muchos herbicidas y fungicidas y se recuperan con facilidad después del contacto con dosis subletales de estos tóxicos (Hjeljord y Tronsmo, 1998).

2.5.4 Antibiosis

Aunque el micoparasitismo es el fenómeno que más atención ha recibido, muchas investigaciones han revelado que *Trichoderma* produce metabolitos secundarios difusibles y de bajo peso molecular con actividad antifúngica o antibacteriana. Estos compuestos se producen en presencia de otros hongos y algunos de ellos han sido recuperados de la rizosfera (Lumsden *etal.*, 1992).

Los metabolitos con actividad antifúngica excretados por *Trichoderma* constituyen un grupo de compuestos volátiles y no volátiles muy diverso en cuanto a estructura y función. Se han identificado compuestos del tipo de las alquil-pironas (6-pentil-pirona), isonitrilos (isonitrina), poliquétidos (harzianolida), peptabioles (trichodermina, atroviridina, alameticina, suzucacilina y trichorzianina), dicetopiperacinas (gliovihna y gliotoxina), sesquiterpenos (ácido heptelídico) y esteroides (viridina) (Sivasithamparan y Guisalberti, 1998). Normalmente una misma cepa de *Trichoderma* produce a la vez distintos compuestos antibióticos, lo cual reduce el riesgo de aparición de hongos resistentes.

El modo de acción de la mayoría de los antibióticos identificados se desconoce. Se sabe que la gliotoxina se une selectivamente a los grupos tioles de la membrana citoplásmica y que las trichorzianinas actúan modificando la

permeabilidad de la membrana de la célula formando canales iónicos en la misma (Schirmbock *et al.*, 1994).

La importancia de la antibiosis en el antagonismo es específica de cada interacción. Así, mientras que en la supresión de *Pythium* por *Trichoderma* es imprescindible la producción de gliotoxina (Howell y Stipanovic, 1995), en el caso de *R. solani* la presencia de este compuesto no es importante. De la misma manera, varios de estos compuestos han sido relacionados con la capacidad antagónica de *Trichoderma*, pero ninguno se ha definido como único responsable de la misma. Probablemente, la antibiosis sea un mecanismo más de los que componen el complejo sistema de antagonismo (Ridout *et al.*, 1986; Wilhiteefa/., 1994).

2.5.5 Micoparasitismo

El micoparasitismo consiste en un ataque directo de un hongo a otro, y conlleva a la destrucción de alguna de las estructuras del hospedante (micelio, esporas, esclerocios), con el consiguiente aprovechamiento de sus componentes como fuente de nutrimentos (Barnett y Binder, 1973).

En los hongos micoparásitos existen dos tipos de comportamiento: el parasitismo necrotrófico, en el que el parásito mata a las células del hospedante antes o inmediatamente después de la invasión para la utilización de los nutrimentos liberados y el parasitismo biotrófico, en el que el parásito obtiene los compuestos que le servirán de nutrimentos a partir de las células vivas. Los del primer tipo son muy agresivos y suelen tener un amplio espectro de hospederos. Los segundos, sin embargo tienen un espectro más restringido y

un mecanismo de acción más específico que consiste en la emisión de estructuras especializadas para la absorción de nutrimentos. El género *Trichoderma* incluye varias especies micoparásitas, especialmente *T. harzianum* y *T. viride*, que pertenecen a la primera clase (Barnett y Binder, 1973).

El proceso de micoparasitismo ejercido por *Trichoderma* se produce en varias etapas sucesivas. Inicia por el crecimiento quimiotrófico de *Trichoderma* hacia el hospedante estimulado por moléculas procedentes del mismo, de naturaleza desconocida. Las únicas que se han detectado hasta ahora parecen ser aminoácidos y azúcares, por lo que no es factible esperar que la inducción sea específica del hospedante (Chet *et al.*, 1981). Cuando *Trichoderma* entra en contacto con el hospedante debe producirse un reconocimiento de éste que desencadena las etapas siguientes. Parece que el proceso de reconocimiento está mediado por interacciones entre las lectinas y carbohidratos presentes en las paredes tanto de *Trichoderma* como de los hongos a los que se enfrenta (Neethling y Nevalainen, 1996). Una prueba de ello es que cuando se incuba *R. solani* con fucosa o galactosa, azúcares que bloquean determinadas glicoproteínas, se inhibe el efecto de *T. harzianum* (Elad *et al.*, 1983). Además se han identificado otras lectinas de *Sclerotium rolfsii* capaces de unirse sólo a las cepas de *Trichoderma* que parasitan a este hongo (Barak *et al.*, 1985; Chet, 1990). Una de estas lectinas ha sido purificada y unida covalentemente a una fibra de nylon, provocando el enrollamiento de *Trichoderma* a su alrededor (Inbary Chet, 1992).

Tras el reconocimiento se produce un enrollamiento de *Trichoderma* alrededor de las hifas del hospedante formando estructuras con forma de garfio o parecidas a apresónos (Elad *et al.*, 1983; Inbar *et al.*, 1996) (Fig. 1A). Por último *Trichoderma* secreta enzimas hidrolíticas, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan la pared celular del hospedante (Elad *et al.*, 1982; Benhamou y Chet, 1993; Harán *et al.*, 1996a, 1996b)., con la consiguiente asimilación de los componentes de la pared y contenido celular del mismo (Elad *et al.*, 1984) (Fig. 1B).

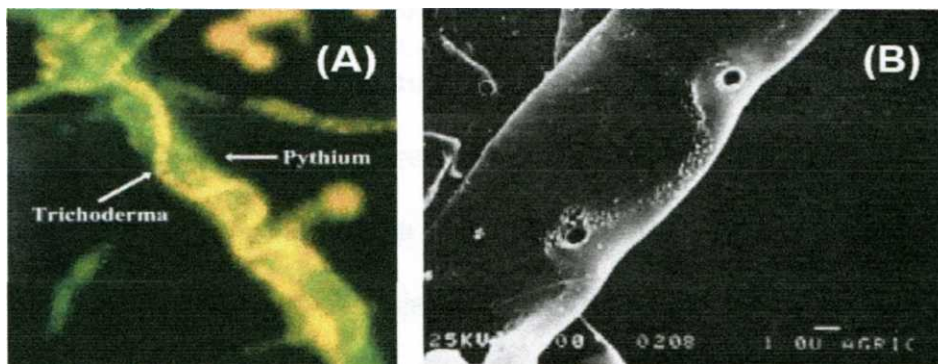


Figura. 1. Detalles microscópicos del micoparasitismo de *Trichoderma harzianum* sobre *Pythium* (A) y *Rhizoctonia* (B)

La relevancia que cada uno de estos cinco mecanismos (inducción de sistemas de defensa de la planta, inhibición de enzimas del patógeno, competencia, antibiosis y micoparasitismo) tiene en el control biológico no está bien establecida, aunque al parecer claro que depende de varios parámetros, incluyendo la cepa de *Trichoderma* y del hongo al que parasite, así como de las condiciones ambientales, disponibilidad de nutrientes, pH del suelo, temperatura, concentraciones iónicas, entre otras. Lo más probable que varios de ellos actúen de forma secuencial, combinada o sinérgica, como sucede en el

control de *Botrytis* en uva por *Trichoderma*, en el que están implicados tanto la competencia por los nutrimentos como el micoparasitismo de los esclerocios (Hjeljord y Tronsmo, 1998). Además los antibióticos y enzimas hidrolíticas no sólo se producen juntos sino que actúan de manera sinérgica en el micoparasitismo. Al parecer la degradación de la pared celular facilita el acceso de los antibióticos al interior de la célula (Di Pietro *et al.*, 1993; Schirmbock *et al.*, 1994; Loritoef *al.*, 1996).

2.6 Marchitamiento vascular causado por patógenos del suelo. 2.6.1

Marchitamiento vascular

Es una enfermedad ampliamente distribuida y destructiva, espectacular y alarmante, ya que se manifiesta en un marchitamiento más o menos rápido, empardecimiento y muerte de hojas y tallos suculentos de algunas plantas, lo cual da como resultado la muerte de estas últimas. El marchitamiento se debe a la presencia y actividad del patógeno en el tejido vascular xilemático de las plantas. En pocas semanas el patógeno puede ocasionar la muerte de plantas completas o de sus órganos que se localizan por arriba del punto de invasión vascular en la mayoría de las plantas anuales y algunas perennes, aunque en algunas plantas de este último grupo no mueren sino hasta después de varios años a partir del momento en que fueron infectadas por el hongo. Comúnmente, el patógeno continúa propagándose internamente en forma de micelio o conidios a través de los vasos xilemáticos hasta que muere toda la planta. En tanto la planta infectada continúe viviendo, el hongo se limita a el tejido vascular (xilema) y algunas células circunvecinas y nunca sale a la superficie de la

planta; incluso tampoco produce esporas. Solo cuando la enfermedad ocasiona la muerte de una planta infectada, el hongo se propaga hacia otros tejidos y esporula en la planta muerta o sobre la superficie de ésta (Agrios, 1999).

2.6.2 Géneros que producen marchitamiento

Entre los géneros de hongos que producen marchitamiento se encuentran *Fusarium* y *Verticillium*. Cada uno de ellos ocasiona enfermedades graves y de amplia distribución ya que atacan varias especies de cultivos importantes (Agrios, 1999).

