

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Manejo de *Fusarium verticillioides* (Sacc) Nirenberg en Genotipos de Maíz (*Zea mays* L.) con *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y Cobre bajo Condiciones de Invernadero

Por:

JUAN CARLOS RAMÍREZ MORALES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Marzo de 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Manejo de *Fusarium verticillioides* (Sacc) Nirenberg en Genotipos de Maíz (*Zea mays* L.)
con *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y Cobre bajo Condiciones de Invernadero

Por:

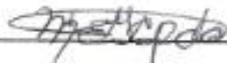
JUAN CARLOS RAMÍREZ MORALES

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:



Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda

Asesor Principal



M.C. Abiel Sánchez Arizpe

Coasesor



Ing. José Luis Arispe Vázquez

Coasesor


Dr. Gabriel Gallegos Morales

Coordinador de la División de Agronomía

Coordinación

División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Marzo de 2018

AGRADECIMIENTOS

A Dios y a la Virgen de Guadalupe por darme la oportunidad de vivir, por ser mi guía, mi luz y mi fortaleza en los peores momentos de mi vida, por ser mi estandarte y estar siempre a mi lado.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por abrirme las puertas y poder concluir con mis estudios dentro del área de agronomía y culminar con mis estudios.

A la Dra. Ma Elizabeth Galindo Cepeda por brindarme parte de sus conocimientos, su amistad, consejos y por apoyarme para poder realizar y terminar este trabajo.

Al M.C. Abiel Sánchez Arízpe por su apoyo y sobre todo por brindarme parte de sus conocimientos.

Al Ing. José Luis Arízpe Vázquez por su amistad y todo su apoyo incondicional que me brindó para poder realizar este trabajo.

A todos los maestros del Departamento De Parasitología Agrícola por enseñarme parte de sus conocimientos, por darme una formación profesional a lo largo de la carrera, por sus paciencias, consejos, por todo esto.

DEDICATORIA

Á mis padres: Rogelio Ramírez Pérez, Francisca Morales Carpio

Les doy las gracias porque depositaron en mí su confianza, cariño y amor por que nunca me dejaron en los peores momentos de mi vida. Este triunfo se los dedico a ustedes con todo mi esfuerzo, amor y cariño por que sin ustedes nunca hubiese podido alcanzar mi objetivo.

A mis hermanos:

Abraham, Hugo, Oswaldo, Marcelo, Fabián, Liliana, Patricia y Beatriz.

Gracias por brindarme su amor y cariño, sus consejos y a los momentos felices que hemos pasado, los quiero mucho.

A mi novia:

Mara Ubelina Medina Santiago

Gracias flaquita hermosa, por tantos bellos momentos que hemos pasado, por tu comprensión y amor, porque siempre estas a mi lado en los buenos y malos momentos, que Dios nos permita una vida juntos.

A los compañeros que fueron parte de esta gran trayectoria:

A José Luis Arispe, Alonso, Nicolás Atanasio David, Rigo, Jorge Armando, Marco Antonio, Max, Pedro, Frutos, Alonso, Alexis, Gerardo, Aví, Carelí, paqueado, Tripa, Nomo, Ruso, Romeo, Marínela, Andrés. Gracias por su amistad incondicional y por formar parte de esta etapa.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
AGRADECIMIENTOS	3
DEDICATORIA.....	4
ÍNDICE DE FIGURAS	1
ÍNDICE DE CUADROS	2
RESUMEN	1
INTRODUCCIÓN	2
REVISIÓN DE LITERATURA	4
Origen del Maíz.....	4
Producción Mundial de Maíz.....	4
Producción de Maíz en México	4
Importancia Económica del Maíz	5
Importancia del Género <i>Fusarium</i>	5
Importancia Económica de <i>Fusarium verticillioides</i>	6
Clasificación Taxonómica del Patógeno	6
Morfología de <i>Fusarium verticillioides</i>	7
Ciclo de la enfermedad	7
Fuente de inóculo del hongo <i>Fusarium verticillioides</i>	8
Factores que favorecen el desarrollo de <i>Fusarium verticillioides</i>	9
Principales rutas de Infección	9
Infección sistémica de las plántulas.....	10
Infección de la mazorca por medio del estigma:	10
Infección del tallo y la mazorca por daño mecánico	10
Pudrición rosada de la Mazorca.....	10
Síntomas causados por <i>Fusarium verticillioides</i>	11
Distribución del Hongo	12
Toxinas producidas por <i>Fusarium verticillioides</i>	12
Zearalenonas.....	13
Tricotecenos	13
Fumonisinás	13
Desarrollo de la Enfermedad.....	14

Generalidades de <i>Trichoderma</i>	14
Clasificación Taxonómica de <i>Trichoderma</i>	15
Morfología de <i>Trichoderma</i>	15
<i>Trichoderma spp.</i> en el control de fitopatógenos	16
Mecanismo de Acción de <i>Trichoderma spp.</i>	17
Competencia por espacio y nutriente.....	18
Antibiosis	18
Micoparasitismo	18
Estimulación de defensa de la planta	19
Compuestos volátiles.....	19
Enzimas hidrolíticas.....	19
Actividad fúngica.....	20
Antecedentes del Género <i>Bacillus</i>	20
Generalidades de <i>Bacillus</i>	20
Características de <i>Bacillus subtilis</i>	21
Clasificación Taxonómica de <i>Bacillus</i>	22
<i>Bacillus subtilis</i> antagonista a patógenos en Plantas.....	22
Modo de Acción de <i>Bacillus subtilis</i>	23
Antibiosis	23
Competencia.....	23
Inducción del crecimiento	24
Inducción de resistencia	24
<i>Bacillus subtilis</i> en la promoción de crecimiento de Plantas	24
Cobre	25
Antecedentes	25
Definición de Resistencia.....	25
Mecanismo de Acción del Cobre.....	26
MATERIALES Y MÉTODOS	27
Ubicación del Experimento	27
Obtención del Material Genético y Biológico.....	27
Colecta del Suelo	27
Llenado de contenedores	28

Preparación del inóculo.....	28
Tratamientos	29
Inoculación con benéficos	29
Riego.....	30
Parámetros a Evaluar.....	30
Evaluación de la germinación	30
Evaluación altura de planta en centímetro	31
Evaluación diámetro de tallo en centímetro	31
Evaluación de la incidencia de <i>Fusarium</i> en las raíces.....	31
Evaluación de la severidad de <i>Fusarium</i> en las raíces	31
Análisis Estadístico	31
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	32
Comparación de medias de la germinación	32
Comparación de medias para altura de planta.....	33
Comparación de medias para diámetro de Tallo.....	34
Comparación de medias para incidencia de <i>Fusarium</i> en las raíces	35
Comparación de medias de la severidad de <i>Fusarium</i> en las raíces	36
Reaislamiento del patógeno.....	38
CONCLUSIÓN	39
LITERATURA CITADA	40
APENDICE.....	50

