

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**



**ANTAGONISMO “IN VITRO” DE *Trichoderma* spp. SOBRE
Phytophthora capsici y *Phytophthora cinnamomi***

Por:

JUAN CARLOS GARCIA CORTEZ

TESIS

Presentada como Requisito Parcial para Obtener el Título de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Junio de 2008.

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA**

**ANTAGONISMO “IN VITRO” DE *Trichoderma* spp. SOBRE
Phytophthora capsici y *Phytophthora cinnamomi*.**

PRESENTADA POR:

JUAN CARLOS GARCIA CORTEZ

TESIS

Que se somete a consideración del H. Jurado Examinador como requisito
parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

APROBADA

Presidente del Jurado

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo

Vocal

Vocal

Dr. Gabriel Gallegos Morales

Dr. Mariano Flores Dávila

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

Dr. Mario Ernesto Vásquez Badillo

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México

Junio de 2008

AGRADECIMIENTOS

A DIOS. Por darme la oportunidad de vivir, darme las fuerzas necesarias para seguir adelante y ser mejor cada día, por guiarme en cada momento de mi vida y ser la luz que ilumina mi camino día a día, dios gracias por regalarme esta vida tan maravillosa en la cual me has permitido realizar este uno de muchos sueño tan hermosos.

A LA UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO.

Por abrirme sus puertas y darme la oportunidad de formarme como profesionista.

AL Dr. FCO. DANIEL HERNADEZ CASTILLO. Por su valiosa contribución y aportaciones en la asesoría y revisión del trabajo y por su apoyo desinteresado.

AL Dr. GABRIEL GALLEGOS MORALES. Por sus conocimientos aportados en la elaboración de este trabajo.

AL Dr. MARIANO FLORES DAVILA. Por brindarme su apoyo y disponibilidad en la asesoría de este trabajo de investigación.

M^a. CRISTINA SANCHEZ FLORES. Gracias por sus palabras de aliento y por su apoyo incondicional durante esta etapa de mi vida.

SILVIA OVALLE NAVA. Por su apoyo incondicional que día a día me brindo durante la realización de este trabajo, por la motivación de cada día.

A LOS MAESTROS. Que día con día comparten sus conocimientos con todos y cada uno de nosotros. Los cuales son fundamentales para desempeñarse profesionalmente.

A GREENCORP BIORGANIKS. Gracias por su disponibilidad y apoyo tanto de colaboradores e instalaciones de trabajo. Es una empresa dedicada a la investigación y aportaciones para el campo agrícola nacional y mundial.

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

OSVELIO GARCIA CRUZ
Y
MINERBA CORTEZ CASARRUBIAS

Por regalarme lo más hermoso que es la vida, por su cariño, amor, confianza y comprensión. Gracias por creer en mí, los amo, son mi orgullo, mi fuerza para seguir por el camino de la vida. Se que no hay palabras para agradecer todo lo que han hecho por mi dios los bendiga.

A MIS HERMANAS:

YANEDIT
XOCHILHT
NAYELI

Por su apoyo, motivación y confianza que me brindaron para terminar mis estudios profesionales.

A MIS ABUELITOS:

MAXIMINO GARCIA GARCIA
Y
EMELIA CRUZ ORTIZ

Que han sido una fuerza muy importante en toda mi vida y que con sus sabios consejos y ejemplos lograron hacer de mí una persona con valores y principios, los amo son los mejores abuelos del mundo, dios los cuide y bendiga por siempre.

A MIS TIOS:

OSMEL
RUBEN
EDILBERTO

Por su apoyo incondicional que día con día me brindaron, por sus palabras de aliento fueron muy importantes para poder realizar este sueño. A pesar de todos los obstáculos siempre estuvieron conmigo se que nunca terminaría de agradecer todo lo que hicieron por mi de corazón gracias dios los cuide siempre.

A MIS TIAS:

Por su amistad y apoyo que me brindaron durante todo este tiempo, sus consejos y palabras fueron parte esencial de este logro. Y muy especialmente a **MAURA** que ha sido como una madre para mí que siempre se preocupó por que yo saliera adelante.

A MIS PRIMOS (A): por ser una motivación muy grande, por todos esos momentos de alegría que me brindaron.

A TODOS LOS AMIGOS (A):

Los cuales siempre han sido parte de mi vida, y con los cuales he vivido grandes experiencias. Gracias por estar presentes demostrándome su apoyo y amistad.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Páginas
ÍNDICE DE CUADROS-----	VIII
ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE-----	IX
ÍNDICE DE FIGURAS-----	X
INTRODUCCIÓN-----	1
REVISIÓN DE LITERATURA-----	4
<i>Phytophthora capsici</i> -----	4
Importancia Económica-----	4
Ubicación Taxonómica-----	4
Etiología-----	5
Sintomatología-----	6
Epidemiología-----	6
<i>Phytophthora cinnamomi</i> -----	7
Importancia Económica-----	7
Ubicación Taxonómica-----	8
Etiología-----	8
Sintomatología-----	8
Epidemiología-----	9
Métodos de Control-----	10
Control Físico-----	10
Control Cultural-----	10
Control Genético-----	11
Control Químico-----	11
Control Biológico-----	12
Antecedentes e Importancia del Control Biológico-----	13
Género <i>Trichoderma</i> -----	14
Características Morfológicas-----	14
Importancia Económica-----	15
Mecanismos de Acción-----	15

Antagonismo-----	16
Micoparasitismo-----	16
Antibiosis-----	17
Compuestos Volátiles-----	17
MATERIALES Y METODOS-----	18
Ubicación del Experimento-----	18
Microorganismos Biológicos Evaluados-----	18
Incremento de Microorganismos-----	18
Actividad Antagónica-----	18
Compuestos Volátiles-----	19
Diseño Experimental-----	21
RESULTADOS Y DISCUSIÓN-----	22
Estudios de Antagonismo de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Phytophthora capsici</i> -----	22
Estudios de Compuestos Volátiles Producidos por <i>Trichoderma</i> sobre <i>Phytophthora capsici</i> -----	25
Estudios de Antagonismo de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Phytophthora</i> <i>cinnamomi</i> -----	28
Estudios de Compuestos Volátiles Producidos por <i>Trichoderma</i> sobre <i>Phytophthora cinnamomi</i> -----	31
CONCLUSIONES-----	35
LITERATURA CITADA-----	36
APÉNDICE-----	41

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Página
1. Traslape en centímetros del crecimiento micelial de 31 cepas de <i>Trichoderma</i> sobre el crecimiento micelial de <i>Phytophthora capsici</i> , días al primer contacto entre microorganismos y clases de antagonismo.-----	23
2. Porcentaje de inhibición de <i>Phytophthora capsici</i> por compuestos volátiles producidos por 31 cepas de <i>Trichoderma</i> a los ocho días después de la siembra en medio de cultivo PDA.-----	26
3. Traslape en centímetros del crecimiento micelial de 31 cepas de <i>Trichoderma</i> sobre el crecimiento micelial de <i>Phytophthora cinnamomi</i> , días al primer contacto entre microorganismos y clases de antagonismo.-----	29
4. Porcentaje de inhibición de <i>Phytophthora cinnamomi</i> por compuestos volátiles producidos por 31 cepas de <i>Trichoderma</i> a los 10 días después de la siembra en medio de cultivo PDA.-----	32

ÍNDICE DE CUADROS DEL APÉNDICE

Cuadro	Página
1A. Crecimiento micelial en centímetros de 31 cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Phytophthora capsici</i> , a los dos días después de la siembra en medio de cultivo PDA.-----	42
2A. Análisis de varianza del crecimiento micelial de 31 cepas de <i>Trichoderma</i> sobre el crecimiento micelial de <i>Phytophthora capsici</i> .-----	42
3A. Porcentaje de inhibición en centímetros de <i>Phytophthora capsici</i> por compuestos volátiles producidos por 31 cepas de <i>Trichoderma</i> a los 10 días después de la siembra en medio de cultivo PDA.-----	43
4A. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de compuestos volátiles producidos por 31 cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Phytophthora capsici</i> .----- -----	43
5A. Crecimiento micelial en centímetros de 31 cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Phytophthora cinnamomi</i> , a los tres días después de la siembra en medio de cultivo PDA -----	44
6A. Análisis de varianza del crecimiento micelial en centímetros de 31 cepas de <i>Trichoderma</i> sobre el crecimiento micelial de <i>Phytophthora cinnamomi</i> .-- -----	44
7A. Porcentaje de inhibición en centímetros de <i>Phytophthora cinnamomi</i> por compuestos volátiles producidos por 31 cepas de <i>Trichoderma</i> a los 10 días después de la siembra en medio de cultivo PDA. -----	45
8A. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de compuestos volátiles producidos por 31 cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Phytophthora cinnamomi</i> .--	45

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Página
1.	Confrontación <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma-Phytophthora</i> .-----	19
2.	Traslape de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Phytophthora</i> .-----	19
3.	Cajas inoculadas con el antagonista y el fitopatógeno en el ensayo de compuestos volátiles.-----	20
4.	Máximo efecto antagónico de <i>Trichoderma</i> sobre <i>P. capsici</i> (Cepa 15).-	24
5.	<i>Trichoderma</i> cubriendo tres cuartas partes del medio de cultivo (cepa 26).-----	24
6.	Crecimiento micelial de <i>Phytophthora capsici</i> sin antagonista.-----	24
7.	<i>Trichoderma -Phytophthora capsici</i> colonizando aproximadamente la mitad del medio de cultivo sin dominar uno al otro.-----	24
8.	Máximo efecto de inhibición micelial de <i>P. capsici</i> por compuestos volátiles producidos por <i>Trichoderma</i> .-----	27
9.	Efecto mínimo de inhibición micelial de <i>P. capsici</i> por compuestos volátiles producidos por <i>Trichoderma</i> .-----	27
10.	Comparación del efecto de inhibición por compuestos volátiles producidos por <i>Trichoderma</i> sobre <i>P. capsici</i> .-----	27

11.	Máximo efecto de traslape de <i>Trichoderma</i> sobre <i>P. cinnamomi</i> (cepa 12).-----	30
12.	Mínimo efecto de traslape de <i>Trichoderma</i> sobre <i>P. cinnamomi</i> (cepa 15) -----	30
13.	Crecimiento micelial de <i>Phytophthora cinnamomi</i> sin antagonista.-----	30
14.	Máximo efecto de inhibición del desarrollo micelial de <i>P. cinnamomi</i> por compuestos volátiles producidos por <i>Trichoderma</i> .-----	33
15.	Mínimo efecto de inhibición del desarrollo micelial de <i>P. cinnamomi</i> por compuestos volátiles producidos por <i>Trichoderma</i> .-----	33
16.	Desarrollo micelial de <i>P. cinnamomi</i> sin presencia de compuestos volátiles producidos por <i>Trichoderma</i> .-----	33

INTRODUCCION

Las especies de *Phytophthora* causan varias enfermedades en muchos tipos de plantas, desde plántulas de hortalizas anuales o de ornato hasta árboles forestales y frutales. La mayoría de las especies del hongo producen pudriciones de la raíz, ahogamiento de plántulas y pudriciones de tubérculos, de la base del tallo y de otros órganos. Algunas especies ocasionan pudriciones de yemas o de frutos y algunas de ellas producen tizones que atacan al follaje, ramitas inmaduras y frutos. Algunas especies son específicas al hospedante, es decir, sólo atacan a una o a dos especies de plantas, pero otras tienen una amplia gama de hospedantes y pueden causar síntomas similares o distintos en muchos tipos de plantas hospedantes. Las pudriciones de la raíz por *Phytophthora* dañan a sus hospedantes en casi cualquier parte del mundo donde la temperatura se mantiene casi siempre baja (entre 15 y 23 °C) y el suelo es lo suficientemente húmedo como para permitir el desarrollo normal de las plantas susceptibles a ese hongo (Agrios, 2005).