F. oxysporum produce marchitamiento vascular principalmente en flores y hortalizas anuales, plantas herbáceas perennes de ornato, plantas de cultivo, maleza y en la mimosa (árbol de seda). Diferentes plantas hospedantes son atacadas por formas especiales del hongo. El hongo que ataca el tomate se designa como *F. oxysporum* f. *lycopersici*, el de la curcubitáceas, *F. o. f. niveum*; de la col, *F. o. f. conglutinans*; el del plátano, *F. o. f. cubense*; el del algodón, *F. o. f. vasinfectum*; el del clavel, *F. o. f. dianthii*; el del crisantemo, *F. o. f. chrysanthemi*, etc. (Agrios, 1999).

Verticillium ocasiona el marchitamiento vascular de flores, hortalizas, plantas de cultivo, malas hierbas anuales, plantas de ornato perennes, árboles frutales y forestales y de maleza perenne, etc. Este hongo tiene dos especies (*Verticillium albo-atrum* y *Verticillium dahliae*) y ataca a centenares de clases de plantas produciendo marchitamiento y pérdidas de montos variables (Agrios, 1999).

De los hongos que producen marchitamiento vascular en las plantas, *Fusarium* es un hongo que habita en el suelo, mientras que *Verticillium* es, sobre todo, un hongo que invade ese sustrato. Ambos patógenos afectan a las plantas a través de sus raíces, en las que penetran directamente o a través de heridas. Muchos nematodos parásitos que viven en el suelo, habitualmente incrementan la incidencia del marchitamiento por *Fusarium* y *Verticillium*, quizá debido a que proporcionan un mayor número de puntos efectivos de penetración. Tan pronto como llega a la raíz de la planta, el micelio del hongo se extiende hasta los vasos xilémicos, donde forman microesclerocios (en el caso de *Verticillium*) o conidios (en el caso de ambos), subsecuentemente el micelio y las esporas del hongo ascienden en la planta a través de sus vasos xilémicos, siendo llevados por la corriente de transporte de agua. *Fusarium* hiberna en el suelo o restos de plantas en forma de esporas asexuales de pared gruesa denominadas clamidosporas, o bien en forma de micelio o esporas en los restos vegetales. *Verticillium* hiberna en el suelo en forma de microesclerocios o en forma de micelio en plantas perennes y en restos vegetales. Ambos hongos producen únicamente esporas asexuales. Ambos hongos son organismos saprofitos, y una vez que se introducen en un terreno de cultivo, se establecen ahí por tiempo indefinido, aunque su número poblacional varía en forma considerable, dependiendo de la susceptibilidad y tiempo de cultivo de la planta hospedante en el campo. *Fusarium* y *Verticillium* se propagan en el suelo en menor grado en forma de micelio que se desarrolla en las raíces o restos de plantas, lo hacen principalmente en forma de micelio, esporas o esclerocios llevados por el agua del suelo, equipo agrícola,

transplantes, tubérculos, semillas de algunas plantas, esquejes de plantas infectadas y, en algunos casos, en forma de esporas o esclerocios llevados por el viento (Agrios, 1999).

2.7 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

2.7 A Distribución y rango de hospedantes.

La enfermedad puede ocasionar pérdida considerable, especialmente en variedades susceptibles y bajo condiciones climáticas favorables. El marchitamiento causado por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* se caracteriza por el achaparramiento de las plantas, las cuales en poco tiempo se marchitan y finalmente mueren. A veces, campos enteros de tomates son destruidos o severamente dañados antes de que puedan ser cosechados. Sin embargo, por lo general la enfermedad no ocasiona pérdidas considerables, a menos que las temperaturas de suelo y aire sean muy altas durante gran parte de la estación (Agrios., 1999).

2.7.2 Sintomatología

Lo primero que se observa en el campo es un amarillamiento en las hojas basales, posteriormente se marchitan pero permanecen adheridas a la planta. Esta sintomatología va progresando hacia la parte superior de la planta

y a veces sólo toma un sector de ía misma. Al inicio las plantas muestran marchitez en las horas más calurosas del día recuperándose al final del mismo pero finalmente se marchitan y mueren. Las raíces principales y la base del tallo presentan necrosis vascular. En cortes transversales del tallo, cerca de la base

de la planta infectada, se puede observar un anillo de color café en el área de los haces vasculares, y el avance de la decoloración hacia la parte superior de la planta depende de la severidad de la enfermedad (Agrios, 1999).

2.7.3 Desarrollo de la enfermedad

El patógeno habita en el suelo y sobrevive entre los cultivos, restos de plantas infectados que yacen en el suelo, en forma de micelio y cualquiera de sus formas de esporas, pero lo hace con mayor frecuencia en forma de clamidosporas, sobre todo en las regiones templadas frías. Se propaga a corta distancia a través del agua y equipo agrícola contaminado, y a grande distancia principalmente en los trasplantes infectados o en el suelo que va en ellos. Es frecuente que una vez que un área haya sido infectada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* se mantenga así por tiempo indefinido (Agrios, 1999).

2.7.4 Ubicación taxonómica y morfología

F. oxysporum se ubica en la clase Hyphomycetes, orden Hyphales (Moniliales) (Agrios, 1999).

El micelio de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* es incoloro al principio, pero conforme madura adquiere un color crema o amarillo pálido y bajo ciertas condiciones adquiere una tonalidad rosa pálido o algo púrpura. Este patógeno produce tres tipos de esporas asexuales. Microconídios, que tienen de una a dos células y son las esporas que el hongo produce con una mayor frecuencia

abundancia en todas las condiciones. Son las esporas que el con más frecuencia en el interior de los vasos de las plantas que ha infectado. Macroconidios, que son las esporas típicas de stán constituidos de 3 a 5 células, se adelgazan gradualmente y iia ambos extremos. Aparecen con gran frecuencia sobre la plantas que han sido destruidas por el patógeno y por lo común grupos similares a los esporodoquios. El último tipo de espora idosporas, constituidas por una o dos células, son de pared esporas redondas que se forman terminal o intercaladamente en »s viejo o en los macronidios del hongo. Estos tres tipos de Drman en los cultivos del hongo y quizá también en el suelo, decir que sólo las clamidosporas sobreviven en este último ite más tiempo (Agrios, 1999).

medidas de control

de variedades de tomate resistentes al hongo es el único método controlar la enfermedad en el campo. En la actualidad se arias variedades. La mayoría de ellas son totalmente resistentes 0 en condiciones subóptimas para que se produzca la infección enos rendimientos aún en suelos sumamente infestados. El uentra tan ampliamente distribuido y es tan persistente en suelo ón de cultivos y esterilización de los almacigos, aun cuando 1 métodos seguros, tienen rendimiento limitado. La esterilización demasiado costosa para que se lleve a efecto en el campo, pero

En el cultivo de tomate la aplicación de *T. harzianun* en combinación con dosis subletales de bromuro de metilo (300 kg/ha) y solarización es efectivo en el control de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, reduciendo de 76-94% los niveles de colonización de la corona de la planta (Sivan y Chet, 1993).

2.8 *Verticillium dahliae*

2.8.1 Distribución y rango de hospedantes

Las enfermedades causadas por este patógeno se encuentran ampliamente distribuidas por todo el mundo, pero revisten mayor importancia en las zonas templadas. *Verticillium* ataca a más de 200 especies de plantas, la mayoría de ellas hortalizas, como es el caso del tomate, berenjena, pimiento, melón y sandía; flores, como el crisantemo, áster y dalia; árboles frutales, como por ejemplo, el albaricoque, cerezo y durazno; también a las fresas, frambuesas y rosales; cultivos mayores, como algodón, papa, alfalfa, cacahuates, menta, y también a algunos árboles forestales y de sombra, como es el caso del arce y olmo (Agrios, 1999).

2.8.2 Sintomatología

Los síntomas de marchitez por *Verticillium* son casi idénticos a los que ocasiona *Fusarium* y en los hospedantes afectados por ambos géneros es imposible diferenciarlos, excepto mediante pruebas de laboratorio. Sin embargo, en muchos de los hospedantes y en la mayoría de las áreas, *Verticillium* induce marchitez a temperaturas más bajas que *Fusarium*. Los síntomas se desarrollan más lentamente; con frecuencia aparecen solos sobre

la parte inferior de la planta o sobre su superficie o únicamente sobre algunas de sus ramas. En algunos hospedantes, como algodón, la marchitez por *Verticillium* se desarrolla principalmente en las plántulas. Las cuales a menudo mueren poco después de haber sido infectadas, pero más comunes son las infecciones tardías, que ocasionan la epinastia de las hojas superiores, seguida por la aparición, en las hojas, de manchas cloróticas irregulares que posteriormente se vuelven necróticas. Las plantas adultas infectadas por *Verticillium* habitualmente sufren varios grados de achaparramiento y sus tejidos vasculares muestran una decoloración característica. En muchos hospedantes, la infección por *Verticillium* da como resultado la defoliación, marchitez gradual y muerte de ramas sucesivas o un colapso repentino y muerte de toda la planta (Agrios, 1999).