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura		Pág.
1	Invernadero donde se estableció el experimento, UAAAN, 2017.....	27
2	Colecta del sustrato. UAAAN, 2017.....	28
3	Llenado de contenedores. UAAAN, 2017.....	28
4	Riego a contenedores. UAAAN, 2017.....	30
5	Efecto de los tratamientos en la germinación de 3 genotipos de maíz.....	32
6	Efecto de los tratamientos en la altura de los 3 genotipos de maíz...	33
7	Efecto de los tratamientos en el diámetro de los 3 genotipos de maíz.....	34
8	Efecto de los tratamientos en la incidencia de <i>F. verticillioides</i> en 3 genotipos de maíz UAAA,2017.....	36
9	Efecto de los tratamientos en la severidad de <i>F. verticillioides</i> en 3 genotipos de maíz. UAAAN, 2017.....	37

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro		Pág.
1	Tratamientos. UAAAN, 2017.....	29
2	Análisis de varianza del porcentaje de germinación.....	32
3	Análisis de varianza de la altura de la planta.....	33
4	Diámetro de tallo , 2017.....	34
5	Análisis de varianza de la Incidencia de <i>Fusarium verticillioides</i>	35
6	Agrupación de medias de 3 genotipos de maíz con <i>Fusarium verticillioides</i>	35
7	Análisis de varianza de la severidad de <i>Fusarium verticillioides</i>	36
8	Agrupación de Medias.....	37

RESUMEN

En México el maíz es el principal cultivo para la sociedad, enfrentando éste un gran problema con los hongos fitopatógenos que originan pérdidas que ascienden a millones de pesos al año. El daño que ocasionan no sólo se refiere a las pérdidas de producción económica, también a las pérdidas en la producción biológica, es decir a la alteración que existe en el crecimiento y desarrollo de las plantas hospedantes atacadas por estos microorganismos. El género *Fusarium* se destaca como el agente causal de las enfermedades de mayor importancia que producen pudrición de la mazorca y la germinación prematura del maíz.

El objetivo de este trabajo fue identificar y determinar la incidencia y severidad de *Fusarium verticillioides* en tres Genotipo de maíz. El cual se llevó acabo en el invernadero. (UAAAN), consistió en colocar 4 semillas de maíz para cada genotipo en cada contenedor, se realizó una inoculación directa a la semilla, para el cual se establecieron los siguientes tratamientos con cuatro repeticiones cada uno: Tratamiento 1.- *Trichoderma harzianum* + *Fusarium verticillioides*, Tratamiento 2.- *Bacillus subtilis* + *Fusarium verticillioides*, Tratamiento 3.- Producto a base de cobre a dosis comercial + *Fusarium verticillioides*, Tratamiento 4.- *Fusarium verticillioides*, tratamiento 5.- Testigo absoluto. Para el análisis se utilizó un diseño completamente al azar en el programa estadístico SAS versión 9.0. para el cual en las variables a evaluar el mejor tratamiento fue *Trichodrema harzianum* el cual presen una mejor germinación, una mejor altura, mejor diámetro de tallo, ya que *Trichodrema* tiene diferentes modos de acción. la incidencia presentada por *Fusarium verticillioides* va de un (0 %) hasta el (100 %) y la severidad (0 %) hasta (46.3) siendo así que sebe reflejado las diferencias en cada tratamiento, *Trichoderma* reduce significativamente los daños causados por patógenos.

Palabras clave: maíz, manejo, *Fusarium*, incidencia, severidad, tratamientos biológicos *Trichoderma* sp. *Bacillus* sp. Químico.

INTRODUCCIÓN

Las fumonisinas son micotoxinas producidas por algunas especies del género *Fusarium*, como *Fusarium verticillioides* y *F. proliferatum*. Estos son hongos patógenos de maíz y las fumonisinas constituyen un factor de virulencia del hongo. Entre los distintos tipos de fumonisinas, la fumonisina B1 (FB1) es la más abundante ya que constituye alrededor de 70% de las fumonisinas totales producida por una cepa.

El control de los patógenos que causan las enfermedades de las plantas hasta la fecha se realiza con productos químicos, los cuales se aplican al follaje, a las semillas y al suelo; en la mayoría de los casos, los fungicidas son efectivos, sin embargo, su uso trae como consecuencia efectos nocivos sobre el ambiente debido a su residualidad lo que ocasiona que se acumule en cuerpos de agua, suelo, plantas y animales; además de que genera resistencia por los fitopatógenos todas ellas.

Se conoce que la habilidad de *Trichoderma spp.* para reducir los daños en enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, está relacionada a su fuerte capacidad competitiva, al fenómeno de antibiosis, por la producción de enzimas líticas, y al micoparasitismo. Muchas especies de este género son agentes de control biológico con potencial contra un sin número de enfermedades. En particular *Trichoderma harzianum*, es la especie con más amplio espectro de control, bajo diferentes condiciones ambiente.

El género *Bacillus subtilis*. Se trata de un organismo que existe en el medio ambiente de forma natural. Esta especie bacteriana se caracteriza por descomponer la materia orgánica; de ella se han desarrollado varias cepas como fungicidas desinfectantes de semillas. La bacteria forma endosporas que, aplicadas a las semillas, se expanden por las raíces de las plántulas y compiten con hongos patógenos del suelo entre los que destacan fusariosis o pudrición radical (*Fusarium sp.*), mancha o tizón de la hoja (*Alternaría sp.*), pudrición ácida (*Aspergillus sp.*) etc., que atacan a las raíces.

JUSTIFICACIÓN

Buscar alternativas más amigables para solución de problemas causados por el patógeno *Fusarium verticillioides* y así mejorar la calidad de la semilla y cosecha dentro del país.

OBJETIVOS GENERALES

- Determinar la incidencia y severidad de *Fusarium verticillioides* tres genotipos de maíz con biológicos y químico.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar la susceptibilidad de *Fusarium verticillioides* en tres genotipos de maíz.

HIPÓTESIS

- Las variedades criollas son más tolerantes a *Fusarium verticillioides*, que las mejoradas.

REVISIÓN DE LITERATURA

Origen del Maíz

El maíz *Zea mays* L. es un cultivo de gran relevancia para los pueblos latinoamericanos y en especial para México, considerado como el centro de origen y diversidad del maíz, cultivo que ha estado prácticamente en toda su historia y desarrollo el teocintle es considerado el ancestro directo del maíz actual, y según las últimas evidencias arqueológicas, el origen del maíz data de 8,700 años antes de nuestra era, en la región de Iguala en el estado de Guerrero en la localidad de Tlaxmalac (Ranere *et al.*, 2009).

De los diversos estudios realizados para dilucidar la participación del teocintle en el origen del maíz, se ha concluido que la especie de teocintle más cercana al maíz actual es el *Zea mays* ssp *parviglumis*, que pertenece a la raza Balsas y dentro de esta raza las poblaciones que más han participado en el origen del maíz fueron ubicadas en los estados de Michoacán, México y Guerrero (Matsuoka *et al.*, 2002).