Pérez *et al.* (2003) menciona que las pérdidas que ocasiona *Phytophthora capsici* en el cultivo de chile a nivel nacional son de entre 10 y 60 % hasta de un 100% de mortalidad. En México, los rendimientos son bajos debido al ataque de agentes fitopatógenos, principalmente por *P. capsici* (Rico *et al.*, 2004). *Phytophthora cinnamomi* es uno de los principales problemas en la producción de aguacate, llega a originar pérdidas totales en los huertos en zonas donde se cultivan (López *et al.*, 1999; Sánchez, 2000).

Existen varias medidas para aminorar el daño de estos patógenos utilizando de forma conjunta métodos de control de estas enfermedades, como son: el control cultural, el control físico o mecánico, modificaciones genéticas, el ecológico, el control químico y más recientemente, empleando agentes biológicos (García, 1996; Guigón y González, 2004). La manera tradicional de combatir estas enfermedades se basa en el empleo de compuestos químicos (control químico), los cuales se caracterizan por una elevada eficacia y por una gran rapidez en el control, sin

embargo, su utilización en ocasiones desmedida ha dañado el medioambiente, algunos son tóxicos inespecíficos que eliminan junto con los organismos fitopatógenos, otros organismos benéficos; en otros casos inducen resistencia en los patógenos hacia los plaguicidas (Lagunas *et al.*, 2001; Casimiro *et al.*, 2005).

Lagunas *et al.* (2000) reportan evaluaciones de aislamientos de cepas *Phytophthora capsici* “*in vitro*” a dosis subletales de Metalaxyl y observaron que los aislamientos desarrollaron resistencia al fungicida. El Metalaxyl es un producto específico contra *Phytophthora cinnamomi* y otras algas fitopatógenas; sin embargo, su efectividad disminuye con el tiempo debido a la resistencia que el hongo desarrolla hacia el fungicida (Téliz, 2000). La utilización masiva de compuestos químicos, ha provocado un gran interés en la búsqueda de sistemas de control alternativos. En este sentido, una estrategia que esta dando un buen resultado es la utilización de microorganismos que son antagonistas de los agentes infecciosos y que desplazan a éstos de una manera natural (control biológico) (Rey *et al.*, 2000). Entre los antagonistas estudiados contra patógenos de suelo causantes de enfermedades como secadera, pudrición de raíz y de la corona, marchitez vascular, entre otras, se ha evaluado con éxito a: *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Penicillium*, *Bacillus*, *Sporidesmium* y *Verticillium*. Los hongos más utilizados para biocontrol de la secadera y pudriciones radiculares son los Hyphomycetes y entre ellos los géneros *Trichoderma*, *Penicillium* y *Gliocladium* (Michel *et al.*, 2004).

El género *Trichoderma* posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo, principalmente de los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* entre otros. Las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos, debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores. Los mecanismos por los que las cepas del género *Trichoderma* desplazan al fitopatógeno son fundamentalmente de tres tipos. Competición directa por espacio o por los nutrientes,

producción de metabolitos antibióticos, ya sea de naturaleza volátil o no volátil y parasitismo directo de determinadas especies de *Trichoderma* sobre hongos fitopatógenos (Ezziyyani *et al.*, 2004; Casimiro *et al.*, 2005). Las especies de *Trichoderma* son típicamente depredadoras de hongos de suelo como *Rhizoctonia*, además son capaces de producir enzimas que degradan la pared celular de varios hongos fitopatógenos y de producir sustancias que estimulan el crecimiento y producción de cultivos agrícolas (Samaniego, 2000).

Objetivo.

Determinar la actividad antagonista *in vitro* de 31 cepas de *Trichoderma* spp. sobre *Phytophthora capsici* y *Phytophthora cinnamomi*.

Hipótesis.

Al menos una cepa de *Trichoderma* mostrara algún efecto antagonista sobre *P. capsici* y *P. cinnamomi*.

El mecanismo de acción de algunas cepas de *Trichoderma* spp. sobre *P. capsici* y *P. cinnamomi* en las confrontaciones será por competencia y antibiosis.

REVISION DE LITERATURA

Phytophthora capsici.

Importancia Económica

Este agente fitopatógeno, fue encontrado por primera vez en Nuevo México, E.U.A., atacando a cultivos de chile. En México fue descubierto por Galindo (1956) atacando plantaciones de chile en los campos de la Escuela Nacional de Agricultura de Chapingo, México, en los años siguientes se encontró en calabaza y calabacita en la misma región por Romero-Cova (1988) (Cruz *et al.*, 2000; Lagunas *et al.*, 2001).

P. capsici L. es el principal causante de la marchitez del chile de plantas en etapas de prefloración y en estado de maduración del fruto; se le ha encontrado responsable a nivel nacional de la disminución de los rendimientos ocasionando pérdidas considerables bajo condiciones de lluvias frecuentes (Romero, 1996). Algunos componentes de esta interacción planta-patógeno se han identificado, como la capsicina, una lecitina producida por *P. capsici* y enzimas involucradas en la síntesis de fitoalexinas en *Capsicum annuum* L. sin embargo, poco se conoce de las bases moleculares de la patogenicidad de este hongo (Bailey *et al.*, 2001).

Ubicación Taxonómica

De acuerdo a Alexopoulos *et al.* (1996) se ubica de la siguiente manera:

Reino: Stramenopila

División: Oomycota

Clase: Oomycetes

Orden: Peronosporales

Familia: Pythiaceae

Género: *Phytophthora*

Especie: *capsici*

Etiología

P. capsici produce esporangios de forma elipsoidal en cuyo interior se diferencian varias esporas biflageladas o zoosporas. Las oosporas o esporas de origen sexual son esféricas o subesféricas. *P. capsici* también forma clamidosporas o esporas de resistencia a las condiciones adversas. Éstas son también esféricas (Nuez *et al.*, 2003). El ciclo biológico de este patógeno inicia con la germinación de las oosporas mediante un tubo germinativo que termina en un esporangio después de haber pasado su período de reposo (Ramírez *et al.*, 1980).

El micelio es bien desarrollado, con hifas cenocíticas y robustas. Los esporangios son ramificados y generalmente ovoides, piriformes, limoniformes, elipsoides, esféricos o irregularmente elongados, con papilas prominentes, simples y apicales, algunas veces con mas de tres y variablemente dispuesta; su germinación normalmente es por zoosporas y bajo condiciones especiales por tubos germinativos. El tamaño del esporangio es extremadamente variable midiendo de 35 a 85 μ . Es una especie con oogonios esféricos, terminales; anteridios claviformes, terminales, anfígenos, oosporas lisas y apleróticas (Alexopoulos *et al.*, 1996).

La enfermedad se caracteriza por la presencia de zoosporas de tipo A1 o A2 capaces de nadar en agua y responsables en buena medida de la diseminación e infección del alga, o pueden existir dos micelios compatibles (A1 y A2) y aparearse para formar las oosporas, o continuar con el ciclo asexual formando esporangios en los tejidos infectados para luego liberar zoosporas y continuar con el ciclo siguiente, dentro del cual el agua de riego juega un papel importante, ya que, además de ser capaz de diseminar el inoculo en el campo, su exceso favorece el desarrollo de la enfermedad, siendo los ataques mas graves en riegos a pie que en riego por goteo. Los embalses y los canales de riego pueden estar contaminados, siendo esta una posible vía de entrada del fitopatógeno en la parcela de cultivo (Ramírez *et al.*, 1980; Gómez, 2000).

Sintomatología

P. capsici puede provocar daños en cualquier parte de la planta y en cualquier estado de desarrollo. La podredumbre del cuello y la subsiguiente marchitez rápida son los síntomas más característicos. En el cuello de la planta enferma puede observarse una zona anular deprimida color negrusco que afecta primero los tejidos corticales y posteriormente a los vasculares. Esta lesión se desarrolla tanto en sentido ascendente como descendente a partir del punto de infección y termina produciendo la asfixia de la planta. Este fenómeno se produce de una forma rápida de modo que las hojas se muestran colgantes, pero conservando inicialmente su color verde. Infecciones a partir de puntos más altos en la planta, también han sido señaladas, pero suelen ser menos frecuentes. En estos casos se producen por salpicaduras de gotas de agua portadoras de zoosporas que pueden germinar sobre tallos, hojas y frutos, en éstos a través de la inserción peduncular o de heridas (García, 1996; Nuez *et al.*, 2003).

Epidemiología

P. capsici puede sobrevivir en el suelo por medio de clamidosporas (esporas de conservación que dan origen a las infecciones primarias) o sobre restos vegetales. En efecto, el alga puede vivir saprofiticamente sobre los restos descompuestos de la planta; con los riegos sucesivos, produce esporangios y zoosporas que distribuidas por el agua van difundiendo la enfermedad (Nuez *et al.*, 2003). *P. capsici* es un fitopatógeno sumamente agresivo a una temperatura óptima de 25 a 28°C y alta humedad, ya que puede destruir campos enteros de chile, calabaza, pepino, tomate, berenjena, etc., en un tiempo muy corto, debido a su gran velocidad de crecimiento y abundante esporulación (Romero, 1996; Pérez *et al.*, 2004).

Phytophthora cinnamomi

Importancia Económica

P. cinnamomi fue descrito por Rands en 1922 en árboles de canela (*Cinamomum burmanii*) en Sumatra, y posteriormente se ha reportado en 67 países reconociéndose como uno de los patógenos de plantas más cosmopolitas y destructivos. Su acción se intensifica en terrenos húmedos, escasos en oxígeno y a una temperatura de 25-30°C, siendo esta especie la de mayor rango de hospederos y la de más distribución en el mundo (Edwin *et al.*, 1996).

En 1927 se observó por primera vez en Puerto Rico atacando aguacate, en 1940 se informa de su existencia en Sudáfrica, para 1942 fue aislado de aguacate en California, y para 1951 se le encontró en Honduras y en México. El origen de este patógeno ha sido controversial, ya que se ha considerado nativo de Sudamérica, Sudeste Asiático y Sudeste Australiano (Zentmyer, 1976); sin embargo, Gallegos (1983) supone que fue llevado de Australia a Centroamérica, Hawaii, México, Guatemala y California con las primeras introducciones de 1871. La pudrición de raicillas ocasionada por *P. cinnamomi* ha sido encontrada en casi toda área donde se cultiva esta especie frutal (Zentmyer *et al.*, 1994).

P. cinnamomi es un parásito facultativo y cosmopolita, es decir, es un habitante natural de la mayoría de los suelos de todo el mundo; se alimenta de restos de cosecha en descomposición, pero bajo condiciones favorables puede atacar raíces vivas y cuello de más de 600 plantas de interés económico para el hombre incluyendo piña, durazno, manzano, mango, macadamia, papaya, azaleas, pino, ciprés, eucalipto y encino, entre otras (Téliz, 2000).

Ubicación Taxonómica

De acuerdo Alexouopoulos, *et al.* (1996) se ubica de la siguiente manera:

Reino: Stramenopila

División: Oomycota

Clase: Oomycetes

Orden: Peronosporales

Familia: Pythiaceae

Género: *Phytophthora*

Especie: *cinnamomi*

Etiología

P. cinnamomi presenta micelio cenocítico, muy toruloso, con vesículas globosas a piriformes, las hifas tienen un diámetro variable de 3.5 a 21.0 μm , la colonia micelial presenta aspecto de camelia, debido al crecimiento deprimido y algodonoso del micelio, que tiene lugar a intervalos regulares; esporangioforos simples o ramificados en simpodio. Las clamidiosporas son numerosas, esféricas, ovals, piriformes, frecuentemente en racimo. Los gametangios (anteridio y oogonio) se forman solo en cultivos duales entre aislamientos de aguacatero (A2) y aislamiento de papaya (A1); oogonios esféricos de 40 μm de diámetro, amarillo pálido al envejecer, anteridios subclaviformes largos de 21 x 23 x 17 μm y las oosporas casi llenan el oogonio. Las zoosporas tienen flagelos que les permiten nadar distancias cortas (25-35 mm) en agua o película de agua en los poros del suelo. Las zoosporas son de vida corta, pero se producen en números grandes y es probablemente la causa de las nuevas infecciones (Edwin *et al.*, 1996).