Los brotes iniciales de marchitez por *Verticillium* en un campo son típicamente moderados y localizados. En años posteriores, los ataques son más severos y se distribuyen más ampliamente, a menos que las plantas dejen de ser cultivadas o sean sustituidas por variedades resistentes. La severidad cada vez mayor de la enfermedad año tras año se debe a un incremento también cada vez mayor del potencial del inoculo, por la aparición de cepas del hongo más virulentas que la original, o a ambos (Agrios, 1999).

2.8.3 Ubicación taxonómica y morfología

V. dahliae se ubica en la clase Hyphomycetes, orden Hyphales (Moniliales) (Agrios., 1999).

V. dahliae, es la causa de marchitamiento en la mayoría de las plantas,

produce conidios que son viables por poco tiempo así como microesclerocios; prefiere temperaturas de 25 a 28°C, y es un poco más común en regiones cálidas. Aunque algunas cepas de *Verticillium* muestran especialización por su hospedante, la mayoría muestran poca especialización por el mismo y ataca a una amplia gama de plantas hospedantes. *V. dahliae* hiberna en el suelo en forma de esclerocios que pueden sobrevivir hasta por cincuenta años. Sin embargo, esta especie hiberna en forma de micelio dentro de hospedantes perennes, en órganos de reproducción vegetativa o en restos de vegetales. *Verticillium* penetra en las raíces jóvenes de las plantas hospedantes ya sea directamente o a través de heridas. El hongo se propaga por medio de las semillas infectadas, tubérculos y esquejes vegetativos, púas y yemas, así como a través del viento, el agua superficial del terreno y por el suelo mismo, el cual puede contener incluso más de 100 microesclerocios por gramo; entre 6 y 50 microesclerocios por gramo son suficientes para causar una infección del 100% en la mayoría de los cultivos susceptibles. Muchos terrenos han sido contaminados por primera vez por *Verticillium* al plantar tubérculos de papa infectados u otros cultivos, y se sabe que las solanáceas como la papa, berenjena y tomate incrementan el nivel de inoculo en el suelo. Sin embargo, es frecuente encontrar a *Verticillium* en áreas no cultivadas, lo cual indica que el hongo es un organismo nativo del suelo y que puede atacar cultivos susceptibles tan pronto como sean sembrados (Agrios, 1999).

2.8.4 Medidas de control

El control de marchitamiento por *Verticillium* se basa en el uso de plantas sanas en suelos libres de enfermedad, uso de variedades resistentes y evitar la siembra de cultivos susceptibles donde se han cultivado solanáceas en varias ocasiones. La fumigación del suelo puede ser provechosa cuando se utiliza para proteger cultivos de gran valor, pero es demasiado costosa en áreas extensas (Agris, 1999).

La inactivación térmica por medio de la solarización de suelo, ha demostrado ser útil en el control de *Verticillium* en regiones con alta temperatura verano y poca precipitación pluvial como California e Israel (Agris, 1999).

3. MATERIALES Y MÉTODOS 3.1

Localización del área de estudio

El trabajo de investigación se realizó en dos etapas: una en campo y otra en el laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro Unidad Laguna (UAAAN-UL) ubicada en el municipio de Torreón se localiza en la parte oeste del sur del estado de Coahuila, entre las coordenadas 103° 26'33" longitud oeste y 25° 32'40" latitud norte a una altura de 1,120 MSNM, el clima es de subtipos secos semicálidos. La temperatura media anual es de 20 a 22° C (GEC, 2004; SOATCM, 2004).

3.2 Aislamiento de especies de *Trichoderma* 3.2.1

Sitios de muestreo

Los aislamientos de *Trichoderma* spp fueron obtenidos de suelo colectado del período de junio a noviembre de 2006 en huertos de nogal localizados en diferentes

Cuadro 3. Ubicación de los sitios de muestreo de *Trichoderma*.
UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

Huerto	Lugar Localidad	
1	Rancho Ana	Torreón Coahuila
2	La partida	Torreón Coahuila
3	Lácteos Florida	Francisco I. Madero
4	San Antonio	Torreón Coahuila
5	Las Villas	Torreón Coahuila
6	La encantada	Torreón Coahuila
7	El Perú	Torreón Coahuila
8	Huerto Narro	Torreón Coahuila
9	Recreativo natividad	Matamoros Coahuila
10	Huerto Inifap	Matamoros Coahuila
11	San Isidro	San Pedro Coahuila
12	Rodeo	Durango

localidades de la Comarca Lagunera. Cuadro 3.

En cada suelo de muestreo se colectaron al azar de 5 a 10 muestras de suelo aproximadamente 1 kg. Cada muestra fue tomada en los primeros 30 cm de profundidad eliminando la materia orgánica superficial y transportadas en bolsas de plástico al laboratorio de Parasitología de la UAAAN -UL. Las muestras se conservaron a temperatura ambiente de 25 a 30 °C hasta su utilización.

3.2.2 Aislamientos de *Trichoderma* spp

En el laboratorio, los aislamientos se realizaron directamente del suelo; en cada muestra se tomaron 10 submuestras de 50 mg cada una; las submuestras se dispersaron uniformemente sobre la superficie de una caja petri con un medio de cultivo que favoreciera su crecimiento (Jonson y Curl, 1972). En total se utilizaron 10 cajas petri por cada muestra de suelo, se incubaron a temperatura ambiente de 25 a 30 °C y se revisaron diariamente durante 10 días.

3.2.3 Purificación y conservación de aislamientos de *Trichoderma* spp.

Se prepararon cajas petri y tubos de ensaye con medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA). Los tubos se mantuvieron con una inclinación de 45 grados para que el medio ofreciera una mayor superficie de contacto.

Las colonias previamente reconocidas como *Trichoderma* spp se transfirieron a las cajas petri para purificarlas; Las colonias puras se pasaron a los tubos de ensaye y cuando el hongo colonizó toda la superficie de! medio se

mantuvieron en refrigeración a temperatura de 4 °C para su conservación y uso posterior.

3.2.4 Selección de especies de *Trichoderma*

En el experimento tanto *in vitro* como en maceta, los aislamientos fueron seleccionados considerando los que mostraron mayor crecimiento en siete días y que al mismo tiempo mostraran características diferentes de crecimiento.

3.2.5 Identificación de las especies de *Trichoderma*

Los doce aislamientos utilizados en la realización de esta investigación fueron identificados con ayuda del microscopio compuesto de acuerdo a sus características morfológicas y apoyo de claves taxonómicas (Domsch *et al.*, 1980). Cada uno de los aislamientos identificados se resembró con medio específico como avena agar (AA), papa-sacarosa-agar (PSA), papa-zanahoria-agar (PZA), agar extracto de malta (AEM) según el medio requerido para cada una de las especies con el propósito de *reafirmar* la identificación morfológica (Domsch *etal.*, 1980)

3.3 Prueba *in vitro*

En las evaluaciones comparativas de la actividad antagónica en cultivos duales se utilizaron como fitopatógenos los aislamientos de *F. oxysporum* f sp *licopersici* y *V. dahliae*. Como potenciales biocontroladores, fueron evaluados 12 aislamientos de *Trichoderma* spp nativos de la Comarca Lagunera.

La evaluación consistió en el desarrollo simultaneo de los microorganismos antagónico y patógeno en el medio de cultivo que permite su crecimiento en cajas petri, ambos bajo las mismas condiciones (Bell *et al.*, 1982) (fig. 2).

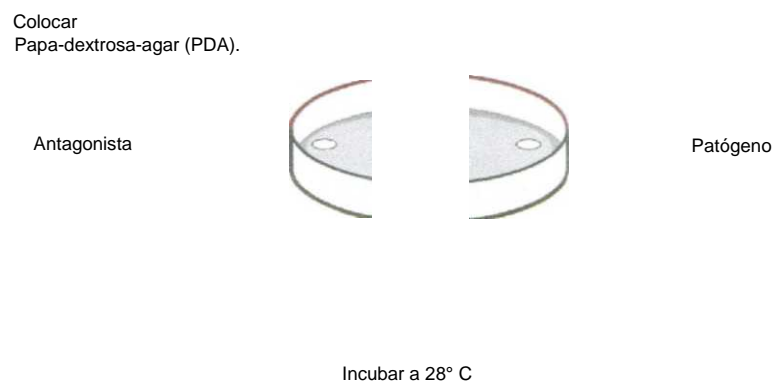


Figura N° 2 Enfrentamiento dual.

Los discos de los aislamientos utilizados para la ejecución del ensayo, fueron obtenidos de cultivos sembrados en papa-dextrosa-agar (PDA), mantenidos a temperatura ambiente a 24-25° C, durante 10 días. De la periferia de las colonias, se cortaron discos con sacabocados de 0.5 cm de diámetro que fueron transferidos a cajas de petri con el mismo medio, en posiciones opuestas y equidistantes, de tal modo que quedaran enfrentados fitopatógeno y antagonista a probar en cada tratamiento. Los testigos consistieron en el crecimiento de los patógenos, sin la presencia de los posibles antagonistas. El diseño experimental utilizado fue un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones, las cajas fueron mantenidas a temperatura de 28° C.

La unidad experimental consistió de una caja de petri. Se midió el diámetro de las colonias a las 48 y 72 horas, efectuándose análisis de varianza y prueba de medias (DMS) de los valores obtenidos.

3.4 Prueba en invernadero

3.4.1 Ubicación del experimento

El experimento se estableció al aire libre bajo malla sombra de 75% en el invernadero del departamento de horticultura de la UAAAN-UL, el día 1 de junio del 2007.