Producción Mundial de Maíz

En el año 2014 los principales países productores de maíz fueron: En primer lugar, Estados Unidos con una producción de 361,091,000 toneladas, en segundo lugar, China con una producción de 215,500,000 ton y en tercer lugar Brasil con 75,000,000 ton producidas (USDA, 2014).

Producción de Maíz en México

En México, Según el Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP 2014), la superficie sembrada de maíz es de 7,426,412.19 ha, con un total de producción nacional de 23,273,256.54 ton. Teniendo pues así un rendimiento promedio por hectárea de 3.30 ton/ha.

Todas las entidades del país presentan algún nivel de producción de maíz, sin embargo, siete entidades concentran el 64.5% del volumen de producción nacional. Sinaloa es el principal productor al concentrar el 16.5% del total; le siguen en importancia Jalisco, Michoacán, Estado de México, Chiapas, Guerrero y Veracruz (SIAP-SAGARPA, 2012).

Importancia Económica del Maíz

La producción de maíz, por tradición, es necesaria para la alimentación de la población rural y urbana del país, para la ganadería y para la creciente industria. Su evolución ha sido importante ya que México pasó de ser un país exportador a importador debido a las crecientes demandas que generan una balanza de producción y consumo desfavorable en los últimos años (PROMEAR, 2009).

El maíz es el cultivo más importante de México, forma parte importante en la dieta de los mexicanos, está presente en la elaboración de más de 4 mil productos, ocupa poco más de la mitad de la superficie sembrada del país representa casi una tercera parte del valor de la producción agrícola; existen poco más de 3 millones de productores de este grano, y es el cuarto productor mundial después de Estados Unidos, China y Brasil (FAO, 2009).

Importancia del Género *Fusarium*

El género *Fusarium* fue descrito por primera vez por Link en 1915 (Romero, 1988). Las semillas son importantes fuentes de inóculo de innumerables patógenos, entre ellos varias especies de *Fusarium*. Para el cultivo de maíz las especies de *Fusarium* más importantes en semillas son *F. verticilloides*, *F. proliferatum*, *F. subglutinans* (los tres denominados previamente como *F. moniliforme*). *F. graminearum*, *F. sporotrichioides*, *F. oxysporum*, *F. solani*, y *F. equiseti*. De todos ellos *F. verticilloides* y *F. graminearum* son los más frecuentes. La incidencia de *F. verticilloides*, es alta (mayor al 20% hasta el 100%), en cambio la incidencia de *F. graminearum* es baja (Carmona y Scandiani, 2011).

Importancia Económica de *Fusarium verticillioides*

La mayoría de los hongos filamentosos son saprófitos, eso quiere decir que toman sus nutrientes de materia orgánica muerta o en descomposición, pero muchos de ellos se pueden comportar como patógenos de plantas. Tal es el caso de *Fusarium verticillioides* el cual es un hongo filamentosos que puede colonizar tejidos vegetales provocando distintas enfermedades, además de tener un ciclo saprofítico (Shim *et al.*, 1999).

El hongo *F. verticillioides* es el hongo más importante que limita en gran medida la producción de maíz, causando cuantiosas pérdidas económicas; así como cambios en su contenido nutritivo, sabor en los productos y contaminación de los granos con micotoxinas; además se sabe que este hongo es el más frecuente encontrado atacando a la mazorca (Damaris *et al.*, 1976).

Gleen *et al.* (2002) mencionaron que *Fusarium verticillioides* es un hongo que impacta económicamente debido a sus efectos, daños sobre la planta y salud de los animales y sobre la calidad de sus productos. Maíz es el huésped primario para *F. verticillioides*.

Clasificación Taxonómica del Patógeno

La clasificación taxonómica patógeno de acuerdo con Agrios (2005).

Reino: Fungí

División: Ascomycota

Clase: Ascomycetes

Orden: Hypocreales

Género: *Fusarium*

Especie: *verticillioides* (Sacc) Nirenberg

Morfología de *Fusarium verticillioides*

El género *Fusarium spp.* presenta características microscópicas muy variables como son las formas de las microconidias, de las macroconidias y la forma de la célula basal, así como la presencia o ausencia de clamidiosporas (se forman del engrosamiento del micelio). La morfología de las macroconidias es la característica principal para definir a la mayoría de las especies en el género *Fusarium spp.*, sin embargo, este criterio no es definitivo, pues se ha encontrado que algunas especies coinciden con esta característica por lo tanto se ha adoptado por tomar la morfología y modo de formación de las microconidias y la morfología de los microconidióforos como criterio para su identificación (Nelson *et al.*, 1982).

El estado perfecto de *F. verticillioides* es *Gibberella fujikuroi* presenta peritecios globosos, violáceos o azulados, negruzcos, blandos y ostiolados. Se pueden formar superficialmente o dentro de un estroma, y pueden estar aislados o en grupos. Las ascas son hialinas, cilíndricas a claviformes y contienen ocho ascosporas fusiformes, ligeramente curvadas y con uno a tres septos (Herrera y Ulloa, 1990).

Se denota micelio extenso algodonoso en cultivo, frecuentemente con algo de tinte rosa, púrpura o amarillo en el medio, conidióforos variables, delgados y simples o gruesos y cortos, ramificados irregularmente o en verticilos de fiálides, simples o agrupados en esporodoquios, conidias hialinas, variables, principalmente de dos clases, frecuentemente contenidos en pequeñas cabezas húmedas, macroconidias de varias células ligeramente curvadas o encorvadas en las puntas, típicamente con forma de canoa, microconidias unicelulares, ovoides u oblongas, simples o en cadenas (Barnett y Hunter, 1998).

Ciclo de la enfermedad

Cantú (1998) mencionó que *F. verticillioides*, es un patógeno no obligado, que no tiene un hospedero específico y se puede encontrar en sorgo, trigo, algodón, frijol, tomate, cacahuate, plátano, soya, pimiento verde o algunos forrajes. Sin embargo, su hospedero más importante es el maíz. El ciclo de vida de este hongo está compuesto

de un estado saprofito y otro parasítico. Durante el estado saprofito *F. verticillioides* obtiene los nutrientes de los tejidos muertos produciendo estructuras infectivas para establecer una enfermedad. Por otro lado, durante el estado parasítico, el hongo obtiene sus nutrientes de las células del hospedero después de una colonización intracelular. Usualmente muchos patógenos no obligados destruyen las células de su hospedero, avanza la infección y obtiene sus nutrientes del tejido muerto. Las enfermedades sintomáticas y la muerte de las plantas de maíz no son muy comunes, pero el estado parasítico es responsable de la pérdida económica del maíz. (Cantu, 1998).

Existen diversas enfermedades atribuidas a este hongo que causan daño al maíz, son el marchitamiento de la planta de maíz, así como pudriciones en el tallo, mazorca, raíz y en la semilla. En los tejidos enfermos se encuentran altas concentraciones de fumonisinas y en la fase asintomática con frecuencia contiene bajas concentraciones; esto es importante para la salud del ser humano, ya que el maíz asintomático es utilizado para su alimentación (Cantu, 1998).