Sintomatología

El fitopatogeno vive en el suelo y pudre las puntas de raíces con diámetro menor de 5 mm produciendo una coloración café negruzca. Las raíces dañadas se

quiebran fácilmente. La absorción del agua y transporte ascendente se reduce y este es el origen de los síntomas en el follaje. La falta de agua también reduce la capacidad de las hojas para formar la clorofila, que les da el color verde y esto es causa de la clorosis o amarillamiento de las hojas. El fruto que se infecta por salpique de agua o contacto con el suelo infectado presenta una pudrición firme de coloración café o negro (Téliz, 2000).

Los síntomas externos son: decaimiento progresivo del árbol, las hojas, son pequeñas, pálidas o amarillentas y a menudo se marchitan. Ocurre una defoliación progresiva de los árboles, con carencia de nuevos crecimientos y disminución en la producción de frutos, los cuales son pequeños y de mala calidad; las ramas se secan y se defolian en la copa. Las raíces primarias y secundarias se vuelven quebradizas con coloraciones rojizas-castañas, por lo que la destrucción lenta del sistema radicular lleva finalmente a la muerte del árbol (Ochoa, 2006).

Epidemiología

Las clamidosporas actúan como "semillas" de propagación y son resistentes a condiciones adversas del ambiente como sequía, temperaturas bajas, falta de alimento, etc. (Téliz, 2000). El patógeno puede ser diseminado de varias maneras, como lo son; movimiento del suelo en vivero, agua, la que puede llevar zoosporas y otros propagulos e infectar trozos de raíces, y ocasionalmente por semillas provenientes de frutos infectados (Ochoa, 2006).

La humedad del suelo es un factor clave en el ciclo de la enfermedad, el alto contenido de humedad del suelo favorece la liberación de zoosporas desde los esporangios, el agua facilita el movimiento de las zoosporas hacia la superficie de las raicillas absorbentes. Así mismo, la liberación de exudados radiculares crea un gradiente quimiotáxico capaz de atraer un gran número de zoosporas (Ochoa, 2006). La atracción primaria es aparentemente por aminoácidos exudados de las raíces de esa área, siguiendo la atracción y enquistamiento de las zoosporas sobre raíces de

aguacate susceptibles y la invasión toma lugar a través de penetración inter e intracelular, las lesiones aparecen en 24 h y el micelio es encontrado a lo largo de las raicillas después de 72 h (Zentmyer *et al.*, 1994).

Métodos de Control

Control Físico

En la lucha contra fitopatógenos se utilizan algunas técnicas que involucran varios procesos. Estos pueden corresponder al área biológica, cultural, física o química, adscribiéndose al área del factor predominante, como es el caso de la solarización del suelo. La temperatura es un factor importante que ayuda a controlar microorganismos fitopatógenos, si se incrementa a 37 y 52 °C en los primeros centímetros del suelo que van de 0 a 10 cm y su acción se prolonga más abajo. La solarización del suelo estimula el crecimiento vegetal; debido a que las parcelas solarizadas contienen niveles más altos de nutrientes minerales solubles como nitrógeno amoniacal, nitrógeno nítrico, calcio y otros en comparación con suelos no tratados, esto ayuda al crecimiento rápido de microorganismos benéficos los cuales controlan a patógenos del suelo (De la Garza, 1996).

Control Cultural

Las prácticas culturales sirven para prevenir y disminuir la enfermedad. Entre esta se cita la nivelación del terreno para evitar encharcamientos; un buen control de riego, además de sembrar semilla certificada y/o desinfectada, usar plantas sanas y fuertes en el transplante, y cuando se presente la enfermedad, aislar y quemar las plantas enfermas y la eliminación total de los residuos (Laborde y Pozo, 1984; Gómez, 2000). También se sugiere seleccionar suelos con buen drenaje, erradicar las malezas, rotar cultivos, considerar fechas de siembra y ampliar espacios entre surcos (Romero, 1996). La fertilización adecuada puede ser una práctica que puede reducir la presencia de estos patógenos y reducir los daños en los cultivos. La rotación de cultivos en terrenos con alta infección, eliminar los residuos de cosecha,

utilizar plantas sanas y no dejar que el agua de riego inunde el suelo (Jaramillo, 2003).

Control Genético

Es el que se basa en la tolerancia o resistencia genética de las plantas aplicado a la agricultura, por lo tanto, es oportuno y estratégico la formación de materiales genéticos que presenten los niveles de producción cercanos a los híbridos, y que sean costeables por el bajo costo de la semilla, alto rendimiento y calidad de fruto, así como por la tolerancia a enfermedades (Acosta y Luján, 2004). La resistencia genética de plantas de Chile constituye la solución más práctica, duradera y económica para el control de *P. capsici* debido a que existen reportes tanto en el extranjero como en nuestro país de fuentes de resistencia (Delgadillo citado por Velasco, 2006). En México recientemente, se encontró una variedad de Chile "criollos de Morelos", con alta resistencia a *P. capsici* y buena compatibilidad con las variedades comerciales (poblano, mulato y ancho, etc.) a diferencia del Chile pasilla, el cual, aunque resistente no es compatible con las variedades comerciales (Romero, 1996). En el caso de *P. cinnamomi* el control genético se ha encontrado en porta injertos, resistentes al ataque del fitopatógeno como el Colin V-33, así como el uso actual de los cultivares de aguacate como el Fuerte y Hass utilizados a nivel mundial y en la actualidad no ha surgido un cultivar que desplace a estos (Mora *et al.*, 1994).

Control Químico

Esta basado en la aplicación de agroquímicos para el control de enfermedades, es decir, dependen del uso y la acción de una sustancia química que reduce la cantidad de inóculo del patógeno, por lo que comúnmente se utiliza el término fungicida para referirse a los productos químicos que controlan las enfermedades de las plantas (Pérez *et al.*, 2004). En los últimos años, se ha logrado un cierto control de las pudriciones de raíz y de la parte inferior del tallo ocasionadas por *Phytophthora* utilizando varios fungicidas sistémicos como el etridiazol, metalaxyl,

fosetyl de aluminio, azoxystrobin, ethazol y propamocarb los cuales se usan para tratar semilla o suelo en agua de riego (Agrios, 2005; Guillén *et al.*, 2006). García, (1996) menciona que entre las materias activas aplicadas a *P. capsici* el metalaxyl (Ridomil) y etridiazol (Terrazole) son las que mejor contrarrestan la enfermedad producida por el patógeno si se hacen mezclas como metalaxil en gránulos (Ridomil 5G) aplicando 20-40 kg por ha; y metalaxil en polvo mojable (Ridomil) en aplicaciones al cuello a las dosis de 0.1 -0.2 g de materia activa por L de caldo.

El control químico hace parte de las estrategias del manejo integrado de *Phytophthora capsici* y *P. cinnamomi*. El control químico puede estar enfocado a fungistáticos (inhiben la germinación de las esporas) o fungicidas que matan la espora, con acción erradicante, pero causan fototoxicidad. El desarrollo de fungicidas debe estar asociado a enzimas particulares y otros procesos bioquímicos que son únicos para Oomycetes, puesto que poseen una maquinaria bioquímica y molecular propia. Los Oomycetes no requieren esteroides para su crecimiento, no son sensibles a fungicidas que inhiben la síntesis de estos compuestos, como Triademefon, Triadimenol, Bitertanol y Propiconazol, es por eso que el Benomyl, es selectivo en bajas dosis para aislar *Phytophthora* (Jaramillo, 2003).

Control Biológico

El control biológico de patógenos en plantas es un área de investigación que se inicio a mediados del siglo pasado, y promete ser una de las formas aceptables en el control de las enfermedades de las plantas, debido al poco desequilibrio ecológico que ocasiona y al amplia posibilidad de usarse en programas de manejo integrado (Zavaleta, 1994). Baker y Cook 1974 definieron el control biológico en un sentido amplio como “la reducción de la densidad de inóculo o de las actividades inductoras de enfermedad de un patógeno o parásito en su estado activo o dormante, por uno o más organismos, que se logran de manera natural o a través de la manipulación del ambiente, el hospedero y/o antagonistas. En la naturaleza existe una interacción continua entre los potenciales patógenos y sus antagonistas de forma tal que estos

últimos contribuyen a que no haya enfermedad en la mayoría de los casos; es decir, el control biológico funciona naturalmente (Méndez, 2003; García, 2007). El control biológico de patógenos del suelo por la inducción de microorganismos ha sido estudiada por más de 65 años (Weller, citado por Velasco, 2006). El estudio de las interacciones antagónicas entre los hongos tales como micoparasitismo, lisis, inhibición, competencia, antibiosis y fungistasis son particularmente importantes en el control biológico de hongos fitopatógenos (Baker y Cook, citado por Velasco, 2006).

Actualmente se entiende por biocontrol la reducción de la intensidad o las actividades productoras de enfermedades de un patógeno o parásito, lograda mediante la manipulación del ambiente, del hospedero o de los antagonistas del patógeno o plaga que se quiere controlar. En este último caso el biocontrol consiste en la utilización de microorganismos naturales o modificados, para reducir los efectos de organismos indeseables, favoreciendo al mismo tiempo el desarrollo de los microorganismos beneficiosos para las plantas. Los microorganismos antagonistas comprenden cualquier organismo que interfiere en la supervivencia o desarrollo de los patógenos (Sid *et al.*, 1999).

El objetivo del biocontrol es el abatimiento o eliminación del organismo considerado como nocivo y se basa en interacciones negativas entre el agente de biocontrol y el patógeno (Lara *et al.*, 2007).

Antecedentes e Importancia del Control Biológico

La necesidad de reducir el uso de fungicidas químicos y productos fitosanitarios de síntesis ha dado paso al uso de microorganismos benéficos. En efecto, la demanda impuesta por la sostenibilidad está conducida al uso de estrategias que mantengan una protección del medio ambiente. En este contexto el uso de inóculos microbianos, incluyendo algunos que han sido modificados genéticamente, está cobrando nuevamente interés. Los microorganismos más usados pertenecen a los géneros *Rhizobium*, *Pseudomonas*, *Bacillus*, *Trichoderma*, *Streptomyces*, etc. (Sid *et al.*, 2000)

Género *Trichoderma*

Este hongo fue descrito por primera vez hace 200 años por los micólogos como un Gasteromiceto y un siglo después se realizó el análisis de su estructura y características para ser clasificado como un género entre los hongos filamentosos, con propiedades y actividades biológicas. Su habilidad como antagonista fue descubierta hace 50 años. El género *Trichoderma* se encuentra en suelos abundantes en materia orgánica, es aeróbico y pueden estar en los suelos con pH neutro hasta ácido. La versatilidad, adaptabilidad y fácil manipulación de los hongos del género *Trichoderma* ha permitido su uso en el control biológico. *Trichoderma* spp. Produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios, estas son activas contra fitopatógenos en diferentes fases del ciclo de vida, desde la germinación de las esporas hasta la esporulación. El micoparasitismo puede ocurrir mediante la penetración, engrosamiento de las hifas, producción de haustorios y desorganización del contenido celular. La competencia por el espacio y los nutrientes es más favorable, principalmente para los hongos que se desarrollan en la superficie de las hojas antes de efectuar la penetración, no actuando sobre aquellos que penetran rápidamente (Orietta *et al.*, 2001).

El género *Trichoderma* es un tipo de hongo anaerobio facultativo que se encuentra de manera natural en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. Pertenece a la subdivisión Deuteromicete que se caracterizan por no poseer, o no presentar un estado sexual determinado. De este microorganismo existen más de 30 especies, todas con efectos benéficos para la agricultura y otras ramas (Pérez, 2006).