3.4.2 Preparación del inóculo de *Trichoderma* spp.

Los aislamientos de *Trichoderma* fueron cultivados previamente en cajas petri; de éstas se tomaron discos de PDA de 0.5 cm de diámetro conteniendo micelio del hongo, los cuales fueron colocados dentro de frascos de vidrio conteniendo 100 g de granos de trigo esterilizado.

El trigo en los frascos fue preparado de la siguiente manera: 3 kg de trigo fueron escogidos, lavados y remojados por 24 horas; luego de una cocción por 15 minutos, se escurrieron y se dejaron reposar por 12 horas, inmediatamente después se distribuyeron 100 g de trigo en cada uno de los frascos de vidrio con una capacidad de 250 ml; en la boca del frasco se colocó algodón a manera de tapón (a presión), encima se puso una capucha de papel, sujeta con una liga. Los frascos conteniendo los granos de trigo se esterilizaron en autoclave durante una hora por dos días consecutivos, al día siguiente se realizó la siembra de *Trichoderma* spp. sobre los granos de trigo, para ello se

utilizaron pinzas estériles, cinco discos de PDA de 0.5 cm de diámetro conteniendo micelio de *Trichoderma* spp. (7 días de desarrollo) fueron colocadas en cada uno de los frascos. Los frascos sembrados con *Trichoderma* se incubaron a una temperatura de 30 °C durante tres días, para posteriormente colocarlas a temperatura ambiente y bajo luz artificial (40 Watts) durante siete días, quedando listos para su uso en las pruebas de invernadero.

3.4.3 Preparación del inóculo de *F. oxysporum* f sp *lycopersici* y de *V. dahliae*.

La preparación del inóculo se realizó en trigo y sacarosa. En un recipiente con agua se remojó el trigo durante 24 horas, se escurrió y se dejó en reposo durante 12 horas para posteriormente colocar 25 g de trigo y 5 g de sacarosa en cada uno de los 28 frascos de vidrio de 250 ml, los cuales fueron esterilizados por 30 minutos por dos días consecutivos; se dejó enfriar el sustrato de trigo y sacarosa para luego inocular separadamente con trozos de agar colonizados con *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *V. dahliae* de dos semanas de edad. Los frascos se colocaron en una mesa a temperatura ambiente con luz normal por dos a tres semanas (Pitt & Hocking 1997). De cada patógeno se tuvieron 2 frascos y 24 frascos de *Trichoderma* spp.

3.4.4 Preparación del material vegetal

La planta experimental utilizada fue tomate (*Lycopersicon esculentum* Mili.) para lo cual a la semilla se le realizó una prueba de germinación, que consistió en colocar 100 semillas bien distribuidas sobre papel especial para

germinación, las cuales se colocaron en cajas petri, posteriormente se introdujeron a la germinadora a una temperatura de 28 °C por 8 días. Se tomaron datos de las semillas germinadas a los 4 y 8 días expresando el resultado como porcentaje de germinación.

3.4.5 Aplicación de los microorganismos

La incorporación de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *V. dahliae* y *Trichoderma* se realizó antes de la siembra, utilizando 2.5 g de inóculo de cada uno de los microorganismos, el cual se incorporó uniformemente haciendo una mezcla homogénea en la arena, la cual se dejó en reposo durante una semana para la posterior siembra de la semilla de tomate.

3.4.6 Siembra en macetas.

Se utilizaron vasos de unicel con una capacidad de 500 g en los cuales se colocaron 400 g de arena sin esterilizar; en cada vaso se sembraron cinco semillas de tomate con una distribución homogénea y equidistante, a una profundidad en relación a la superficie del suelo de 2 cm.

3.4.7 Selección de los aislamientos de *Trichoderma*

De los 45 aislamientos obtenidos, se seleccionaron 12 para su evaluación como antagonistas. Los aislamientos seleccionados fueron los que mostraron mayor crecimiento a los 7 días y que mostraron características diferentes de crecimiento (Cuadro 4).

Cuadro 4. Aislamientos de *Trichoderma* seleccionados para su evaluación. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

No. de tratamiento Aislamiento	Código de asignado seleccionado
T1	Si1
T2	Rn1
T3	Vf4
T4	Lf1
T5	Rol
T6	Vf8
T7	Hi1
T8	Hi4
T9	Ral
T10	E2
T11	P2
T12	Sal

Estos tratamientos se usaron para ambos fitopatógenos.

3.4.8 Diseño experimental

El diseño experimental realizado fue un completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento.

3.4.9 Evaluación

Se realizaron observaciones a los 8, 15 y 30 días después de la siembra registrando la longitud de tallo, número de plantas germinadas, plantas enfermas y plantas muertas. A los 30 días, las plantas que sobrevivieron se extrajeron de los recipientes y se evaluaron los siguientes parámetros: longitud de raíz y peso total de planta.

El experimento tuvo una duración de 4 semanas, en dicho período la temperatura promedio fue de 25 °C, con una mínima y máxima de 20 a 30 °C respectivamente.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN 4.1

Aislamientos de especies nativas de *Trichoderma*

En las 86 muestras de suelo colectadas de huertos de nogal en la Comarca Lagunera, se aislaron 45 cepas de *Trichoderma* spp utilizando el método de siembra directa del suelo sobre el medio de cultivo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Aislados de *Trichoderma* spp obtenidos por sitio de muestreo. UAAAN-UL.

Torreón, Coah. 2007.

Huerto	Localidad	No. de aislados	Código de aislamientos
1	Rancho Ana	3	Ra1, Ra2, Ra4
2	La partida	3	P1, P2, P3
3	Lácteos Florida	4	Lf1, Lf2, Lf3, Lf4
4	San Antonio	2	Sal, Sa2
5	Las Villas	5	V1, V2, V3, V4, V5
6	La encantada	8	E1, E2, E3, E4, E5, E6, E7, E8
7	El Perú	4	Pe1, Pe2, Pe3, Pe4
8	Huerto Narro	8	Hn1, Hn2, Hn3, Hn4, Hn5, Hn6, Hn7, Hn8
9	Recreativo natividad	1	Rn1
10	Huerto Inifap	2	Hi1, Hi2
11	San Isidro	1	Sil
12	Rodeo	4	Ro1, Ro2, Ro3, Ro4

4.2 Identificación de las especies de *Trichoderma*

Las especies de *Trichoderma* encontradas expresadas en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Especies de *Trichoderma* Torreón, Coah., 2007. seleccionadas para éste estudio. UAAAN-UL

Especie	Cepa	Características
		Colonias color verde, crecimiento rápido, arriba de 9 cm de diámetro en 5 días, a 20° C en agar-avena.
<i>T. harzianum</i>	Vf4, Hi1, E2, P2, Sal y Ral	Hitas hialinas, conidioforos con ramificación compacta. Conidios globosos a subglobosos, pared lisa de color verde olivo. Con un radio menor de 1.25, 2.8 a 3.2 X 2.5 a 2.8 um. Las colonias no tiñen el medio.
<i>T. koningii</i>	Hi4	Colonias de color amarillo a verde oscuro, crecimiento de 3 a 5 cm de diámetro en 5 días, a 20° C en agar-avena. Conidioforos con ramificación abierta. Conidios de pared lisa, elipsoidales u oblongas 3.0 a 4.8 X 1.9 a 2.8 um con base truncada fialides regularmente dispuestas en numero de 3 o mas.
<i>T. pseudokoningii</i>	Rol, Lf1	Las colonias presentan un crecimiento de 3 a 5 cm de diámetro en 5 días, a 20° C en agar-avena. Puede ser confundido con <i>T. Koningii</i> por tener conidios y fialidas similares, pero en esta especie las fialides en su mayor parte surgen lateralmente e individuales; los <u>conidioforos son largos en vez de piramidal.</u>

En el cuadro anterior se observan que la especie que se presentó con mayor frecuencia en cepas aisladas de la Comarca Lagunera es *T. harzianum*.

4.3 Prueba *in Vitro*

La forma e intensidad antagónica *in vitro* constituye una prueba inicial para poder determinar el tipo de interferencia por las características que presenta dicho enfrentamiento en cada uno de los aislamientos. Además la prueba *in vitro* brinda una aproximación para estudios subsiguientes de sistemas biológicos de control de enfermedades (Alipi y Monaco, 1990).

4.3.1 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*

Los doce aislamientos de *Trichoderma* spp., manifestaron diferencia en el crecimiento micelial en cultivos duales con el aislamiento de *F. oxysporum* f. sp.

El análisis de varianza (Apéndice A1 y A2) realizado con las lecturas tomadas a las 48 y 72 horas en los aislamientos T9 y T11, correspondientes a *T. harzianum* fueron los de mayor crecimiento, diferenciándose significativamente con el resto de los aislamientos (Cuadro 7). **CUADRO 7. Diámetro de las colonias de *Trichoderma* spp en cultivos**

duales frente a *F.*

oxysporum f. sp. *lycopersici*, a las 48
Coah. 2007.

y 72 horas. UAAAN-UL. Torreón,

No.	Tratamientos	48 Hrs.	72Hrs
T1	(Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	3.57 cd	5.77 e
T2	(Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	3.15 d	5.75 e
T3	(Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	3.17 d	6.10 cde
T4	(Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	3.40 cd	5.90 de
T5	(Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	3.20 d	6.03 de
T6	(Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	4.10 b	5.87 de
T7	(Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	4.05 b	6.55 be
T8	(Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	4.05 b	6.25 cd
T9	(Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	5.40 a	6.97 ab
T10	(Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	3.75 be	6.05 de
T11	(Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	5.32 ab	7.05 a
T12	(Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i> + <i>F. oxysporum</i>)	3.17 d	5.72 e

* * Medias con la misma letra son estadísticamente iguales DMS (p<0.05)

lycopersici.