Fuente de inóculo del hongo *Fusarium verticillioides*

La mayoría de las especies de *Fusarium* son parásitos facultativos y pueden permanecer en forma saprofito en el suelo o rastrojo, pero cuando las condiciones ambientales son favorables se constituyen en fuente de inóculo, iniciándose una interacción con el hospedero durante el ciclo del cultivo y causar enfermedades severas en genotipos susceptibles (Cisneros *et al.*, 2007).

F. verticillioides inverna en forma de peritecios o micelio en restos de plantas infectadas particularmente en los tallos de maíz, en la primavera cuando el clima es cálido o húmedo, las ascosporas maduras son liberadas y llevadas por el viento hacia los tallos o mazorcas del maíz, en los cuales penetran directamente o a través de heridas de la planta. También forma conidios en los restos infectados de la planta de maíz, pero los

produce con mayor frecuencia en órganos vegetales infectados, sirviendo como inóculo secundario (Agrios, 2005).

Moreno (1978) reportó sobre la importancia de las semillas infectadas y mencionó que son definitivamente una importante fuente de introducción del patógeno dentro de la cosecha. Algunos hongos patógenos son llevados superficialmente en las semillas, mientras que otros se les encuentran profundamente, los hongos pueden penetrar la membrana de las semillas y depositarse en los tejidos del cotiledón, rara vez se les encuentra en el embrión. Existen hongos que pueden persistir de cuatro a seis años dentro de las semillas.

Factores que favorecen el desarrollo de *Fusarium verticillioides*

F. verticillioides es más común en las regiones calientes y secas, se presenta especialmente antes o durante la polinización. *F. verticillioides* crece bien a temperaturas por encima de 26 ° C. La temperatura óptima calculada y máxima para el crecimiento de *F. verticillioides* son 31 y 35 °C, respectivamente, y 22 a 24 °C es el rango mínimo sugerido para el crecimiento. Hay informes de crecimiento de *F. verticillioides* a temperaturas inferiores a 20 ° C, aunque el efecto de la temperatura en estos experimentos fue influenciado por la disponibilidad de agua en el sustrato. Esta amplia gama de temperaturas se extiende más allá de la óptima para el crecimiento del maíz, por lo que *F. verticillioides* puede funcionar a temperaturas bajo las cuales las plantas de maíz pueden experimentar estrés (Williams y Munkvold 2008).

Principales rutas de Infección

Uno de los aspectos que favorece la infección y la alta incidencia de *F. verticillioides* en el maíz es que el hongo utiliza múltiples rutas de entrada a la planta para colonizar distintos tejidos y de esa manera, causa diversas enfermedades a lo largo de su desarrollo (De la Torre *et al.*, 2014).

Infección sistémica de las plántulas: Ocurre durante y desde la germinación de la semilla, y a lo largo del establecimiento de la plántula. Como el hongo sobrevive ya sea en la semilla o en el suelo, se encuentra estratégicamente posicionado para infectar a la planta. *F. verticillioides* penetra de forma directa el pericarpio y a las células de la epidermis de la raíz, tres días después de que se siembran las semillas inoculadas. Las hifas colonizan las células del parénquima del escutelo y llegan hasta el córtex. Sin embargo, la colonización de la endodermis y de las regiones vasculares ocurre en raras ocasiones (Murillo *et al.*, 1999).

Infección de la mazorca por medio del estigma: La vía más común para que *F. verticillioides* infecte a la mazorca es a través del estigma. Lo anterior sucede cuando el inóculo aéreo y las conidias transportadas por el agua de lluvia se depositan en el estigma. De esa forma se facilita el acceso a las células del pericarpio y la hifa del hongo crece en la superficie de la cutícula para poder acceder al grano, a través de la parte inferior del canal estilar, incluso en ausencia de lesiones mecánicas (Duncan y Hawar, 2010).

Infección del tallo y la mazorca por daño mecánico: Al alimentarse, varios insectos plagas del maíz perforan las mazorcas y los tallos de la planta. Este daño mecánico funciona como ruta de entrada para las conidias de *F. verticillioides*. Además, hay insectos que actúan como vectores del hongo, ya sea dispersándolo a lo largo de la superficie de la planta hacia los granos como *Ostrinia spp.*, el gusano barrenador o, bien, transportándolo a través de grandes distancias como el gusano de la raíz (*Diabrotica spp.*). Otros vectores descritos son el gusano elotero en sus fases de larva y de adulto, los trips y los gorgojos (Gilbertson *et al.*, 1986).

Pudrición rosada de la Mazorca

Apodaca y Quintero (2013) mencionaron que los agentes asociados a la pudrición de mazorca más importantes en el mundo son *Fusarium verticillioides*, *Fusarium graminearum*, *F. proliferatum* y *F. subglutinans*. En México, *F. verticillioides* es el más

frecuente en las mazorcas, es el más adaptado a ambientes que van desde el templado al tropical. En el norte de Sinaloa se ha detectado a *F. oxysporum* como la especie más frecuentemente asociada a la pudrición de tallos, este hongo también puede atacar mazorcas. La especie que aparentemente predomina en mazorcas y granos almacenados es *Fusarium verticillioides*.

Síntomas causados por *Fusarium verticillioides*

Cuando la infección por *F. verticillioides* inicia por las raíces trae como consecuencia que las hojas de la parte superior presenten coloración grisácea y estas mueran (la planta parece como si se hubiera helado de su parte terminal) (Álvarez *et al.*, 1984).

Las plantas infectadas muestran una decoloración café en la base del tallo con una descomposición del parénquima y haces vasculares sueltos, las mazorcas infectadas desarrollan una característica pudrición de unos cuantos granos aislados o áreas relativamente grandes. Los granos afectados presentan un rayado, debido a la presencia del micelio bajo el pericarpio (Rodríguez y De León, 2008). Se inicia con la formación de micelio blanco, que van descendiendo desde la punta de la mazorca y dan una coloración rojiza a rosada a los granos infectados (Levin *et al.*, 2003).

Esta especie tiene la capacidad de producir metabolitos secundarios como toxinas las cuales han sido asociadas a efectos adversos en plantas, debido a esto se ha estudiado su papel como patógeno de algunas especies económicamente importantes principalmente el maíz y el trigo, sin embargo, también se ha aislado de otros cereales como son la cebada, el arroz, la avena y el sorgo (Desjardins *et al.*, 2001).

Las colonias son de crecimiento moderadamente rápido, de 8 cm a los ocho días, de color blanco a durazno. Las microconidias son abundantes, generalmente de una célula, de oval a ovoide, en largas cadenas o en falsas cabezas. Los conidióforos son largos, no ramificados y ramificados, monofialides y polifialides. Las macroconidias están presentes, pero son escasas, y varían levemente de su forma curva a casi rectas,

de paredes delgadas. Las clamidosporas están ausentes (Sanabria *et al.*, 2002; Agrios, 2005;).