Características Morfológicas

Este hongo crece y se ramifica en hifas que pueden oscilar entre 3 a 12 μm de diámetro, según las condiciones del sitio en donde se esté reproduciendo. El micelio se caracteriza por poseer hifas más o menos ramificadas, tabicadas y con más de un núcleo por célula. La esporulación asexual ocurre en conidios, los cuales son

unicelulares, de color verde, hialinos, poseen un solo núcleo haploide, son ovoide, generalmente tienen 3 a 6 μm de diámetro y se forman sobre estructuras muy ramificadas o conidióforos que a su vez se sitúan sobre células especiales denominadas fialidas. Conidióforos erectos o arrastrados, altamente ramificados, más o menos cónicos; al final del conidióforo las conidias se agrupan en forma de pelota. Las conidias son de distinto tamaño y forma, pueden ser subglobosas y ovoides. Comúnmente forman clamidosporas intercaladas o raramente terminales, las cuales pueden ser azules a verde. Como mecanismo de acción el *Trichoderma* al ser aplicado a las raíces, forma una capa protectora, haciendo una simbiosis, el hongo se alimenta de los exudados de las raíces y las raíces son protegidas por el hongo y al mismo tiempo reduce o elimina las fuentes de alimento del patógeno. *Trichoderma* actúa como una barrera para prevenir la entrada de patógenos a las raíces. Tienen una acción de hiperparasitismo, que es la acción del microorganismo que parasita a otro organismo de su misma naturaleza, es decir, lo utiliza como alimento y los destruye. Compete por espacio y nutrientes con los hongos patógenos (Trabanino *et al.*, 2003; Lisboa, 2003).

Importancia Económica

El principal beneficio de *Trichoderma* para la agricultura es el antagonismo de microorganismos patógenos de las plantas por su capacidad para producir secreciones enzimáticas tóxicas extracelulares que causan desintegración y muerte en hongos fitopatógenos que habitan el suelo (micoparasitismo), en la degradación de paredes celulares de las hifas de hongos patogénicos (depredación), en la producción de químicos volátiles y antibióticos antifungales que inhiben hongos basidiomicetos (amensalismo), en la colonización directa del hongo por penetración hifal (predación), en la competencia por oxígeno, nutrientes y espacio en el suelo y por su gran adaptabilidad y rápido crecimiento.

Mecanismos de Acción

Se han descrito varios mecanismos de acción de los antagonistas para controlar el desarrollo de patógenos. Algunos de estos son antibiosis, competencia

por espacio o por nutrientes, interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo y lisis enzimática) e inducción de resistencia. En general, los antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de estos es una característica importante para su selección como agentes de control biológico. Si el antagonista posee varios modos de acción reduce los riesgos de desarrollo de resistencia en el patógeno (Orietta *et al.*, 2001; Lara *et al.*, 2007).

Antagonismo

Todo organismo que se opone de alguna manera a la acción, presencia o supervivencia de otro, se considera que es un organismo antagonista. Esta relación antagónica puede manifestarse por antibiosis, lisis, reacciones inmunológicas, competencia, parasitismo y predación; siendo los más importantes en el control biológico de fitopatógenos el hiperparasitismo, la antibiosis y la competencia. El antagonismo es un fenómeno que se observa en microorganismos de suelo y en la rizósfera, los antagonistas producen antibióticos, los cuales actúan en competencia por nutrientes y/o inducen resistencia en el hospedero (De la Garza, 1996).

Micoparasitismo

El micoparasitismo es la acción de un microorganismo parasitando a otro y puede ser definido como una simbiosis antagónica entre organismos. Este consiste en la utilización del patógeno como alimento por su antagonista. Generalmente, están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasa, celulasa, Beta-1-3-glucanasa y proteasa, que lisan (rompen) las paredes de las hifas, o esclerocios de hongos parasitados (Orietta *et al.*, 2001; Méndez, 2003). *Trichoderma* se ha reportado como hiperparásito de un gran número de hongos fitopatógenos al atacar directamente y producir la lisis de micelio y también de esclerocios de hongos (Correa *et al.*, 2007).

Los hongos micoparasíticos fueron clasificados en dos grandes grupos: biotróficos (aquellos que mantienen una relación de equilibrio con el hospedero) y

necrotróficos (llamados también destructivos). Las enzimas son un componente de gran importancia en el micoparasitismo. Los mecanismos involucrados en este fenómeno poseen enzimas denominadas constitutivas que forman parte de su morfología y metabolismo, existen otras que son reguladoras en el micoparasitismo. Estas degradan la pared celular del hospedero (Lara *et al.*, 2007).

Antibiosis

Se refiere a la producción por parte de un microorganismo de sustancias tóxicas para otros microorganismos, las cuales actúan en bajas concentraciones (menores a 10 ppm.). La antibiosis se considera como uno de los principales mecanismos de biocontrol que tiene como base la producción de metabolitos tipo antibióticos. Estos se definen como “un grupo químicamente heterogéneo y de bajo peso molecular, secretados por algunos microorganismos que, en bajas concentraciones, demeritan el crecimiento o actividades metabólicas de otros organismos. El efecto de la antibiosis en los Oomycetos es por la inhibición del desarrollo al detener el crecimiento y deformación del tubo germinativo, lo que evita la proliferación de la enfermedad. La producción de antibióticos confiere a los microorganismos una ventaja selectiva en la competencia por nutrientes y espacio en cualquier nicho ecológico (Méndez., 2003; Lara *et al.*, 2007).

Compuestos Volátiles

Dal Bello *et al.* (1997) mencionan que *Trichoderma* posee mecanismos fungistáticos que impiden el desarrollo de los hongos fitopatógenos, así como la capacidad de especies de *Trichoderma* para sintetizar sustancias volátiles involucradas en el complejo responsable de ese fenómeno. Dichos componentes son; dióxido de carbono, etanol, acetaldehído, acetona, propanol, isobutanol e isopentanol, los cuales en diferentes concentraciones intervienen en la regulación del mecanismo fungistático.

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Experimento

El presente estudio se realizó en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila. Y en el Centro de Microbiología Aplicada (CEMAP) de la empresa GreenCorp Biorganiks.

Microorganismos Biológicos Evaluados

Se evaluaron 31 cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de suelo, semillas y plantas colectadas en diferentes Estados de México, identificadas y conservadas a 4 °C. Los hongos fitopatógenos, *P. capsici* y *P. cinnamomi* fueron aislados de raíces de chile y aguacate con síntomas de la enfermedad; identificadas a especie de acuerdo a las claves de (Erwin y Ribeiro, 1996) y conservadas a 4 °C. Los microorganismos fueron proporcionados por el laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Incremento de Microorganismos

Los microorganismos bajo estudio fueron incrementados en cajas Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA). Se depositó un explante de 5 mm de diámetro de *Trichoderma* en el medio de cultivo y se dejó a temperatura ambiente durante cuatro días; las cepas de *P. capsici* y *P. cinnamomi* se incubaron a una temperatura de 28 ± 2 °C, durante cinco días.

Actividad Antagónica

Se utilizó la técnica de Cherif y Benhamou (1990), estudiando cuantitativamente la zona de intersección o traslape entre el hongo antagonista y el

fitopatógeno. En cajas Petri con PDA se depositó en un extremo un disco de 5 mm de diámetro con micelio activo de colonias del fitopatógeno y en el otro extremo se colocó el explante de 5 mm de diámetro de *Trichoderma* spp. Las cajas se incubaron a 28 ± 2 °C y se observó cada 24 h para cuantificar el número de días al primer contacto entre el antagonista y el fitopatógeno (Figura 1); además se midió el crecimiento de ambas colonias y el diámetro de intersección y/o traslape (Figura 2). En base a lo que se observó en la intersección antagónica del hongo, el antagonismo se clasificó según la escala propuesta por Bell *et al.* (1982): Clase 1, *Trichoderma* sobrecrece completamente al patógeno y cubre totalmente la superficie del medio de cultivo; clase 2, *Trichoderma* sobrecrece las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo; clase 3, *Trichoderma* y el patógeno colonizan cada uno aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo y ningún organismo parece dominar al otro; clase 4, El hongo patógeno coloniza al menos 2/3 partes de la superficie del medio de cultivo y resiste la invasión por *Trichoderma*; clase 5, sobrecrecimiento del hongo patógeno que colonizó toda la superficie del medio de cultivo.

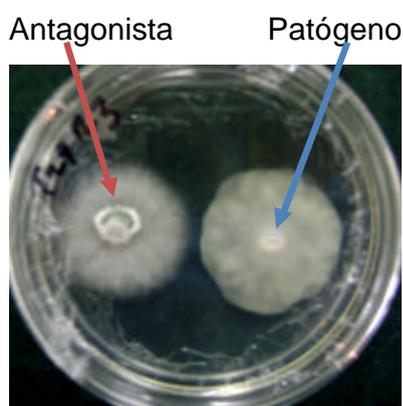


Figura 1. Confrontación “*in vitro*” de *Trichoderma-Phytophthora*.

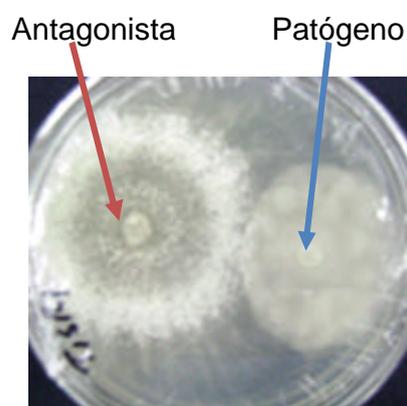


Figura 2. Traslape de *Trichoderma* sobre *Phytophthora*.

Compuestos Volátiles

En cajas Petri con PDA se depositó, un explante de 5 mm de diámetro de *Trichoderma* y se incubó a 28 ± 2 °C por 2 días. Una vez que pasaron los 2 días se

realizo el mismo procedimiento con *P. capsici* y *P. cinnamomi*, posteriormente con un sacabocados de 1.5 cm de diámetro se perforaron las tapas de las cajas Petri inoculadas con *Trichoderma* spp. de cada tratamiento, después se unieron las cajas inoculadas con el antagonista y el fitopatógeno (Figura 3), cabe mencionar que la caja Petri en la cual se depositó el explante del fitopatógeno se colocó sin tapa, sellándola con cinta kleen pack. La caja Petri que contiene el explante del fitopatógeno se colocó en la parte de abajo las primeras 24 h para que el explante se adheriera al medio de cultivo con su micelio evitando así que el explante caiga por el orificio a la caja Petri inoculada con *Trichoderma*, cuando esta se coloque a la parte superior procurando de esta forma que los compuestos que produzcan las cepas de *Trichoderma* en cada uno de los tratamientos pasen por el orificio a la caja donde se depositó el explante del fitopatógeno. Los tratamientos se mantuvieron en observación hasta que el testigo del fitopatógeno cubrió la caja Petri con medio de cultivo, y se midió el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno, en centímetros. Los datos se transformaron a porcentaje de inhibición del crecimiento micelial, considerando el crecimiento del Testigo como el 100%.