La velocidad de crecimiento presentada por las especies de *Trichoderma* spp es una de las razones de ser utilizados como antagonista, para el control de fitopatógenos (Cook y Baker 1983).

Las diferencias detectadas se asemejan a las obtenidas por otros autores, demostrando la variabilidad de la actividad antagónica de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp ya que bajo condiciones de laboratorio es capaz de presentar distintos grados de inhibición en *F. oxysporum* f. sp. *cucumerinum* y *F. oxysporum* f. sp. *dianthi* (Borda y Arbelaéz, 1993; Elias *et al.*, 1993).

4.3.2 *Verticillium dahliae*

El análisis estadístico (Apéndice A3 y A4) para las lecturas realizadas a las 48 y 72 horas muestra que existe diferencia significativa entre tratamientos por lo que se

CUADRO 8. Diámetro de las colonias de *Trichoderma* spp en cultivos duales frente a *Verticillium dahliae*. Lecturas a las 48 y 72 horas. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

No.	Tratamientos	48Hrs.	72 Hrs.
T1	(Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	3.5750 be	6.48 bed
T2	(Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	3.2500 be	7.13 a
T3	(Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	3.5750 be	7.10 a
T4	(Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	3.1250 cd	6.98 ab
T5	(Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	3.6750 be	6.13 d
T6	(Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	4.7000 a	7.10 a
T7	(Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	3.4750 be	6.48 bed
T8	(Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	2.5500 d	6.43 cd
T9	(Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	3.1000 cd	6.83 abe
T10	(Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	3.1250 cd	6.45 cd
T11	(Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	3.7250 be	6.45 cd
T12	(Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i> + <i>V. dahliae</i>)	3.8250 b	6.38 cd

* Medias con la misma letra son iguales en DMS ($p < 0.05$)

procedió a realizar una comparación de medias (Cuadro 8).

De acuerdo a la comparación de medias realizada para las lecturas tomadas a las 48 hrs, estadísticamente el mejor tratamiento fue el T6 que corresponde a *T. harzianum* al mostrar un mayor diámetro de crecimiento, mientras que el tratamiento T8 correspondiente a *T. koningii* fue el que presentó el menor diámetro de crecimiento. A las 72 hrs. Los mejores tratamientos estadísticamente fueron T2, T3, T6 y T9 que corresponden a *T. harzianum* y T4 correspondiente a *T. pseudokoningii* al mostrar un mayor diámetro de crecimiento; el que obtuvo un menor diámetro fue el T5 correspondiente a *T. pseudokoningii*.

Los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por Stefanova y Sandoval, 1995 que mencionan que *T. harzianum* ha mostrado ser un microparasito de *Fusarium spp*, *V. dahliae* Kleb *R. solani*, y *S. rolfsii*, entre otros patógenos.

4.4 Prueba en invernadero

4.4.1 *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*

En los doce tratamientos en estudio todas las semillas germinaron pero a los 15 días de la siembra en algunos tratamientos las plantas mostraron síntomas de la enfermedad provocada por *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Cuadro 9)

Cuadro 9. Semillas germinadas y plantas enfermas y sanas en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

Tratamientos	Semillas germinadas	plantas enfermas	plantas sanas
TO	20	13	7
T1	20	2	18
T2	20	3	17
T3	20	6	14
T4	20	0	20
T5	20	1	19
T6	20	0	20
T7	20	0	20
T8	20	0	20
T9	20	0	20
T10	20	3	17
T11	20	2	18
T12	20	2	18

4.4.1.1 Plantas sanas

Los 12 aislamientos de *Trichoderma* spp, estudiados resultaron estadísticamente superiores al testigo (Apéndice A5) al mostrar un mayor número de plantas sanas (Cuadro 10).

Cuadro 10. Efecto de *Trichoderma* sobre las plantas sobrevivientes de tomate sembradas en medio infestado con *Fusarium*.

UAAAN-UL, Torreón, Coah. 2007.

Tratamientos	Plantas sanas
T0	1.75 c
T1	4.50 a
T2	4.25 ab
T3	3.50 b
T4	5.00 a
T5	4.75 a
T6	5.00 a
T7	5.00 a
T8	5.00 a
T9	5.00 a
T10	4.25 ab
T11	4.50 a
T12	4.50 a

* Medias con la misma letra son estadísticamente iguales, DMS ($p < 0.05$)

Cuando *Trichoderma* spp, se aplica al suelo sobre *Fusarium* spp, se obtienen buenos resultados cuando crece sobre varios sustratos, entre ellos, granos de cereales, salvado del trigo, paja de arroz, cascara de arroz, aserrín o paja de cebada; incorporado al suelo, es capaz de controlar a *F. oxysporum* f. sp. *fragariae* que ocasiona pudrición en el cultivo de fresa (Moon *et al.*, 1995; Stefanova y Sandoval 1995).

4.4.1.2 Longitud de tallo

El análisis estadístico (Apéndice A6 y A7) para las lecturas de longitud de tallo alcanzada a los 8 y 15 días después de la siembra los tratamientos no mostraron diferencia significativa. Sin embargo para las lecturas de longitud de tallo alcanzadas a los 30 días después de la siembra (apéndice A8), en los tratamientos mostraron diferencia significativa con respecto al testigo por lo que se realizó la comparación de medias (Cuadro 11).

Cuadro 11 Longitud de tallo de las plántulas de tomate a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum* f. sp.

***lycopersici*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.**

Longitud de tallo	
Tratamientos	30 días
T0	2.93 e
T1	5.87 ab
T2	5.77 abe
T3	5.37 abed
T4	6.16 a
T5	4.65 d
T6	5.58 abe
T7	6.20 a
T8	5.17 bed
T9	4.56 d
T10	5.65 abe
T11	4.89 cd
T12	5.16 bed

* Medias con la misma letra son estadísticamente iguales, DMS ($p < 0.05$)

En el Cuadro 11 se observan que para longitud de tallo a los 30 días los mejores tratamientos fueron, T1, T2, T3, T6, T7 y T10 correspondiente *T. harzianum* y T4 correspondiente a *T. pseudokoningii*, los tratamientos que mostraron una menor longitud fueron T5 correspondiente a *T. pseudokoningii*, y T9 correspondiente a *T. harzianum* sin embargo estos superaron al testigo T0.

Alguno autores afirman que especies de *Trichoderma* han mostrado ser buenos estimuladoras de crecimiento en algunas especies de plantas como hortalizas por ejemplo tomate, pepino, berenjena, pimienta, rábano, lechuga, zanahoria, papa y algodón (Inbar *et al.*, 1994; Windham *et al.*, 1986).

4.4.1.3 Peso total de planta y longitud de raíz

El análisis estadístico (Apéndice A9) no detectó diferencia significativa para peso total de plantas. Sin embargo, existió diferencia significativa para longitud de raíz (Apéndice A10) en resultados obtenidos en cada uno de los

tratamientos evaluados de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum* f. sp.

lycopersici a los 30 días después de la siembra (Cuadro 12).

Cuadro 12. Peso total de la planta y longitud de raíz a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum* f.

***sp. lycopersici*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.**

Tratamientos	longitud de raíz
T0	8.81 e
T1	14.78 ab
T2	12.97 bed
T3	12.95 bed
T4	14.45 abe
T5	13.49 abcd
T6	12.82 bed
T7	15.09 a
T8	12.23 d
T9	12.47 cd
T10	13.40 abcd
T11	14.15 abcd
T12	13.15 abcd

* Medias con la misma letra son estadísticamente iguales, DMS ($p < 0.05$)

En el Cuadro 12 se observan, que en longitud de raíz los mejores tratamientos fueron T1, T7, T10, T11 y T12 que corresponden a *T. harzianum*, **14** y T5 corresponden a *T. pseudokoningii*, siendo estadísticamente iguales.

El tratamiento que presentó una menor longitud de raíz fue T8 correspondiente a *T. koningii* pero aun así superó al testigo.

Los aislamientos de *T. harzianum* y *T. pseudokoningii* y en menor proporción *T. koningii*, además de atacar el fitopatógeno, mostraron capacidad para promover el crecimiento de plantas y de raíz lo cual concuerda con Villegas (2005), quien menciona que *Trichoderma* spp además de ser un antagonista de fitopatógenos del suelo favorece el crecimiento de la planta, al ofrecer un mayor vigor germinativo a la semilla, mejor desarrollo de la raíz y mejor expresión fenotípica.