Mendoza *et al.* (2006) mencionaron que en México se presentan pérdidas por la pudrición de tallo y grano causado por *Fusarium*, este hongo aparece primero como una coloración salmón pálido en el pedicelo o casquete de la punta de los granos. Eventualmente, los granos infectados muestran un crecimiento de moho polvoso de color rosáceo, compuesto por grandes números de esporas o conidios.

Distribución del Hongo

F. verticillioides es un patógeno que se trasmite a través de semilla contaminada, que es encontrado en gran parte del mundo (Munkvold y Carlton 1997).

Williams y Munkvold (2008) reportaron que *F. verticillioides* es más común en las regiones calientes y secas, durante el crecimiento y desarrollo de la planta de maíz, especialmente antes o durante la polinización.

Summerell *et al.* (2003) comentaron que el hongo puede ser transportado por el suelo, aire, o llevada en residuos vegetales, y pueden ser recuperados de cualquier parte de una planta de la raíz más profunda a la más alta flor.

Bush *et al.* (2004) reportaron a *Fusarium verticillioides* y su putrefacción y contaminación por fumonisinas son problemas graves para los productores de maíz, sobre todo en el sureste de Estados Unidos.

Toxinas producidas por *Fusarium verticillioides*

Tres grupos de toxinas zearalenonas, tricotecenos y fumonisinas son producidas por varias especies de *Fusarium*, principalmente en maíz (Agrios, 2005).

Zearalenonas

Parecen ser las más tóxicas para cerdos, en el cual causan anormalidades y degeneración del sistema reproductivo, llamado síndrome estrogénico. La hembra se alimenta de comida que contiene Zearalenonas y desarrolla vulva atrofiada con hemorragias, así como ovarios no funcionales, son susceptibles al aborto y los cerdos que nacen son pequeños y débiles. El macho muestra signos de feminización, nombrada atrofia de los testículos y un alargamiento de las glándulas mamarias (Agrios, 2005).

Tricotecenos

De donde más de 100, son producidos por especies de *Fusarium* y por varios de otros hongos. Son más tóxicas cuando se las comen los cerdos, en los cuales causa inactividad, nudos en intestinos, diarrea, hemorragia, y muerte. Otros animales como vacas, pollos también son afectados (Agrios, 2005).

Fumonisin

Son producidas por *F. verticillioides*, las cuales causan pudrición de la mazorca de maíz que afecta tanto como el 90% de los campos de maíz. Las fumonisin son la causa de mal de parálisis (leucoencefalomalacia equina) en caballos, burros y mulas, edema pulmonar en cerdos y posiblemente cáncer en humanos. *F. verticillioides* es conocido por ser una de las especies altamente toxígenas por la producción de fumonisin B1 (FB1), una toxina asociada con el cáncer esofágico, FB2, y moniliformina (MON), una toxina asociada con daño al miocardio (Marasas *et al.*, 2001).

Desarrollo de la Enfermedad

La infección es el proceso mediante el cual los patógenos entran en contacto con las células o tejidos susceptibles de un hospedero y en el que se producen nutrientes suficientes para ambos. Durante la infección, los patógenos se desarrollan o reproducen dentro de los tejidos de las plantas, animales o humanos e invaden a éstos en forma variable. De esta manera, la invasión del patógeno sobre los tejidos, el crecimiento y reproducción (colonización) en los tejidos infectados constituyen dos fases concurrentes en el desarrollo de una enfermedad dentro del proceso infeccioso (Llácer *et al.*, 2000).

En respuesta a los patógenos, las plantas reaccionan con una gran variedad de mecanismos de defensa que dan como resultado diferentes grados de protección de la planta ante el patógeno (Agrios, 2005; Llácer *et al.*, 2000). Aunque las infecciones efectivas dan como resultado la formación de zonas necróticas o de zonas decoloradas y malformadas (Ortoneda *et al.*, 2004)

Generalidades de *Trichoderma*

El uso de *Trichoderma* como agente de control biológico fue sugerido por Weindling en 1932, quien fue el primero en demostrar la actividad parasitaria de los miembros de este género. Sin embargo, con el interés creciente en el control biológico debido a los daños ambientales y las preocupaciones económicas, y con el rápido desarrollo de la biotecnología, Dennis y Webster en el año 1971, describieron las propiedades antagonistas de *Trichoderma* en términos de producción de antibióticos y de las interacciones de hifas en el control de *Sclerotium rolfsii* (Abed, 2005).

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*, *Fusarium* entre otros. Las especies de

Trichoderma actúan como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se le atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como vacuolización, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular, encontrados en los organismos con los que interactúa (Abed, 2005). Además, coloniza raíces aumentando su masa y vigor, proporcionando con ellos aumento en la producción (Harman, 2000).

Clasificación Taxonómica de *Trichoderma*

Según Agrios (2005). La clasificación taxonómica es la siguiente

Reino: Fungí

División: Ascomycota

Clase: Ascomycetes

Orden: Hypocreales

Género: *Trichoderma*

Especie: *harzianum*

Morfología de *Trichoderma*

Las colonias son al principio blancas y algodonosas; cuando se desarrollan bajo condiciones de luz se alterna una banda delgada e incolora con otra banda ancha y de un color verde oscuro. Cuando se desarrolla bajo condiciones de luz continúa las colonias son uniformemente de color verde oscuro. Su estructura de esporulación son conidios, y su estructura de resistencia, clamidosporas; éstas son similares a las de otros hongos formadores de clamidosporas, son de 5 a 10 veces más grandes que los conidios, por sus grandes reservas de lípidos, son intercalares o terminales, de forma

cilíndricas a globosa, por su naturaleza, representan la forma de propagación más efectiva. Aunque las clamidosporas no se forman comúnmente en la naturaleza (Hernández, 2008).

Los conidióforos son hialinos, septados, erguidos o laxos, solitarios o frecuentemente ramificados en ángulos más o menos rectos con respecto al eje principal. Las células fiálides esporíferas, producidas individualmente, en pares u en grupos, son hialinas, ovaladas o en forma de frasco; miden 5-15 x 3-4 μm . las fiálides surgen alternadamente o en pares y con frecuencia se producen en ángulo recto con respecto al conidióforo o la ramificación progenitora. los conidios son hialinos o verdes, lisos o rugosos o en forma de huevo, con un diámetro de 3-4 μm , no septados, reunidos en pequeñas bolas esféricas verdes constituidas por 10 a 20 conidios, cada una sobre fiálides (Wharham *et al.*, 1996).

T. harzianum es un hongo que posee estructuras del tipo de conidias hialinas uniceluladas, ovoide en conidióforo hialino largo no verticilado, nace en centros pequeños. Tiene la capacidad de producir clamidosporas en sustratos naturales, estructuras de vital importancia para la sobrevivencia del género en el suelo bajo condiciones adversas. Es saprofita del suelo y de la madera y el crecimiento en el suelo es muy rápido. Tiene excelentes propiedades para el control biológico, siendo especialmente efectiva contra *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Pythium* a su vez, es un excelente estimulador del crecimiento radicular (Maya, 2013).