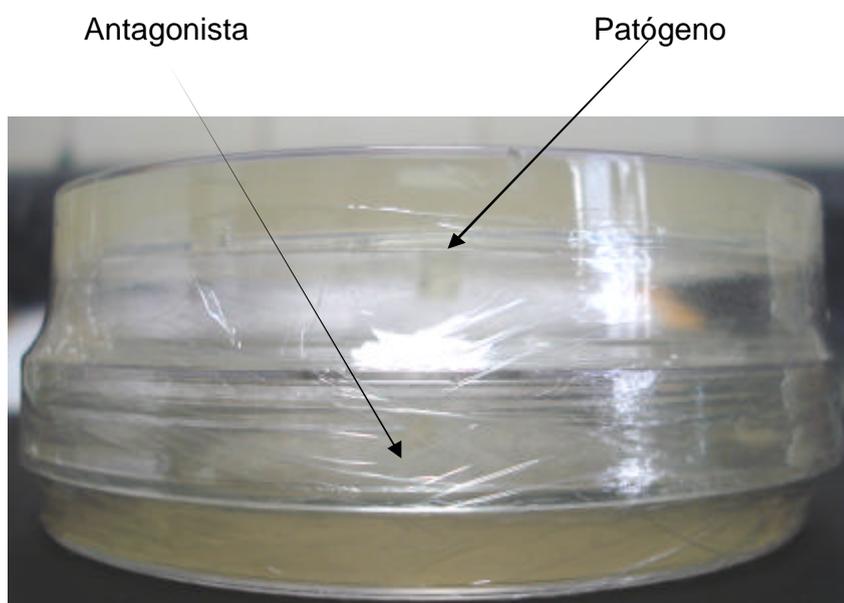


Figura 3. Cajas inoculadas con el antagonista y el fitopatógeno en el ensayo de compuestos volátiles.

Diseño Experimental

Para determinar el nivel de antagonismo de las cepas de *Trichoderma* sobre *Phytophthora capsici* y *Phytophthora cinnamomi* se aplicó un diseño experimental completamente al azar con 31 tratamientos (cepas de *Trichoderma*) y cuatro repeticiones. Se utilizó la prueba de medias Tukey al 0.05% de significancia. Para esto se analizó con el programa SAS versión 8, (Online Doc, 1999). El cual nos agrupa las medias y nos da el análisis de varianza.

.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Estudios de Antagonismo de *Trichoderma* sobre *Phytophthora capsici*.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ensayo de antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *P. capsici* se puede observar que existen diferencias en el desarrollo micelial de *Trichoderma* sobre *P. capsici* (traslape); este varía desde 5.0 a 2.3 cm (Cuadro 1). El análisis de varianza (Cuadro 2 del Apéndice) muestra que hay diferencia estadística entre los tratamientos. La prueba de medias indica que las cepas de *Trichoderma* 15, 18, 16, 14, 30, 4, 8, 17, 1, 2, 3, 19, 31, mostraron el máximo efecto de antagonismo y no tienen diferencia significativa entre sí. Los tratamientos 12, 7, 28, 6, 20, 5, 23, 13, 24, 22, 25, 21, 26 presentaron un mínimo efecto de antagonismo por tener menor traslape sobre el crecimiento de *P. capsici* (Cuadro 1). Los resultados obtenidos, indican que el mayor efecto de antagonismo se presentó en los tratamientos 15, 18, 16, 14 y 30 con 5.0 cm de traslape (Figura 4), y el mínimo efecto en el tratamiento 26 con 2.3 cm de traslape (Figura 5). El testigo es diferente estadísticamente al resto de los tratamientos ya que presenta un crecimiento de 8.5 cm (Figura 6). Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por Ezziyyani *et al.* (2004), quienes mencionan que *Trichoderma harzianum* mostró un alto nivel de antagonismo contra *P. capsici* con un desarrollo micelial de *P. capsici* menos denso y limitado por el antagonista. Estudios contra otros fitopatógenos muestran que algunas cepas de *Trichoderma* spp. inhiben el crecimiento de *Sclerotium rolfsii* en comparación con el testigo (Correa *et al.*, 2007). Reyes *et al.* (2007) mencionan que *Trichoderma harzianum* demostró una elevada actividad antagónica sobre *Rhizoctonia solani* y *Pyricularia grisea* al mostrar una colonización total sobre ambos patógenos.

Los días a contacto entre *Trichoderma* y *P. capsici* fue de dos días en todas las cepas estudiadas excepto en la cepa 12 donde el contacto entre los microorganismos fue de tres días (Cuadro 1). De acuerdo a la clasificación

de Bell *et al.* (1982), podemos clasificar a nuestras cepas en las siguientes escalas; 17 cepas de *Trichoderma* se ubicaron en la escala 1, donde el antagonista sobrecrece el micelio del fitopatógeno y cubre toda la superficie del medio de cultivo (figura 4) y 13 cepas de *Trichoderma* en la escala 2 donde *Trichoderma* cubre tres cuartas partes de la superficie del medio de cultivo (Figura 5), y solo 1 cepa se ubico en la clase 3 donde *Trichoderma* y el patógeno colonizan cada uno la mitad del medio de cultivo y ningún parece dominar al otro (Figura 7; cepa 12).

Cuadro 1. Traslape en centímetros del crecimiento micelial de 31 cepas de *Trichoderma* sobre el crecimiento micelial de *Phytophthora capsici*, días al primer contacto entre microorganismos y clases de antagonismo.

Tratamientos No. De Cepas	Traslape En cm	1	Día al Contacto	Clase 2
15	5.0	A	2	1
18	5.0	A	2	1
16	5.0	A	2	1
14	5.0	A	2	1
30	5.0	A	2	2
4	4.7	AB	2	2
8	4.7	AB	2	1
17	4.7	AB	2	1
1	4.7	AB	2	1
2	4.6	AB	2	2
3	4.5	AB	2	2
19	4.5	AB	2	1
31	4.4	AB	2	1
10	4.1	B	2	1
27	3.4	C	2	2
11	3.2	DC	2	1
29	3.1	DC	2	2
9	3.0	DCF	2	1
12	2.9	DEFG	3	3
7	2.8	DEFG	2	2
28	2.8	DEFG	2	2
6	2.7	DEFG	2	2
20	2.7	DEFG	2	1
5	2.6	DEFG	2	2
23	2.6	DEFG	2	1
13	2.5	EFG	2	1
24	2.5	EFG	2	1
22	2.5	FG	2	1
25	2.4	FG	2	2
21	2.4	FG	2	2
26	2.3	G	2	2

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales entre si.
2. Clase de antagonismo de acuerdo a Bell *et al.* (1982).

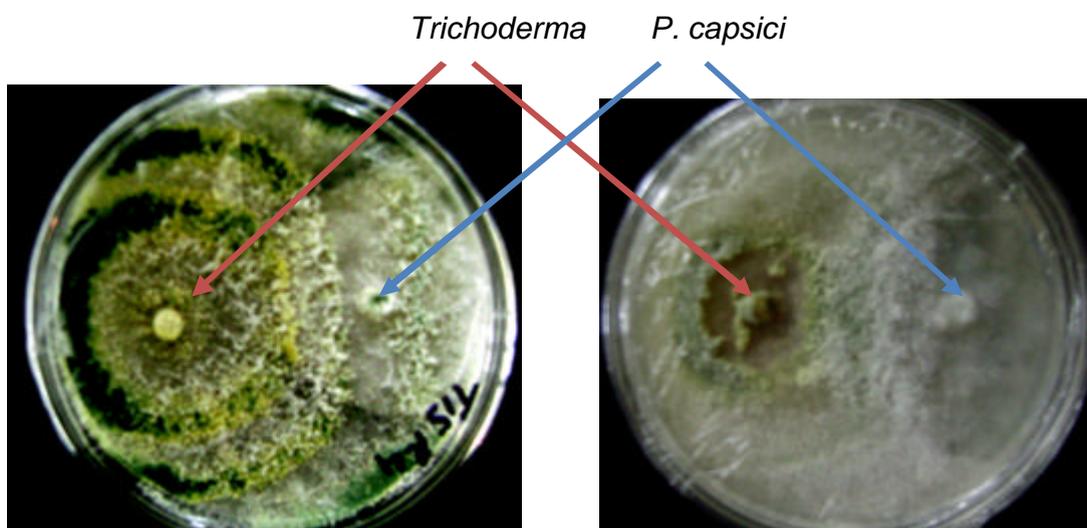


Figura 4. Máximo efecto antagónico de *Trichoderma* sobre *P. capsici* (Cepa 15).

Figura 5. *Trichoderma* cubriendo tres cuartas partes del medio de cultivo (cepa 26).

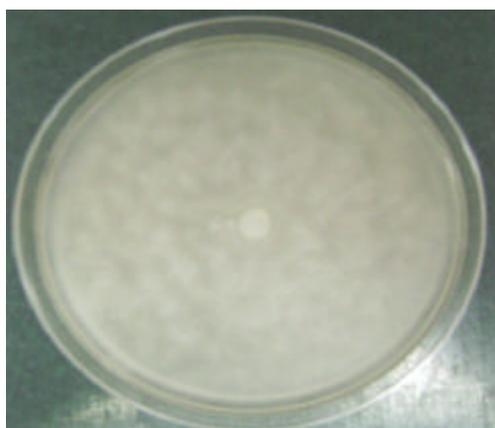


Figura 6. Crecimiento micelial de *Phytophthora capsici* sin antagonista.

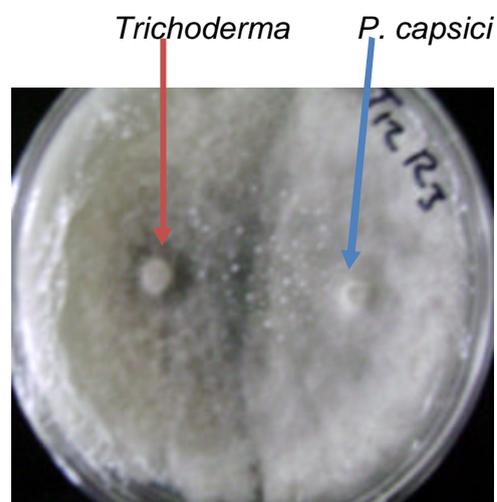


Figura 7. *Trichoderma* -*Phytophthora capsici* colonizando aproximadamente la mitad del medio de cultivo sin dominar uno al otro.

Estudios de Compuestos Volátiles Producidos por *Trichoderma* sobre *Phytophthora capsici*.

Los resultados obtenidos en el ensayo de compuestos volátiles producidos por *Trichoderma* sobre *P. capsici* muestran que algunas de las cepas estudiadas producen sustancias volátiles que inhiben el crecimiento micelial de *P. capsici*, desde un 48.8 a un 4.3 % de inhibición (Cuadro 2). El análisis de varianza muestra que hay diferencia estadística entre los tratamientos (Cuadro 4 del Apéndice). La prueba de medias indica que las cepas de *Trichoderma* 25, 24, 19, 27, 13, 26, 22, 6, 2, 5, 31, 12, 8, 1, 29, 20, 28, 7, 30, 10, 23 mostraron el mayor porcentaje de inhibición y no existe diferencia estadística entre si. Los tratamientos 8, 1, 29, 20, 28, 7, 30, 10, 23, 17, 3, 4, 21, 16, 14, 18, 15, 11, 9 presentaron los niveles más bajos de inhibición sobre *P. capsici* no mostrando diferencia significativa entre ellos (Cuadro 2). Sin embargo se puede observar que el mayor efecto de inhibición se presentó en el tratamiento 25 (Cuadro 2; Figura 8), y el mínimo efecto fue en el tratamiento 9 (Cuadro 2; Figura 9). El desarrollo del testigo fue de 8.5 cm (Figura 10). Estudios contra otros fitopatógenos muestran que cepas de *Trichoderma* produjeron metabolitos volátiles, los cuales provocaron un desarrollo micelial menos denso y reducción del tamaño de la colonia de *P. nicotianae*. (Stefanova *et al.*, 1999).

Dal Bello *et al.* (1997) mencionan que *Trichoderma* posee mecanismos fungistáticos, ya que algunas de las especies de *Trichoderma* sintetizan sustancias volátiles. Dichos componentes son; dióxido de carbono, etanol, acetaldehído, acetona, propanol, isobutanol e isopentanol, los cuales en diferentes concentraciones intervienen en la regulación del mecanismo fungistático.

Cuadro 2. Porcentaje de inhibición de *Phytophthora capsici* por compuestos volátiles producidos por 31 cepas de *Trichoderma* a los ocho días después de la siembra en medio de cultivo PDA.