4.4.2 *Verticillium dahliae*

En los doce tratamientos de *Trichoderma* en estudio todas las semillas germinaron. Sin embargo a los 15 días después de la siembra en algunos tratamientos las plantas mostraron síntomas de la enfermedad provocada por *V. dahliae* (Cuadro

Cuadro 13. Semillas germinadas y plantas enfermas y sanas en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *V. dahliae*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

Tratamientos	Semillas germinadas	plantas plantas	
		enfermas	sanas
TO	20	1	19
T1	20	0	20
T2	20	1	19
T3	20	0	20
T4	20	2	18
T5	20	2	18
T6	20	0	20
T7	20	1	19
T8	20	0	20
T9	20	1	19
T10	20	0	20
T11	20	0	20
T12	20	0	20

13).

4.4.2.1 Plantas sanas

El análisis de varianza para plantas sobrevivientes (Apéndice A11) no detecto diferencia entre tratamientos.

4.4.2.2 Longitud de tallo

El análisis estadístico (Apéndice A12, A13) de longitud de tallo alcanzado a los 8 y 15 días no se detecto diferencia entre tratamientos con *Trichoderma* y testigo. Sin embargo en la longitud alcanzada a los 30 días

(Apéndice A14), existió diferencia estadística por lo que se realizó la comparación de medias (Cuadro 14).

Cuadro 14. Longitud de tallo de las plántulas de tomate a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *V. dahliae*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

<u>Tratamientos</u>	<u>Longitud de tallo</u>
T0	3.93 d
T1	5.92 be
T2	6.33 abe
T3	6.62 ab
T4	6.11 be
T5	6.51 ab
T6	6.24 abe
T7	6.97 a
T8	5.68 c
T9	6.55 ab
T10	6.14 be
T11	6.39 abe
T12	5.67 c

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales, DMS ($p < 0.05$)

En el cuadro 14 se observan que los tratamientos que alcanzaron una mayor longitud de tallo, siendo estadísticamente iguales, fueron T2, T3, T6, T7, T9 y T11 correspondientes a *T. harzianum* y, T5 que corresponde a *T. pseudokoningii*, los que mostraron una menor longitud fueron T8 (*T. koningii*) y T12 (*T. harzianum*) aun así superaron a el testigo.

4.4.2.3 Peso total de plantas y longitud de raíz

Todos los tratamientos mostraron diferencia significativa (Apéndice A15, A16) con respecto al testigo tanto para peso total de planta como para longitud de raíz (Cuadro 15).

Cuadro 15. Peso total de planta y longitud de raíz a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *V. dahliae*.

UAAAN-UL, Torreón, Coah. 2007.

Tratamientos	Peso de la planta	Longitud de raíz
T0	0.65 g	10.88 d
T1	2.07 ef	15.12 ab
T2	2.41 abcde	16.05 a
T3	2.67 abe	15.01 ab
T4	2.36 bede	14.34 abe
T5	1.98 ef	13.81 be
T6	2.78 ab	15.65 ab
T7	2.18 cdef	14.20 abe
T8	2.11 def	14.20 abe
T9	2.63 abcd	14.79 abe
T10	1.98 f	16.00 a
T11	1.81 f	13.02 c
T12	2.91 a	14.37 abe

Medias con la misma letra son estadísticamente iguales, DMS ($p < 0.05$)

Los tratamientos que mostraron mayor peso total de planta fueron T2, T3, T6, T9 y T12 que corresponden a *T. harzianum* siendo estadísticamente iguales y los tratamientos que presentaron menor peso fueron T10 y T11 correspondiendo a *T. harzianum* (cuadro 15). Sin embargo fueron mejores que el testigo. Los tratamientos que presentaron una mayor longitud de raíz fueron T1, T2, T3, T6, T7, T9, T10 y T12 correspondientes a *T. harzianum*, **14** (*T. Pseudokoningii*) y T8 correspondiente a *T. koningii* siendo estadísticamente iguales. El tratamiento que mostró menor longitud pero que superó al testigo fue T11, correspondiente a *T. harzianum*.

Los aislamientos de *T. harzianum*, *T. koningii* y *T. pseudokoningii*, mostraron capacidad para promover el crecimiento de plantas y raíz lo cual concuerda con Lindsey y Baker, (1967) quienes mencionan que rara vez se ha asociado a *Trichoderma* con enfermedades de plantas, al contrario, se considera un organismo benéfico para las mismas. La promoción del

crecimiento vegetal por parte de *Trichoderma* es un fenómeno que se ha observado en varios tipos de cultivos. Este fenómeno se manifiesta como una potenciación de la germinación de la semilla, floración más abundante, temprana e incremento de altura y peso de plantas (Chang y Baker, 1986).

5. CONCLUSIONES

En los aislamientos de *Trichoderma* obtenidos en suelo de la Comarca Lagunera se identificaron tres especies: *T. harzianum*, *T. koningii* y *T. pseudokoningii*. La especie más abundante es *T. harzianum*.

Existe actividad antagónica de las especies identificadas contra *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, sobresaliendo la especie *T. harzianum*. Sin embargo se puede decir que todas las cepas mostraron actividad antagónica.

Los aislamientos de *Trichoderma* estudiados no mostraron ser agresivos como antagonistas para el control de *V. dahliae*.

6. RESUMEN

Trichoderma spp es un hongo habitante natural del suelo que puede vivir como saprofito o como parásito sobre otros hongos. La presente investigación consistió en identificar y evaluar el efecto antagónico de cepas de *Trichoderma* spp nativas de la Comarca Lagunera frente a cepas de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *Verticillium dahliae*, fitopatógenos causantes de marchitez vascular en el cultivo de tomate. Se muestrearon 12 huertos nogaleros localizados en la Comarca Lagunera, obteniendo 86 muestras de las cuales se aislaron 45 cepas de *Trichoderma* spp de las que se seleccionaron 12 para la identificación morfológica con ayuda de claves taxonómicas y su evaluación como antagonistas, mediante enfrentamientos duales en laboratorio frente a los fitopatógenos. También se realizaron evaluaciones en macetas con arena infestada con los fitopatógenos por separados e inoculada con *Trichoderma*; colocadas bajo malla sombra 75%. Se evaluaron los 12 aislamientos y un testigo, con cuatro repeticiones, utilizando plantas de tomate para evaluar la actividad antagónica de *Trichoderma*. Los aislamientos fueron identificados como *T. harzianum*, *T. koningii* y *T. pseudokoningii*, obteniendo en mayor proporción la especie *T. harzianum*. Las 3 especies de *Trichoderma* mostraron actividad inhibitoria en el control de *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* tanto en las pruebas *in vitro* como en maceta. En el control de *V. dahliae* las especies mostraron ser poco agresivas.

7. LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1999. Fitopatología. 2da. Edición México Editorial Limusa. México. 425-431 pp.
- Ahmad, J.S. and R. Baker. 1988. Growth of rhizosphere-competent mutants of *Trichoderma harzianum* on carbón substrates. Can. J. Microbiol. 34: 807-814.
- Altomare, C, W.A. Norvell, T. Bjorkman, and G.E. Harman. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Appl. Environ. Microbiol. 65: 2926-2933.
- Alippi H. y Monaco C. 1990. Antagonismo de hongos fitopatógenos y saprobios en suelos hortícolas. Revista Argentina de Microbiología, 22: 90-93
- Barak, R., Y. Elad, D. Mirelman, and I. Chet. 1985. Lectins: a possible basis for a specific recognition in the interaction of *Trichoderma* and *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology 75: 458-462.
- Barnett, H.L. and F.L. Binder. 1973. The fungal host-parasite relationship. Annu. Rev. Phytopathol. 11: 273-292.
- Bell, D.K., H.D. Wells, and C.R. Markham. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology 72:379-382.
- Benhamou, N. and I. Chet. 1993. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. Phytopathology 83: 1062-1071.
- Benítez, T., J. Delgado-Jarana, A.M. Rincón, M. Rey, and C. L.M. 1998 Bío fungicidas: *Trichoderma* as a biocontrol agent against phytopathogenic fungi. In: Recent Research Developments in Microbiology. Vol. 2. Pandalai, 8.G. (ed). Trivandrum: Research Signpost, pp. 129-150.
- Bjorkman, T., L.M. Blanchard, and G.E. Harman. 1998. Growth enhancement of shrunken-2 sweet corn by *Trichoderma harzianum* 1295-22: effect of environmental stress. J. Am. Soc. Hort. 123: 35-40.
- Borda, F., y Arbeláez, G. 1993. Determinación del antagonismo del aislamiento T 95 de *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. *cucumerinum* en plantas de pepino cohombro. Agronomía Colombiana 10: 45-51.