***Trichoderma spp.* en el control de fitopatógenos**

El género *Trichoderma* es un tipo de hongo anaerobio facultativo que se encuentra de manera natural en varios tipos de suelos agrícolas y otros tipos de medios. De este microorganismo existen más de 30 especies, todas con efectos benéficos para la agricultura y otras áreas económicas (Argumedo *et al.*, 2009)

Argumedo *et al.* (2009) informaron acerca de las especies de hongos que pertenecen al género *Trichoderma*, han sido plenamente caracterizadas por tener aplicación en el ámbito agrícola, principalmente para el control biológico de otros organismos patógenos que atacan a los cultivos. Sin embargo, los estudios sobre su comportamiento y su efecto en ambientes terrestres y acuáticos contaminados han sido escasamente estudiados.

Mastouri (2012) reportó la colonización de *Trichoderma spp.* en las raíces de las plantas y establecer una relación simbiótica con una amplia gama de plantas hospederas. Como consecuencia de ello, el crecimiento y el rendimiento de la planta con frecuencia se ve reforzada.

Mecanismo de Acción de *Trichoderma spp.*

La habilidad de *Trichoderma* para reducir enfermedades causadas por hongos del suelo es bien conocida (Inbar *et al.*, 1994).

Entender los mecanismos por los cuales los agentes de biocontrol actúan es crítico para mejorar su efectividad, no son mutuamente excluyentes, mientras uno parece ser el principal, a veces actúan en conjunto y se tienen metodologías para estudiarlos y monitorear a los agentes antagonistas (Jensen y Wolffhechel, 1995). Mientras el papel de la competencia y micoparasitismo ha sido convincente el de la antibiosis ha sido más difícil por la falta de métodos para evaluarla; sin embargo, es factible mediante la evaluación individual de cada metabolito (Knudsen *et al.*, 1997).

El micoparasitismo y en ello el papel de diferentes sustancias y la antibiosis con la producción de enzimas y metabolitos secundarios que son la llave en muchas interacciones que causan la destrucción del patógeno (Jensen y Wolffhechel, 1995).

Competencia por espacio y nutriente

Constituye un mecanismo de acción antagónica muy importante. Suprime el desarrollo de un microorganismo, ya sea, por la lucha por espacio, nutrientes o cualquier otro factor ambiental que limite su desarrollo (Lindow y Wilson, 1998).

Este hongo puede secretar moléculas llamadas sideróforos, los cuales son quelantes del hierro del medio ambiente, mineral que es necesario para la viabilidad de diversos hongos filamentosos, por lo cual, cuando *Trichoderma spp.* absorbe este mineral impide que el hongo fitopatógeno lo utilice, deteniendo así el crecimiento y desarrollo del mismo (Chet *et al.*, 1994).

En la competencia por nutrientes *Trichoderma* compite y coloniza más rápidamente los desechos vegetales y retarda la instalación de otros hongos, al colonizar desechos vegetales producen una infección primaria y gracias a los elementos nutritivos de esos desechos, logra contaminar los órganos sanos (Stefanova, 1995).

Antibiosis

Es la inhibición o destrucción de un organismo por los productos del metabolismo del otro. En sentido estricto es el antagonismo mediado por metabolitos específicos o no específicos de origen microbiano. Enzimas líticas, compuestos volátiles y otras sustancias tóxicas pueden interrumpir la síntesis de la pared celular y la elongación hifal de los hongos patógenos (Sarandon y Flores, 2014).

Micoparasitismo

Es definido como una simbiosis antagónica entre organismos. Generalmente, están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasa, celulasa, y proteasa, que rompen las estructuras de los hongos parasitados (Infante, 2009).

El Micoparasitismo se considera un mecanismo importante de la diversidad del control biológico, *Trichoderma* crece hacia el hospedante siguiendo un estímulo químico

detectándolo a distancia haciendo crecer sus hifas en dirección del patógeno, se adhiere a las hifas del mismo degradando la pared celular mediante enzimas líticas como, β -1,3- glucanasa, quitinasa, pectinasas, xilasas, glucosidasas, proteasa y celulasa (Harán *et al.*, 1996).

Estimulación de defensa de la planta

La estimulación de defensas de la planta, *Trichoderma* induce a la planta a producir Fitoalexinas por medio de sustancias secretadas por el microorganismo, a las cuales son sensibles algunos hongos patógenos. Las Fitoalexinas son producidas en forma natural por la planta como respuesta a heridas o infección de fitopatógenos o bajo ciertas condiciones de estrés abiótico (Duran, 2003).

Compuestos volátiles

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 (Hernández *et al.*, 2009).

Enzimas hidrolíticas

Trichoderma spp. es capaz de secretar enzimas hidrolíticas, entre las que se encuentran: (quitinasas, glucanasas, proteasas, lipasas, xilasas, pectinasas y amilasas). Esta producción es mayor cuando están presentes laminaria, la quitina o la pared celular de algún hongo fitopatógeno, o el hongo mismo. En estos casos, las enzimas secretadas por *Trichoderma spp.* degradan la pared celular del fitopatógeno. Facilitando la inserción de sus estructuras especializadas y la absorción de los nutrientes del interior del fitopatógeno (Stefanova *et al.*, 1999; Harman, 2006).

Actividad fúngica

Leuba y Stossel en 1986, mencionaron que la actividad antifúngica es debido a la habilidad que posee *Trichoderma spp.* De interferir en la función de la membrana plasmática en las células fúngicas. Las secreciones de enzimas líticas les permiten a *Trichoderma spp.* Degradar la pared celular del patógenos (Ait-Lahsen *et al.*, 2001).

Nawar (2005) menciona que a mayor concentración de citosina secretada por *Trichoderma sp.*, mayor es la inhibición en la germinación de esporas y el crecimiento lineal de *Fusarium oxysporum*.

Antecedentes del Género *Bacillus*

Las bacterias del género *Bacillus* fueron una de las primeras en ser descritas, y han jugado un rol principal en el desarrollo de la Microbiología. Este género fue descubierto en 1872 por Cohn, quien renombró la inadecuada descripción de Ehrenberg; de *Vibrio subtilis* a *Bacillus subtilis* (Méndez, 2004).

Generalidades de *Bacillus*

Se ha demostrado que las bacterias del género *Bacillus* presentan un gran potencial como antagonistas, principalmente por la gran cantidad de enzimas líticas, antibióticos y otras sustancias con actividad biocida capaces de producir efectos de control sobre varias especies de agentes fitopatógenos pertenecientes a los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Pythium*, causantes de severas enfermedades en semilleros y almácigos (Sosa y Gonzales, 2008).