Tratamientos No. de Cepas	% de inhibición	1
25	48.8	A
24	44.8	AB
19	41.0	ABC
27	40.0	ABC
13	39.8	ABC
26	39.0	ABC
22	38.0	ABC
6	35.8	ABC
2	35.0	ABC
5	32.5	ABCD
31	31.0	ABCD
12	30.3	ABCD
8	29.5	ABCDE
1	28.3	ABCDE
29	26.5	ABCDE
20	26.5	ABCDE
28	26.5	ABCDE
7	26.3	ABCDE
30	25.5	ABCDE
10	24.3	ABCDE
23	23.5	ABCDE
17	23.3	BCDE
3	22.5	BCDE
4	18.0	CDE
21	18.0	CDE
16	17.8	CDE
14	9.3	DE
18	8.5	DE
15	8.3	DE
11	8.0	DE
9	4.3	E

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales entre si.

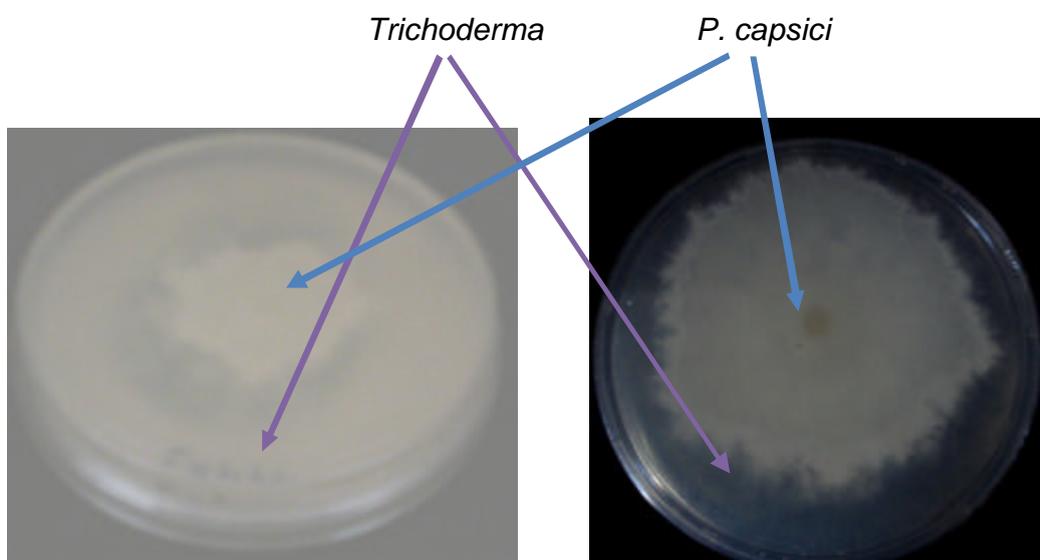


Figura 8. Máximo efecto de inhibición micelial de *P. capsici* por compuesto volátiles producidos por *Trichoderma*.

Figura 9. Efecto mínimo de inhibición micelial de *P. capsici* por compuestos volátiles producidos por *Trichoderma*.



Figura 10. Comparación del efecto de inhibición por compuestos volátiles producidos por *Trichoderma* sobre *P. capsici*.

Estudios de antagonismo de *Trichoderma* sobre *Phytophthora cinnamomi*.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ensayo de antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *P. cinnamomi* podemos observar que existen diferencias en el desarrollo micelial de *Trichoderma* sobre el crecimiento de *P. cinnamomi*; este varía desde 5.3 a 3.1 cm (Cuadro 3). El análisis de varianza muestra que hay diferencias estadísticas entre los tratamientos (Cuadro 6 del Apéndice). La prueba de medias indican que 24 de 31 expresan estadísticamente un valor similar en el traslape del micelio sobre el crecimiento de *P. cinnamomi* variando solo 1.2 cm entre la de mejor traslape (cepa 12) y la menor (cepa 30) (Cuadro 3). Los tratamientos 10, 22, 3, 25, 17, 16, 24, 9, 21, 18, 14, 4, 20, 29, 2, 7, 19, 30, 28, 6, 27, 26, 5, 13, 15 son los de menor efecto antagónico sobre *P. cinnamomi*. Los resultados obtenidos, indican que el mayor efecto de antagonismo se presentó en el tratamiento 12 (Figura 11), y el mínimo efecto fue en el tratamiento 15 (Figura 12). El testigo presenta un crecimiento micelial de 8.5 cm (Figura 13). Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por (López *et al.*, 1999) quienes mencionan que *Trichoderma* demostró un claro efecto antagónico contra *Phytophthora cinnamomi* y *Rosellinia necatrix*. Estudios contra otros fitopatógenos muestran que algunas cepas de *Trichoderma* presentan actividad antagónica sobre *Mycosphaerella fijiensis* (Arzate *et al.*, 2006).

Los días a contacto entre *Trichoderma* y *P. cinnamomi* fue de dos días en todas las cepas estudiadas (Cuadro 3). De acuerdo a la clasificación de Bell *et al.* (1982), podemos clasificar a nuestras cepas en la siguiente escala; 28 cepas de *Trichoderma* se ubicaron en la escala 1, donde *Trichoderma* cubrió completamente el medio de cultivo (Figura 11), y 3 cepas de *Trichoderma* en la clase 2, *Trichoderma* cubrió tres cuartas partes del medio de cultivo (Figura 12).

Cuadro 3. Traslape en centímetros del crecimiento micelial de 31 cepas de *Trichoderma* sobre el crecimiento micelial de *Phytophthora cinnamomi*, días al primer contacto entre microorganismos y clases de antagonismo.

Tratamientos	Traslape	1	Día al Contacto	Clase 2
12	5.3	A	2	1
11	4.7	A B	2	1
23	4.6	AB	2	1
31	4.6	AB	2	1
1	4.5	AB	2	1
8	4.5	AB	2	1
10	4.4	ABC	2	1
22	4.4	ABC	2	1
3	4.4	ABC	2	1
25	4.4	ABC	2	1
17	4.3	ABC	2	1
16	4.3	ABC	2	1
24	4.3	ABC	2	1
9	4.3	ABC	2	1
21	4.3	ABC	2	1
18	4.2	ABC	2	1
14	4.2	ABC	2	1
4	4.2	ABC	2	1
20	4.2	ABC	2	1
29	4.2	ABC	2	1
2	4.2	ABC	2	1
7	4.1	ABC	2	1
19	4.1	ABC	2	1
30	4.1	ABC	2	1
28	4.0	BC	2	1
6	3.9	BC	2	1
27	3.9	BC	2	1
26	3.8	BC	2	1
5	3.6	BC	2	2
13	3.6	BC	2	2
15	3.1	C	2	2

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales entre si.
2. Clase de antagonismo de acuerdo a Bell *et al.* (1982).

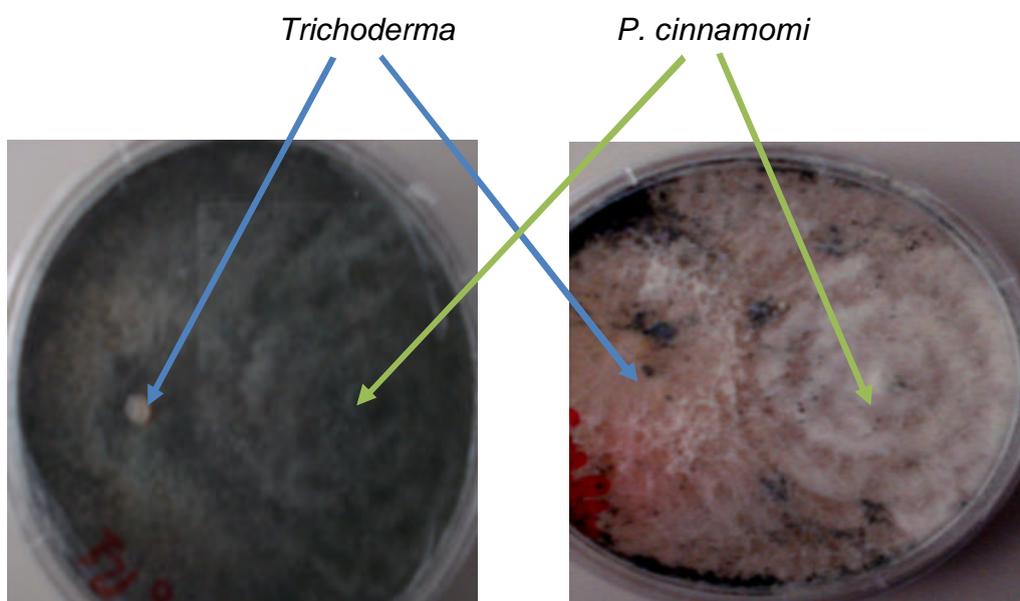


Figura 11. Máximo efecto de traslape de *Trichoderma* sobre *P. cinnamomi* (cepa 12).

Figura 12. Mínimo efecto de traslape de *Trichoderma* sobre *P. cinnamomi* (cepa 15).

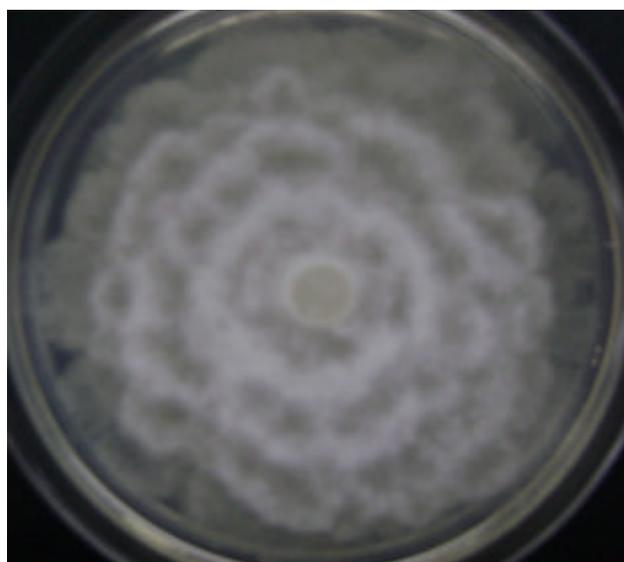


Figura 13. Crecimiento micelial de *Phytophthora cinnamomi* sin antagonista.

Estudios de compuestos volátiles Producidos por *Trichoderma* sobre *Phytophthora cinnamomi*.

De acuerdo a los resultados obtenidos en el ensayo de compuestos volátiles de *Trichoderma* sobre *P. cinnamomi* se observa que algunas cepas de *Trichoderma* tienen un gran efecto de inhibición micelial de *P. cinnamomi*; esta varía de un 100 a un 17.8 % de inhibición (cuadro 4). El análisis de varianza muestra que hay diferencia estadística entre los tratamientos (Cuadro 8 del Apéndice). La prueba de medias indica que las cepas de *Trichoderma* 7, 26, 19, 29 presentan el mayor efecto de inhibición, no presentando diferencia estadística significativa entre sí (Cuadro 4; Figura 14). Los tratamientos 14, 6, 8, 9, 28, 23, 10, 21, 5, 25, 15, 11, 30, 4, 27, 12, 2, 24, 1, 3 los cuales presentaron menores niveles de inhibición en el desarrollo micelial de *P. cinnamomi* y estadísticamente son iguales entre ellas (cuadro 4). Los resultados obtenidos, indican que el tratamiento 3 fue el que causó menos porcentaje de inhibición (Figura 15). El desarrollo micelial del testigo es de 8.5 cm (Figura 16).

Cuadro 4. Porcentaje de inhibición de *Phytophthora cinnamomi* por compuestos volátiles producidos por 31 cepas de *Trichoderma* a los 10 días después de la siembra en medio de cultivo PDA.