- Buchert, J., T. Oksanen, J. Pere, M. Siika-aho, A. Suurnakki, and L. Viikari. 1998. Application of *Trichoderma reesei* enzymes in the pulp and paper industry. In: *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 2. Harman, GE. and Kubicek, CP. (eds). London: Taylor & Francis.
- Butt, T. M., C.W. Jackson, and N. Magan. 2001. Introduction- Fungal Biological Control Agents: Progress, Problems and Potential. In: *Fungi as Biocontrol Agents. Progress, problems and potential*. Butt, T.M., C.W. Jackson and N Magan. (eds). Wallingford, UK.: CABI Publishing. pp. 1-8.
- Chang, Y.C. and R. Baker. 1986. increased growth in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. *Plant Dis.* 76: 60-65.
- Chet, I.G.E. Harman, and R. Baker. 1981. *Trichoderma hamatum*: its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microb. Ecol.* 7; 29-38.
- Chet, I. 1990. Mycoparasitism: recognition, physiology and ecology. In: *New directions in biological control: Alternatives for suppressing agricultural pests and diseases*. Barker, R.R. and Dunn, P.E. (eds). NewYork, pp. 211-235.
- Chet, I. and J. Inbar. 1994. Biological control of fungal pathogens. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 48: 3743.
- Chet, I. 1993. *Biotechnology in Plant Disease Control*. Wiley-Interscience, New York, 372 p.
- Cook, R.J. and K.F. Baker. 1983. *The nature and practice of biological control of plant pathogens*. The American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota, USA. 539 p.
- De Mayer, G., J. Bigirmana, Y. Elad, and M. Hófte. 1998. Induced systemic resistance in *Trichoderma harzianum* T39 bicontrol of *Botrytis cinérea*. *Eur. J. Plant.Pathol.* 104: 279-286
- Dean, J.F.D., H.R. Gamble, and J.D. Anderson. 1989. The ethylene biosynthesis-inducing xylanase: its induction in *Trichoderma viride* and certain plant pathogens. *Phytopathology* 79: 1071-1078.
- Delgado-Jarana, J., M.A. Moreno-Montes, and T. Benitez. 2003. Glucose uptake in *Trichoderma harzianum*: role of gtt1. *Eukaryot. Cell* 2: 708-717.
- Di Pietro, A., M. Lorito, C.K. Hayes, R.M. Broadway, and GE. Harman. 1993. Endochitinase from *Gliocladium virens*: isolation, characterization, and synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. *Phytopathology* 83: 308-313.

- Domsch, K. H; W. Gams, T.H. Anderson. 1980. Compendium of soil fungi. Volume 1. Academic Press. London. New York. Toronto. Sydney. San Francisco. 795-809p.
- Elad, Y., Chet. I. y Henis, Y. 1982. Degradation of plant pathogenic fungi by *Trichoderma harzianum*. Can. J. Microbiol 28: 719-725
- Elad, Y., R. Barak, and I. Chet. 1983. Possible role of lectins in mycoparasitism. J. Bacteriol. 154: 1431-1435.
- Elad, Y., R. Barak, and I. Chet. 1984. Parasitism of sclerotia of *Sclerotium roifsii* by *Trichoderma harzianum*. Soil Biol. Biochem. 16: 381-386.
- Elad, Y. and A. Kapat. 1999. The role of *Trichoderma* protease in the biocontrol of *Botrytis cinérea*. Eur. J. Plant Pathol. 105: 177-189.
- Elias, R., Arcos, O., y Arbeláez, G. 1993. Estudio del antagonismo de algunas especies de *Trichoderma* aisladas de suelos colombianos en el control de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. Agronomía Colombiana, 10: 52-61.
- Enkereli, J., G. Félix, and T. Boller. 1999. The enzymatic activity of fungal xylanase is not necessary for its elicitor activity. Plant Physiol. 121:391-397.
- Esposito, E. and M. da Silva. 1998. Systematics and environmental application of the genus *Trichoderma*. Critical Reviews in Microbiology 24: 89-98.
- Galante, Y. M., A. De Conti, and R. Monteverdi. 1998. Application of the *Trichoderma* enzymes in the textile industry. En: *Trichoderma* ^*Gliocladium*. Vol. 2 Harman, G.E. y Kubicek, C. P. (eds) London: Taylor & Francis.
- Gobierno del Estado de Coahuila (GEC). 2004. Municipio de Torreón [En línea]. www.coahuila.gob.mx. [consulta 10 de enero del 2004].
- Gams, W. and J. Bisset. 1998. Morphology and identification of *Trichoderma* & *Gliocladium* Vol. 1 Harman, G.E. and CP. Kubicek, (eds). London, pp. 101-127.
- Hananaia, U. and A. Avni. 1997. High-affinity binding site for ethylene-inducing xylanase elicitor on *Nicotiana tabacum* membranes. Plant J. 12: 113-120.
- Handelsman, J. and EV. Stabb. 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *PlantCell* 8: 1855-1869.

- Harán, S., H. Schickler, and I. Chet. 1996a. Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. Microbiology 142: 2321-2331.
- Harán, S., H. Schickler, A. Oppenheim, and I. Chet. 1996b. Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. Phytopathology 86: 980-985.
- Harman, G.E., A.G. Taylor, and TE. Stazs. 1989. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix priming to improve biological seed treatments. Plant Dis 73: 631-637.
- Harman, G.E, Latorre, B., Agosin, E., Martin, R. S., Riegel, D. G., Nielsen, P. A., Tronsmo, A. y Pearson, R. C, 1996. Biological and integrated control of Botrytis bunch rot of grape using *Trichoderma* spp. Biol. Control 7: 259-266.
- Hernández, H., V. 2002. Manejo integrado de enfermedades en el cultivo del algodón. Memorias del IV curso regional de aprobación en el control de plagas del algodón. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad Laguna. Departamento de Parasitología. Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria. Dirección General de Sanidad Vegetal. Sistema Nacional de aprobación Fitosanitaria. Torreón, Coahuila, México. 20-22 de Mayo del 2002.
- Herrera-Estrella, A. y Carsolio, C. 1998. Medio ambiente, control biológico y hongos parásitos. Avance y perspectiva 17: 195-204.
- Hjeljord, L. and A. Tronsmo. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. En *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 2. Harman, G.E. and C.P. Kubicek, (eds).London, pp. 131-152.
- Howell, C.R. and R.D. Stipanovic. 1995. Mechanisms in the biocontrol of *Rhizoctonia solani* induced cotton seedlings disease by *Gliocladium virens*: antibiosis. Phytopathology 85: 469-472.
- Inbar, J. and I. Chet, 1992. Biomimics of fungal cell-cell recognition by use of lectin-coated nylon fibers. J. Bacteriol.174: 1055-1059.
- Inbar. J., M. Abramsky, D. Cohén, and I. Chet. 1994 Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. European Journal of Plant Pathology 100: 337-346.

- Inbar, J., A. Menéndez, and I. Chet. 1996. Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in biological control. *Soil Bio. & Biochem.* 28: 757-763.
- Jonson, F. L. and E. A. Curl. 1972. Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens. United States of America, pp 195,196.
- Kuhls, K., E. Lieckfeldt, G.J. Samuels, W. Kovacs, O. Petrini, W., Gams, T. Borner, and C.P. Kubicek. 1996. Molecular evidence that the asexual industrial fungus *Trichoderma reesei* is a clonal derivative of the ascomycete *Hypocrea jecorina*. *Proc Natl. Acad. Sci. USA.* 93: 7755-7760.
- Lewis, J. A. and G. Papavizas. 1984. Chlamydospore formation by *Trichoderma* spp. In natural substrates. *Can. J. Microbiol.* 30: 1-7.
- Lieckfeldt, E., K. Kuhls, and S. Muthumeenakshi. 1998. Molecular taxonomy of *Trichoderma* and *Gliocladium* and their teleomorphs. En: *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 1 Harman, G.E. y Kubicek C. P. (eds). London, pp. 101-127.
- Lindsey, D. L. and R. Baker. 1967. Effects of certain fungi on dwarf tomatoes grown under gnotobiotic conditions. *Phytopathology* 57: 1262-1263.
- Lorito, M., S. L. Woo, M. D. D'Ambrosio, G. E. Harman, C. K. Hayes, C. P. Kubicek, and F. Scala. 1996. Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. *Molec. Plant-Microbe Interact.* 9:206-213.
- Lumsden, R. D., J. C. Locke, S. T. Adkins, J. F. Walter, and C. J. Ridout. 1992. Isolation and localization of the antibiotic gliotoxin produced by *Gliocladium virens* from alginate prill in soil and soilless media. *Phytopathology* 82: 230- 235.
- Martínez, C, F. Blanc, E. Le Claire, O. Besnard, M. Nicole, and J. C. Baccou. 2001. Salicylic acid and ethylene pathways are differentially activated in melón cotyledons by active or heat-denatured cellulose from *Trichoderma longibrachiatum*. *Plant Physiol.* 127: 334-344.
- Meera, M. S., M. B. Shivanna, K. Kageyama, and M. Hyakumachi. 1994. Plant growth promoting fungi from zoysiagrass rhizosphere as potential inducers of systemic resistance in cucumbers. *Phytopathology* 84: 1399-1406.
- Moon, B.J., Chung, H.S., y Park H.C 1995. Studies on antagonism of *Trichoderma* species to *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* V. *Biological*