- Producen endosporas, las que son termorresistentes y también resisten a agentes perjudiciales como la desecación, la radiación, los ácidos y los desinfectantes químicos.
- Muchos bacilos producen enzimas hidrofílicas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos, permitiendo que el organismo emplee estos productos como fuentes de carbono y donadores de electrones. - muchos bacilos producen antibióticos y son ejemplos de estos la bacitracina, polimixina, tirocidina, gramicidina y circulina.
- Los bacilos en general crecen bien en medios sintéticos que contienen azúcares ácidos orgánicos, alcoholes, etc. como las únicas fuentes de carbono y el amonio como única fuente de nitrógeno.
- Viven dentro los límites de temperatura de 55 a 70° C - el límite inferior de pH para *Bacillus* es de 2 a 3 (Glick, 1995).

Características de *Bacillus subtilis*

Bacillus subtilis es una bacteria Gram positiva, masófila, no patógena, que posee la capacidad de formar esporas ovoides o cilíndricas, estructuras altamente resistentes y viables por períodos de tiempo inconmensurables. *B. subtilis* está emparentado filogenéticamente con patógenos de importancia, tal el caso de *B. anthracis* y *Clostridium* sp., por lo cual es interesante utilizar esta bacteria como modelo de investigación. Dado que el hábitat natural de *B. subtilis* es el suelo, el cual está sometido a grandes fluctuaciones de temperatura, y dada la importancia que tienen los factores de transcripción spo0A para la formación de esporas, en la adaptación a otros tipos de estrés, se decidió estudiar la posible relevancia de estos reguladores de la transcripción en la respuesta y adaptación de *B. subtilis* ante un descenso súbito de la temperatura de crecimiento (Méndez, 2004).

Clasificación Taxonómica de *Bacillus*

Clasificación taxonómica de acuerdo con Jansen (2004)

Dominio: Bacteria

Phyllum: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Género: *Bacillus*

Especie: *subtilis*

***Bacillus subtilis* antagonista a patógenos en Plantas**

Existen muchos microorganismos que han sido considerados como antagonistas de algunos patógenos, constituyendo una alternativa a los productos químicos. La lucha ejercida por ellos puede ser por el contacto físico directo de éste con el agente causal de la enfermedad o bien por la liberación por parte del biocontrolador de sustancias que tienen un efecto negativo sobre el patógeno. Otra forma de actuar es a través de la competencia por espacio y nutrientes (Jarvis, 1989).

B. subtilis es conocido por ser antagonista de muchos hongos patógenos de vegetales. Este antagonismo es logrado a través de diversos mecanismos que incluyen la competencia por nutrientes, exclusión del sitio, colonización de la bacteria en el patógeno, y la liberación de componentes celulares durante el crecimiento, en orden de eliminar o reducir los competidores en su medio ambiente inmediato (Butt *et al.*, 1999).

Una de las posibles formas de utilización de *Bacillus subtilis* como agente de biocontrol es a través del tratamiento de semillas. Su efecto benéfico cuando se aplica junto a las semillas, no se debe exclusivamente al antagonismo proporcionado a los patógenos, sino que influyen positivamente en la germinación, desarrollo y rendimiento del cultivo debido a la producción de sustancias promotoras del crecimiento y al mejoramiento de la nutrición de las plantas. (Burke *et al.*, 2006).

Modo de Acción de *Bacillus subtilis*

Antibiosis

Produce enzimas hidrofílicas extracelulares que descomponen polisacáridos, ácidos nucleicos permitiendo que el organismo emplee estos productos como fuente de carbono y electrones. Producen antibióticos como la bacitricina, polimixina, gramicidina y circulina, reduciendo la incidencia de enfermedades (Cuervo, 2010).

Cuervo (2010) menciona que *B. subtilis* segrega una proteína llamada subtilina que actúa sobre la pared celular de los hongos, minimizando su daño, también demostró que induce resistencia sistemática natural de la planta contra el patógeno fungoso propiedad llamada Resistencia Sistemática Adquirida (SAR).

Estudios demuestran que *B. subtilis* colabora activamente en la degradación de diversos sustratos celulósicos, gracias a las enzimas que este aporta (Adelantado *et al.*, 2000).

Competencia

B. subtilis inhibe los agentes patógenos ocupando su nicho, metabolizando los exudados de la raíz que pueden ser utilizados por el patógeno (Hernández, 2008).

Inducción del crecimiento

La bacteria al establecerse en el sistema radical la protege y estimula la absorción de nutrientes (Obregón, 2004).

Inducción de resistencia

Al instalarse en las raíces y hojas induce a la planta a producir fitoalexinas que les dan resistencia a las plantas al ataque de hongos, bacterias y nematodos patógenos (Obregón, 2004).

***Bacillus subtilis* en la promoción de crecimiento de Plantas**

B. subtilis se encuentra de los PGPR o rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas, y son aquellas bacterias que aparecen libres en el suelo, capaces de adaptarse, colonizar y persistir en la rizósfera de la planta favoreciendo el crecimiento o desarrollo de ésta con su actividad. Estos microorganismos rizosféricos son capaces de mejorar la estructura del suelo y proteger al vegetal frente a agresiones de diverso origen. Además, los PGPRs pueden aportar formas asimilables de los nutrientes minerales (pudiéndose llamar por tanto biofertilizantes), producen fitohormonas y promueven un buen estado sanitario de la planta.

La materia orgánica del suelo, formada por restos vegetales, animales y microorganismos, está sometida a un proceso continuo de transformaciones, bajo la acción de factores edáficos, climáticos y biológicos. Sobre estos residuos es importantísima la acción de los PGPR's, ya que además actúan como biocatalizadores orgánicos naturales y aseguran una rápida colonización de la rizosfera y masa vegetativa, acelerando el crecimiento y vigor de la planta, algunas de ellas son *Bacillus subtilis*, *Bacillus licheniformis*, *Pseudomonas fluorescens*. (Burke *et al.*, 2006)

Cobre

Antecedentes

Los dos productos más antiguos, el Cobre y el Azufre se siguen usando hoy en forma amplia y efectiva. Lo mismo ocurre con los fungicidas de la “edad intermedia” de cómo las phthalamidas o los dithiocarbamatos, productos que se vienen usando desde hace más de 30 años. Todo ellos se caracterizan por tener múltiples sitios de acción (Mondino, 2001).

Los fungicidas han sido utilizados en los cultivos para controlar enfermedades causadas por hongos desde hace cerca de 200 años. Su uso ha evolucionado desde los comienzos en que se intentaba proteger los viñedos del ataque de la *Plasmopara viticola* con aplicaciones de sulfato de cobre hasta la actualidad. El número de cultivos tratados, el área tratada, el número de enfermedades que se intentan controlar y el número de principios activos disponibles se han incrementado enormemente (Mondino, 2001). El uso indiscriminado que se ha hecho de los fungicidas sistémicos y el desconocimiento de verdaderas estrategias de uso, dieron origen al problema de resistencia en diferentes partes del mundo (Delp, 1980).

Definición de Resistencia

Para Pérez (1997) la resistencia a un fungicida es la disminución o pérdida de la capacidad de dicho producto para controlar una enfermedad fungosa que originalmente controlaba, aun cuando haya sido aplicado correctamente.