Tratamientos No. de Cepas	% de inhibición	1
7	100	A
26	70.5	AB
19	66.5	ABC
29	61.5	ABC
22	61.0	BCDE
13	60.0	BCDEF
31	59.0	BCDEFG
20	58.3	BCDEFG
18	58.3	BCDEFG
16	57.5	BCDEFGH
17	54.3	BCDEFGH
14	51.5	BCDEFGHI
6	51.3	BCDEFGHI
8	48.5	BCDEFGHI
9	47.5	BCDEFGHI
28	44.3	BCDEFGHI
23	43.5	BCDEFGHI
10	40.5	BCDEFGHI
21	40.3	BCDEFGHI
5	40.0	BCDEFGHI
25	37.5	BCDEFGHI
15	33.5	CDEFGHI
11	32.5	CDEFGHI
30	30.5	DEFGHI
4	27.8	DEFGHI
27	27.5	DEFGHI
12	26.5	EFGHI
2	26.0	FGHI
24	25.0	GHI
1	23.0	HI
3	17.8	I

1. Tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales entre si.

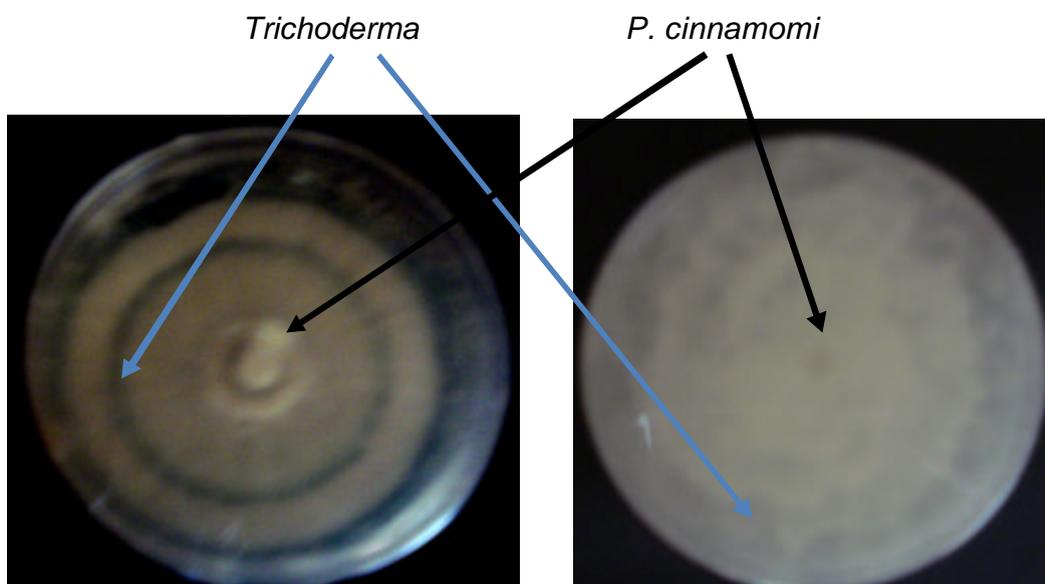


Figura 14. Máximo efecto de inhibición del desarrollo micelial de *P. cinnamomi* por compuestos volátiles producidos por *Trichoderma*.

Figura 15. Mínimo efecto de inhibición del desarrollo micelial de *P. cinnamomi* por compuestos volátiles producidos por *Trichoderma*.



Figura 16. Desarrollo micelial de *P. cinnamomi* sin presencia compuestos volátiles producidos por *Trichoderma*.

De acuerdo a los resultados obtenidos en los ensayos de antagonismo de *Trichoderma* sobre *Phytophthora capsici* y *Phytophthora cinnamomi* observamos que el coeficiente de variación no es muy alto entre los tratamientos esto puede deberse a que los tratamientos y repeticiones fueron sometidas a las mismas condiciones de desarrollo.

El coeficiente de variación alto encontrado en los ensayos de compuestos volátiles para las dos especies de *Phytophthora*, puede deberse a las limitantes propias de la técnica ya que cuando se perforan las cajas inoculadas con *Trichoderma*, es posible que se pierdan los compuestos producidos durante su desarrollo, provocando de esta manera una variación entre las repeticiones de cada uno de los tratamientos. Por lo tanto este método no es confiable para determinar la inhibición total de los fitopatógenos. Sin embargo, pudiera ser utilizada para determinar la presencia de sustancias volátiles producidas por microorganismos antagonistas empleados en el biocontrol de enfermedades fitopatógenas.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en las que se desarrollo la presente investigación, podemos hacer las siguientes conclusiones:

Se determino que de las 31 cepas de *Trichoderma* 13 presentan buen nivel de antagonismo sobre *Phytophthora capsici*.

Se determino que 17 cepas de *Trichoderma* sobrecrecen el micelio de *P. capsici* y cubren totalmente la caja Petri y 13 cubren 2/3 del medio de cultivo y 1 no muestra sobrecrecimiento a *P. capsici*.

Los días a contacto entre *Trichoderma* y *P. capsici* fue de dos días.

Se determino que todas la cepas de *Trichoderma* producen en mayor o menor grado compuestos volátiles que inhiben el desarrollo micelial de *P. capsici* siendo las mejores las cepas 19, 24, 25 y 27.

Se determino que de las 31 cepas de *Trichoderma* 24 presentan buen nivel de antagonismo sobre *Phytophthora cinnamomi*.

Se determino que 28 cepas de *Trichoderma* sobrecrecen el micelio de *P. cinnamomi* y cubre totalmente el medio de cultivo y solo 3 cubren 2/3 partes del medio de cultivo.

Los días a contacto entre *Trichoderma* y *P. cinnamomi* fue de dos días.

Se determino que todas las cepas de *Trichoderma* producen en mayor o menor grado compuestos volátiles que inhiben el desarrollo micelial de *P. cinnamomi* siendo las mejores las cepas 19, 26, 29 y la 7 la cual causo un efecto de inhibición del 100%.

LITERATURA CITADA

- Acosta-Rodríguez, G.F., Luján-Favela, M. 2004. Selección de Genotipos de Chile de Árbol y Cayenne en el Estado de Chihuahua. Memorias Primera Convención Mundial del Chile. León, Guanajuato, México. Resumen, p. 14.
- Agrios, G. N. 2005. Fitopatología. Segunda edición. Editorial Limusa. México. 838p.
- Alexopoulos, C. J., Mims C. W. and Bratwell, H. 1996. Introductory Mycology. Fourth Edition. Jhon Wiley and Soness. Inc. New Cork. 869 p.
- Apodaca, M. Á., Zavaleta, E. M., Osada, S. K. y García, R. E. 2004. Pudrición de la corona del Chile (*Capsicum annum* L.) en Sinaloa, México. Rev. Méx. de Fitopatología 22: 22-29.
- Arzate-Vega, J., Michel-Aceves, A. C., DomínguezMárquez, V. M., y Santos-Eméstica, O. A. 2006. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, Agente Causal de la Sigatoka Negra del Plátano (*Musa* sp.) *in vitro* e invernadero. Revista Mexicana de Fitopatología 24; 98-104.
- Bailey, A.M., Muñoz-Sánchez, C. I., Martine-Hernández P. and Manríquez-Escamilla, M. 2001. Detection of Additional gene Products Induced by the Interaction Between *Phytophthora capsici* and its host, *Capsicum annum*, and the Identification of an Elicitor-Encoding Gene. Revista Mexicana de Fitopatología 19: 23-31.
- Calabrese, F. 1992. El aguacate. Ediciones Mundi-Prensa. España. 249 p.
- Correa, S., Mello M., Ávila-Zila R., Minaré-Braúna L., Pàdua, R. R., Gómez D. 2007. Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii*. SACC. FITOSANIDAD vol. 11, no. 1.
- Cruz-Alcalá, A., Mendoza-Zamora, C., Romero-Cova, S. 2000. Identificación de hongos del suelo que causan pudriciones de raíz y cuello del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el sureste del estado de México. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. Revista Chapingo Serie Horticultura 6:1; 25-32.
- Dal Bello, G. M., Mónaco C. I., y Chávez A. R. 1997. Efecto de los metabolitos volátiles de *Trichoderma hamatum* sobre el crecimiento de hongos fitopatógenos procedentes del suelo. Rev. Iberoam Micol 14: 131-134.

- De la Garza, J. L. 1996. Fitopatología General. Universidad Autónoma Nuevo León. Facultad de Agronomía., Marín N. L. 515 p.
- Erwin-Donald, C. and Ribeiro-Olaf K. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. APS Prees The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. 562 p.
- Ezziyani, M., Pérez-Sánchez, C., Sid-Ahmed, A., Requena, M. E. y Candela M. E. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Universidad de Murcia, España. Anales de Biología 26: 35-45.
- García-Morató, M. 1999. Enfermedades fúngicas, bacterianas y fisiopatías. Pimientos. Capítulo 7. Edición de Horticultura. Barcelona, España. 167 p.
- Guillén-Cruz, R., Hernández-Castillo, F. D., Gallegos-Morales, G. 2006. *Bacillus* spp. como biocontrol en un suelo infestado con *Fusarium* spp., *Rhizoctonia solani* Kuhn y *Phytophthora capsici* Leonian y su efecto en el desarrollo y rendimiento del cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 24; 105-114.
- Gómez, G. V. 2000. Principales enfermedades que afectan al cultivo del pimiento. Rev. Vida Rural. No. 107. Madrid, España. Pp. 1- 7.
- Laborde, J. A. y O. Pozo. 1984. El Presente y Pasado del chile en México. SARH-INIA, México. 80 p.
- Lagunas-Lagunas, J., Zavaleta-Mejía, E., Osada-Kawasoe, S., Aranda-Ocampo, S., Luna-Romero, I., y Vaquera-Huerta, H. 2001. *Bacillus firmus* como agente de control de *Phytophthora capsici* Leo. en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Revista Mexicana de Fitopatología 19: 57-65.
- Lisboa-Minguzzi, M. A. 2003. Efectividad de *Bacillus subtilis* y de una cepa nativa de *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia y severidad de pudrición gris (*Botrytis cinerea*) en Vid *vinífera*. Tesis de licenciatura. Universidad de Talca Facultad de Ciencias Agrarias Escuela de Agronomía. Chile. 35 p.
- López-Herrera, C. J., Pérez-Jiménez, R. M., Llobel, A., Monte-Vázquez, E., Zea-Bonilla, T. 1999. Estudios *in vivo* de *Trichoderma* como agente de biocontrol contra *Phytophthora cinnamomi* y *Rosellinia necatrix* en aguacate. Revista Chapingo Serie Horticultura 5: 261-265.
- Ferrera-Cerrato, R. 2007. . Microbiología agrícola. Hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico y planta-microorganismos. Capítulo 15 y 16. Editorial Trillas. México. 568 p.