- Control of Fusarium wilt of strawberry by a mycoparasite, *Trichoderma harzianum*. Korean Journal Plant Pathology, 11: 298-303.
- Neethling, D. and H. Nevalainen. 1996. Mycoparasitic species of *Trichoderma* produce lectins. Can. J. Microbiol. 42: 141-146.
- Nelson, E. E., M. H. Pearce, and N. Malajczuk. 1995. Effects of *Trichoderma* spp. and ammonium sulphamate on establishment of *Armillaria luteobubalina* on stumps of *Eucalyptus diversicolor*. Mycol. Res. 99: 957-962.
- Papavizas, G. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. Annu. Rev. Phytopathol. 23: 23-54.
- Pitt J.I., and A. D. Hocking. 1997. Fungi and Food Spoilage. 2nd ed. Blackie Academic & Professional. London. cap. 4.
- Rehner, S. A. and G. J. Samuels. 1994. Taxonomy and phylogeny of *Gliocladium* analyzed from nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. Mycol. Res. 98: 625-634.
- Ridout, C. J., J. R. Coley-Smith, and J. M. Lynch. 1986. Enzyme activity and electrophoretic profile of extracellular protein induced in *Trichoderma* spp. by cell walls of *Rhizoctonia solani*. J. Gen. Microbiol. 132: 2345-2352.
- Rifai, M. A. 1969. A revisión of the genus *Trichoderma*. Mycol. pp. 116:1.
- Rosen, D., M., Edelman, E. Galun, and D. Danon. 1974. Biogénesis of mitochondria in *Trichoderma viride*. Structural changes in mitochondria and other spores constituents during conidium maturation and germination. J. Gen. Microbiol. 83: 31-49.
- Schirmbock, M., M. Lorito, Y. L. Wang, C. K. Hayes, I. Arísan-Atac, F. Scala, G. E. Harman, and C. P. Kubicek. 1994. Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. Appl. Environ. Microbiol. 60: 4364-4370.
- Shanmugam, V., S. Sriram, S. Babu, R. Nandakumar, T. Raguchander, P. Balasubramanian, and R. Samiyappan. 2001. Purification and characterization of an extracellular alpha glucosidase protein from *Trichoderma viride* which degrades a phytotoxin associated with sheath blight disease in rice. J. Appl. Microbiol. 90: 320-329.
- Sitio Oficial del Ayuntamiento de Torreón, Coahuila México (SOATCM). 2004. La ciudad de Torreón [En línea], www.torreón.gob.mx. [consulta 10 de enero del 2004].

- Sivan, A. y Chet, I. 1989. The possible role of competition between *Trichoderma harzianum* and *Fusarium oxysporum* on rhizosphere colonization. *Phytopathology* 79: 198-203.
- Sivan, A., y Chet, I. 1993. Integrated control of *Fusarium* crown and root rot of tomato with *Trichoderma harzianum* in combination with methyl bromide or soil solarization. *Crop Protection* 12: 380-386.
- Sivasithamparan, K. and E. L. Guisalberty. 1998. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. En *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 2 Harman, G. E. y Kubicek, C. P. (eds). London, pp. 139-192.
- Stefanova, N.M., y Sandoval, R.I. 1995. Efectividad de biopreparados de *Trichoderma* spp., en el control de fitopatógenos de suelo. *Boletín Técnico* 2: 10-22.
- Thrane, C, A. Tronsmo, and D. F. Jensen. 1997. Endo 1,3-B-glucanasa y cellulase from *Trichoderma harzianum*: purification and partial characterization, indución of and biological activity against plant pathogenic *Pythium* spp. *Eur. J. Plant. Pathol.* 103: 331-344.
- Villegas, M. A. 2005, *Trichoderma* pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible.
<http://www.or.usbiotecnologia.com/site/index.php?id=20.66.0.0.1.0> [21 de Julio del 2006].
- Weindling, R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other fungi. *Phytopathology* 22: 837
- Whipps, J.M. and R.D. Lumsden. 2001. Commercial Use of Fungi as Plant Disease Biological Control Agents: Status and Prospects. En: *Fungi as Biocontrol Agents. Progress, problems and potential*. Butt, T.M., C. W. Jackson and N. Magan, (eds). Wallingford, UK: CABI Publishing .
- Wilhite, S.E., R.D. Lumsden, and D.C. Straney. 1994. Mutational analysis of gliotoxin production by the biocontrol fungus *Gliocladium virens* in relation to supression of *Pythium* damping-off. *Phytopathology* 84: 816-821.
- Wilson, C.L., ME. Wisniewski, C.L. Biles, R. Mclaughlin, E. Chalutz, and S. Droby. 1991. Biological control of post-harvest diseases of fruits and vegetables: alternatives to synthetic fungicides. *Crop Protection* 10: 172.
- Windham, M.T., Elad, Y. and Baker, R. A .1986 Mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76: 518-521.

Yedidia, I., N. Benhamou, and I. Chet. 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. Appl. Environ. Microbiol. 65: 1061-1070.

Cuadro A.1. Análisis de varianza del diámetro de las colonias de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp en cultivos duales frente a *F. oxysporum* f sp *lycopersici*. Lecturas a las 48 horas. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F P>F
TRAT.	11	36.627991	3.052333	** 30.5451 0.000
ERROR	36	3.897217	0.099929	
TOTAL	47	40.525208		

C.V. = 8.45

Altamente significativo

Cuadro A.2. Análisis de varianza del diámetro de las colonias de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp en cultivos duales frente a *F. oxysporum* f sp *lycopersici*. Lecturas a las 72 horas. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F P>F
TRAT.	11	9.943359	0.828613	** 8.3834 0.000
ERROR	36	3.854736	0.098839	
TOTAL	47	13.798096		

C.V. = 5.12

Altamente significativo

Cuadro A.3. Análisis de varianza del diámetro de las colonias de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp en cultivos duales frente a *Verticillium dahliaie*. Lecturas a las 48 horas. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F P>F
TRAT.	11	12.150085	1.104553	** 5.4471 0.000
ERROR	36	7.299988	0.202777	
TOTAL	47	19.450073		

C.V. = 12.96

Altamente significativo

Cuadro A.4. Análisis de varianza de Diámetro de las colonias de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* spp en cultivos duales frente a *Verticillium dahliaie*. Lecturas a las 72 horas. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F P>F
TRAT.	11	5.238037	0.476185	3.5869 * 0.002
ERROR	36	4.779297	0.132758	
TOTAL	47	10.017334		

C.V. = 5.47

% *

APENDICE A

Cuadro A.5. Análisis de varianza del efecto de *Trichoderma* sobre las plantas sobrevivientes de tomate sembradas en medio infestado con *Fusarium*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	39.30769231	3.27564103	** 5.11	<0001
ERROR	39	25.00000000	0.64102564		
TOTAL	51	64.30769231			

C.V. = 18.26023 %

**Altamente significativo

Cuadro A.6. Análisis de varianza de la longitud de tallo a los 8 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum f sp lycopersici*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	1.06059231	0.08838269	Ns 2.09	0.0410
ERROR	39	1.64690000	0.04222821		
TOTAL	51	2.70749231			

C.V. = 13.05049%

Ns No

Cuadro A.7. Análisis de varianza de la longitud de tallo a los 15 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum f sp lycopersici*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	2.78071923	0.23172660	Ns 1.89	0.0670
ERROR	39	4.78722500	0.12274936		
TOTAL	51	7.56794423			

C.V. = 13.43251%

Ns No

Cuadro A.8. Análisis de varianza de la longitud de tallo a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum f sp lycopersici*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	36.08847692	3.00737308	**4.91	<0001
ERROR	39	23.87377500	0.61214808		
TOTAL	51	59.96225192			

C.V. =

Altamente significativo

Cuadro A.9. Análisis de varianza de peso total de la planta a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum f sp lycopersici*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	5.50192981	0.45849415	Ns2.08	0.0424
ERROR	39	8.60211250	0.22056699		
TOTAL	51	14.10404231			

C.V. = 24.90980

% Ns No

Cuadro A.10. Análisis de varianza de la longitud de raíz a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *F. oxysporum* f sp *lycopersici*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	118.4494077	9.8707840	*3.71	0.0011
ERROR	39	95.7751615	2.6604212		
TOTAL	51	242.4810077			

C.V. = 12.42072%

* Significativo

Ns No

Cuadro A.11. Análisis de varianza del efecto de *Trichoderma* sobre las plantas sobrevivientes de tomate sembradas en medio infestado con *V. dahliae*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	1.80769231	0.15064103	Ns 0.97	0.4918
ERROR	39	5.57692308	0.15491453		
TOTAL	51	8.05769231			

C.V. =

8.089634% Ns No

Cuadro A. 12. Análisis de varianza del longitud de tallo a los 8 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *V. dahliae*. UAAAN-UL.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	1.77167308	0.14763942	Ns 0.80	0.6518
ERROR	39	6.67808077	0.18550224		
TOTAL	51	8.88712308			

C.V. =21.83735%

Ns No

Cuadro A.13. Análisis de varianza del longitud de tallo a los 15 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *V. dahliae* . UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	1.92685769	0.16057147	Ns 0.59	0.8316
ERROR	39	9.71561923	0.26987831		
TOTAL	51	12.52940769			

C.V. =

Z: A

Cuadro A. 14. Análisis de varianza del longitud de tallo los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *V. dahliae* . UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	26.66772692	2.22231058	** 7.39	<0001
ERROR	39	10.81859615	0.30051656		
TOTAL	51	39.57665192			

C.V. =
Altamente significativo

Cuadro A. 15. Análisis de varianza de peso total de la planta a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *V. dahliae*. UAAAN-

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	16.08481923	1.34040160	** 12.83	<0001
ERROR	39	3.76207308	0.10450203		
TOTAL	51	20.72186923			

C.V. =
Altamente

Cuadro A.16. Análisis de varianza del longitud de raíz a los 30 días después de la siembra en los tratamientos de *Trichoderma* spp contra *V. dahliae*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRAT	12	90.56065769	7.54672147	** 3.86	0.0008
ERROR	39	70.3500038	1.9541668		
TOTAL	51	161.5347077			

C.V. =
Altamente