- Méndez, S. V. 2003. Control biológico de postcosecha en Uruguay. Revista de Horticultura Internacional.
<http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/cursos/fitopato/practicas/cbiologico.html>
- Michel-Aceves, A. C., Reyes-De la Cruz A., Otero-Sánchez M. A., Rebolledo-Domínguez, O., y Lezama-Gutiérrez, R. 2005^a. Potencial antagónico de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* Schechtend.: Fr. fsp. *licopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen y *Sclerotium rolfsii* (Sacc.) *in vitro* e Invernadero. Revista Mexicana de Fitopatología 23: 86-293.
- Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. C., Martínez-Rojero, R. D., Rebolledo-Domínguez, O., Lezama-Gutiérrez, R., y Ariza-Flores, R. 2005^b. Actividad micoparsítica *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) P. E. Nelson, T. A. Toussoun y Marasas y *F. oxysporum* Schlechtend.: Fr. Revista Mexicana de Fitopatología 23: 253-261.
- Mora, A. A., Téliz D., Etchevers J., D. y Huerta A. 1994. Manejo integrado del aguacate (*Persea americana*). Validación de Tecnología en Puebla, México. Revista Mexicana de Fitopatología 12: 51-62.
- Nuez, F., Gil-Ortega R., Costa J. 2003. El cultivo de pimientos, chiles y ajies. Capítulo 4. Ediciones Mundi-Prensa. España. 606 p.
- Ochoa-Fuentes, Y. M. 2006. Variabilidad genética y patogénica de *Phytophthora cinnamomi* rands en Michoacán México. Tesis de Doctorado. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 82p.
- Orienta-Fernández Vega. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal La Habana. Cuba.
- Pérez-Moreno, L., Durán-Ortiz, L. J., Ramírez-Malagon, R. y Sánchez-Pale, J. R. 2003. Compatibilidad fisiológica y sensibilidad a fungicidas de aislamiento de *Phytophthora capsici* Leo. Rev. Méx. de Fitopatología. 21: 19-23.
- Pérez-Moreno, L., Durán-Ortiz, L. J., Ramírez-Malagon, R., Sánchez-Pale, J. R., Olalde-Portugal, V. 2004. Sensibilidad *in vitro* de Aislados del Hongo *Phytophthora capsici* a Fungicidas. Universidad de Guanajuato, Instituto de Ciencias Agrícolas .CINVESTAV-Unidad Irapuato, Departamento de Biotecnología y Bioquímica. Memorias Primera Convención Mundial del Chile. León Guanajuato, México. Resumen, p. 144-150.
- Ramírez, V. J., y C. S. Romero. 1980. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leo. agente causal de la marchitez del chile. Agrociencia. 39 p.

- Rey, M., Delgado J.-J., Rincón A. M^a., Limón M^a. Carmen y Benítez T. 2000. Mejora de cepas de *Trichoderma* para su empleo como biofungicidas. Rev. Iberoam Micol. 17: S31-S36.
- Reyes-Rondón, T., Rodríguez-Gutiérrez, G., Pupo-Zayas, A. D., Alarcón-Pérez, L., Limonta-Cutiño, Y. 2007. Efectividad *in vitro* de *Trichoderma harzianum* RIFAI para el control de *Rhizoctonia solani* kuhn y *Pyricularia grisea* SACC. Aislados en el cultivo del arroz (*Oryza sativa* L.). Fitosanidad vol. 11. no. 1.
- Rodríguez, M. V., Luna, J. J., Valle, G. P., Tiscareño, L M, y Ruiz, C. J. M2004. Caracterización patogénica y sexual de *Phytophthora capsici* Leonian y análisis de su distribución espacial en el centro norte de México mediante un sistema de información geográfica. Rev. Méx. de Fitopatología 22:72-82.
- Rico, G. L., S. Medina, R., C. I. Muñoz, S., L. Guevara, O. y R. G. Guevara, G. 2004. Detección de *Phytophthora capsici* Leonian en plantas de chile (*Capsicum annuum* L.) mediante PCR. Rev. Méx. de Fitopatología 22: 1-6.
- Romero, C. S. 1996. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma de Chapingo, México. 361 p.
- Samaniego-Gaxiola, J. A. y Gámez-Escobedo, I.A. (2000). Evaluación de residuos para mantener la sanidad de semillas inoculadas con *Trichoderma* sp. en suelo infectado con *Rhizoctonia solani*. Revista Mexicana de Fitopatología 18:71-78.
- Sánchez-Moreno, I. 2000. Producción y consumo de aguacate en México. Monografía. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 150 p.
- Sid-Ahmed, A., Pérez-Sánchez C., Candela M.E. 2000. Evaluation of induction of systemic resistance in pepper plants (*Capsicum annuum* L.) to *Phytophthora capsici* using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidiol accumulation. European J. of Plant Pathology 106: 817 – 824.
- Stefanova, M., Leiva, A., Larrinaga, L., Coronado, M. F. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* para el control de hongos fitopatogenos del suelo. Rev. Fac. Agron. 16; 509-516.

- Téliz, D. 2000. El aguacate y su manejo integrado. 1ª. Edición. Edición Mundi-Prensa. México. 219 p.
- Trabanino, R., Kuniyoshi, C., Michel, M. 2003. Manual de agentes de control biológico. Centro de control biológico para Centroamérica. Honduras. Revista de Horticultura Internacional.
www.fcnym.unlp.edu.ar/catedras/controlbiologico/MateriaOptativaControlBiologicoPrograma.pdf.
- Jaramillo Villegas S. 2003. Monografía sobre *Phytophthora infestans* (Mont) de Bary. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias Agropecuarias. 120 p.
- Velasco-Vázquez, G. (2006). Evaluación de efectividad Biológica de cepas de *Bacillus* spp. en la Regulación de *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* para el Control de la Marchitez del Chile (*Capsicum annuum* L.) y su efecto en el desarrollo de plantas bajo condiciones de invernadero. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 60 p.
- Zavaleta-Mejía, E. 1994. Control Biológico de Fitopatógenos con Origen en el Suelo y Perspectivas. Revista Mexicana de Fitopatología, 12:1; 107-111.
- Zentmyer, G. A., Menge, J., and Ohr, H. 1994. *Phytophthora* root rot. in: Compendium of tropical fruit disease. Black, L. Minnesota, APS Press, 77-79 pp.

APENDICE

Cuadro 1A. Crecimiento micelial en centímetros de 31 cepas de *Trichoderma* sobre *Phytophthora capsici*, a los dos días después de la siembra en medio de cultivo PDA.

Tratamientos Cepas	Repeticiones			
	R1	R2	R3	R4
1	4.1	4.1	4.0	4.1
2	3.5	3.5	3.6	3.5
3	3.6	4.0	4.3	4.3
4	3.6	4.0	3.7	3.9
5	3.6	3.7	3.6	3.6
6	4.0	3.5	3.5	3.6
7	4.1	3.9	3.8	3.8
8	3.9	4.3	3.9	3.9
9	4.1	3.9	3.7	4.0
10	4.0	4.3	3.6	4.0
11	4.0	4.1	4.1	4.0
12	3.9	3.6	4.0	3.1
13	2.5	2.2	3.1	3.0
14	4.1	4.0	4.0	4.0
15	4.0	4.1	4.0	4.0
16	3.9	3.9	4.0	3.9
17	4.0	4.0	4.0	4.0
18	4.0	4.0	4.2	4.2
19	4.1	4.1	4.0	4.0
20	4.1	4.0	4.2	4.1
21	3.8	3.9	3.6	3.5
22	4.0	4.0	4.1	4.2
23	4.0	4.0	4.0	4.0
24	4.0	4.0	4.1	3.8
25	2.3	3.5	4.2	4.0
26	3.5	4.0	4.0	4.0
27	3.9	3.8	3.9	3.9
28	3.8	3.6	3.9	3.8
29	3.8	3.5	3.7	3.4
30	3.8	3.7	3.6	3.8
31	4.0	4.0	4.0	4.0

Cuadro 2A. Análisis de varianza del crecimiento micelial de 31 cepas de *Trichoderma* sobre el crecimiento micelial de *Phytophthora capsici*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	30	130.7243548	4.3574785	77.12	<.0001
ERROR	9.3	5.2550000	0.0565054		
TOTAL	123	135.9793548			

C. V.= 6.579434

Cuadro 3A. Porcentaje de inhibición en centímetros de *Phytophthora capsici* por compuestos volátiles producidos por 31 cepas de *Trichoderma* a los 10 días después de la siembra en medio de cultivo PDA.

Tratamientos Cepas	Repeticiones			
	R1	R2	R3	R4
1	31	32	32	18
2	33	28	47	32
3	30	24	12	24
4	18	18	28	8
5	12	24	47	47
6	31	24	50	38
7	30	33	24	18
8	24	30	32	32
9	2	3	3	9
10	12	33	34	18
11	6	6	2	18
12	12	35	33	41
13	46	48	18	47
14	8	12	12	5
15	8	8	8	9
16	12	18	29	12
17	12	33	24	24
18	15	6	8	5
19	49	27	41	47
20	22	13	25	46
21	18	12	24	18
22	53	26	38	35
23	20	18	27	29
24	46	53	33	47
25	53	36	53	53
26	31	49	35	41
27	53	35	19	53
28	18	29	24	35
29	13	29	35	29
30	22	24	21	35
31	24	42	29	29

Cuadro 4A. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de compuestos volátiles producidos por 31 cepas de *Trichoderma* sobre *Phytophthora capsici*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	30	15908.37097	530.27903	6.25	<.0001
ERROR	93	7894.75000	84.88978		
TOTAL	123	23803.12097			

C. V.= 34. 40175

Cuadro 5A. Crecimiento micelial en centímetros de 31 cepas de *Trichoderma* sobre *Phytophthora cinnamomi*, a los tres días después de la siembra en medio de cultivo PDA.

Tratamientos Cepas	Repeticiones			
	R1	R2	R3	R4
1	4.4	4.4	4.6	4.5
2	4.2	4.0	4.4	4.0
3	4.4	4.5	4.5	4.2
4	4.0	4.5	3.8	4.5
5	3.8	4.0	3.0	3.7
6	3.8	3.8	4.1	4.0
7	4.6	3.8	4.1	4.0
8	4.2	4.6	4.4	4.6
9	4.2	4.2	4.3	4.5
10	4.6	4.4	4.4	4.3
11	4.6	4.3	4.6	5.3
12	4.3	4.6	6.5	5.8
13	3.8	3.5	3.5	3.7
14	3.9	4.4	4.6	3.9
15	4.6	4.6	4.0	3.8
16	3.9	4.3	4.4	4.6
17	4.3	4.4	4.4	4.2
18	3.8	4.2	4.6	4.2
19	4.0	4.1	4.1	4.2
20	4.4	4.1	4.2	4.1
21	4.6	4.1	4.2	4.1
22	4.5	4.2	4.4	4.5
23	4.8	4.5	4.5	4.5
24	4.5	4.3	4.2	4.2
25	4.3	4.6	4.2	4.5
26	2.9	3.9	4.0	4.3
27	3.9	3.9	3.8	3.9
28	4.0	4.0	3.8	4.0
29	4.0	3.9	4.1	4.6
30	4.2	4.2	4.0	3.8
31	4.4	4.6	4.7	4.5

Cuadro 6A. Análisis de varianza del crecimiento micelial en centímetros de 31 cepas de *Trichoderma* sobre el crecimiento micelial de *Phytophthora cinnamomi*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	30	17.66983871	0.58899462	2.51	0.0004
ERROR	9.3	21.84500000	0.23489247		
TOTAL	123	39.51483871			

C. V. = 11.52176

Cuadro 7A. Porcentaje de inhibición en centímetros de *Phytophthora cinnamomi* por compuestos volátiles producidos por 31 cepas de *Trichoderma* a los 10 días después de la siembra en medio de cultivo PDA.

Tratamientos Cepas	Repeticiones			
	R1	R2	R3	R4
1	32	18	24	18
2	11	29	29	35
3	6	12	29	24
4	14	41	32	24
5	47	49	35	29
6	49	47	47	62
7	100	100	100	100
8	47	53	53	41
9	59	35	49	47
10	47	53	38	24
11	18	47	12	53
12	29	12	24	41
13	62	53	76	49
14	47	52	54	53
15	18	41	46	29
16	69	53	46	62
17	47	51	53	66
18	53	62	65	53
19	69	47	65	85
20	53	66	56	58
21	41	35	40	45
22	65	61	53	65
23	33	59	41	41
24	18	29	18	37
25	42	62	34	12
26	88	47	88	59
27	12	18	27	53
28	53	24	65	35
29	59	47	89	51
30	18	47	20	37
31	28	81	65	62

Cuadro 8A. Análisis de varianza del porcentaje de inhibición de compuestos volátiles producidos por 31 cepas de *Trichoderma* sobre *Phytophthora cinnamomi*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	30	37264.38710	1242.14624	7.70	<.0001
ERROR	9.3	15003.00000	161.32258		
TOTAL	123	52267.38710			

C. V. = 27. 69889