Se entiende que es la habilidad, existente en la naturaleza y heredable, de algunos individuos, dentro de una población de un hongo, que les permite sobrevivir a la aplicación de un fungicida que, en condiciones normales, resulta eficaz contra ese hongo (Bermejo., *et al.*, 2000).

Mecanismo de Acción del Cobre

Su acción es en los esporangios y las zoosporas en las que desnaturalizan enzimas de la cadena respiratoria, consiste en la inhibición de la transferencia de electrones en la respiración celular, el metabolismo energético en el ciclo de Krebs y la fosforilación oxidativa afecta la germinación de las esporas, evitando así la aparición de ataques secundarios de la enfermedad. (Schwinn and Margot, 1991; Mendoza, 1992; Mendoza, 2002; Jarvis *et al.*, 2002; Tlapal, 2006).

MATERIALES Y MÉTODOS

Ubicación del Experimento

El trabajo se llevó a cabo en el invernadero y Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Buenavista Saltillo, Coahuila México.



Figura 1. Invernadero donde se estableció el experimento. UAAAN, 2017

Obtención del Material Genético y Biológico

Las semillas de maíz a utilizar fueron: criollo de Arteaga, criollo de Guanajuato y variedad Jaguan, fueron proporcionado por la Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda, así como también el material Biológico, *Fusarium verticillioides*, *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* y cobre.

Colecta del Suelo

La colecta del sustrato se llevó a cabo en la zona del bajío de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, donde en ciclos pasados se sembró maíz que presento síntomas

de mazorca con granos rojos y se trasladó a las instalaciones del invernadero del Departamento de Parasitología.



Figura 2. Colecta del sustrato. UAAAN, 2017

Llenado de contenedores

Se llenaron bolsas de polietileno de 10 kg en el bajío, UAAAN con suelo cribado, en las cuales por cada una se colocaron 4 semillas por variedad, acomodándose en un diseño completamente al azar.



Figura 3. Llenado de contenedores. UAAAN, 2017

Preparación del inóculo

Los hongos *Fusarium* y *Trichoderma* se incrementaron en arroz estéril, y *Bacillus* en caldo nutritivo, los cuales fueron disueltos en agua hasta obtener una concentración de

esporas de *T. harzianum* Y *F. verticilloides* de 1×10^8 (UFC/ML) en la escala de Mc Farland y la solución de endosporas de *B. subtilis* de 1×10^8 UFC/ml en la misma escala, Para el caso del cobre se utilizó el producto Cupravit a dosis 2 gramos por litro de agua.

Tratamientos

Cuadro 1. Tratamientos. UAAAN, 2017.

Tratamientos	Componentes
T1	<i>Trichoderma harzianum</i> 1×10^8 UFC/ml + <i>Fusarium verticillioides</i> 1×10^8 UFC/ml
T2	<i>Bacillus subtilis</i> 1×10^8 UFC/ml + <i>Fusarium verticillioides</i> 1×10^8 UFC/ml
T3	Producto a base de cobre 2 g/1L + + <i>Fusarium verticillioides</i> 1×10^8 UFC/ml
T4	<i>Fusarium verticillioides</i> 1×10^8 UFC/ml
T5	Testigo absoluto

Inoculación con benéficos

La inoculación de los microorganismos se realizó al momento de la siembra el patógeno se aplicó a las dos semanas de la siembre, las semillas se colocaron a una profundidad de 2.5 cm del suelo previamente humedecido, siendo un total de 4 semillas por contenedor. *Bacillus subtilis* 1×10^8 UFC/ml se aplicó 1ml/ 500ml de agua, *Thichoderma harzianum* 5 gr 1×10^8 UFC/ml y el cobre 2 gr/ 1 litro de agua.

Riego

El riego se aplicó por cada contenedor 2 veces a la semana durante 85 días.



Figura 4. Riego a contenedores. UAAAN, 2017

Parámetros a Evaluar

Evaluación de la germinación

Los criterios a evaluar para la germinación de acuerdo con el manual de laboratorio ensayos para la semilla maíz y trigo de acuerdo con CIMMYT (2013)

- **Semillas germinadas.** Se colocaron 4 semillas por contenedor por cada genotipo de maíz, para lo cual se contaron cuantas semillas germinaron para que se sacara el porcentaje de germinación.
- **Plantas sanas.** Se seccionaron las plantas que mostraron mejor altura, vigor y que la elongación de la planta estuviera derecha, para que se seleccionara una planta, para seguir con el experimento.

Evaluación altura de planta en centímetro

- **Altura.** Las plantas se midieron a los 85 días de germinado, por lo cual se tomaron 20 plantas al azar, para lo cual con la ayuda de una regla se midieron, a si de esta manera se obtuvo la altura.

Evaluación diámetro de tallo en centímetro

- **Diámetro.** Las plantas se midieron a los 85 días de germinado, para lo cual se tomaron 20 plantas al azar, con ayuda de un vernier se midió el diámetro.

Evaluación de la incidencia de *Fusarium* en las raíces

- **Incidencia.** Se seleccionaron 20 plantas al azar para cada genotipo, se cortó parte de la raíz para realizar la evaluación de la incidencia de *Fusarium*, se realizó un corte ala raíz para verificar que tuvieran síntomas por parte de este patógeno lo cual se analizó mediante una formula, los resultados se expresaron en porcentajes.

Incidencia(I): $(n^{\circ} \text{ de raíces con síntomas} / \text{total de raíces (sanas + con síntomas)}) * 100.$

Evaluación de la severidad de *Fusarium* en las raíces

- **Severidad.** De las 20 plantas que se utilizaron para la evaluación de la incidencia se utilizaron para medir la severidad, para poder determinar el porcentaje de daño se utilizó una formula, los resultados se expresaron en porcentajes.

Severidad (s): $(\text{peso de raíces con síntomas} / \text{peso total (sano + con síntomas)}) * 100.$

Análisis Estadístico

Para todas las variables a evaluar se utilizó un análisis completamente al azar en el programa estadístico SAS versión 9.0.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Comparación de medias de la germinación

El análisis de varianza en esta variable no manifestó diferencia significativa entre tratamientos ($p > 0.8571$), obteniendo un coeficiente de variación del 25.94029 %.

Cuadro 2. Análisis de varianza del porcentaje de germinación.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	4	744.302667	186.075667	0.32	0.8571
Error	10	5783.246667	578.324667		
Total	14	6527.549333			

Se aprecia que las plantas inoculadas con *Fusarium verticillioides* y el testigo fueron más altas que a las que se les aplicó Oxidocloruro de cobre, esto debido a la presencia de este patógeno en el suelo además de que algunas especies del género *Fusarium* producen ácido giberélico, viéndose estas fitohormonas presentes en diversos procesos del desarrollo vegetal como la elongación de tallos, la floración, germinación, crecimiento de frutos entre otros (Hedden, 1999; Sponsel, 2003).

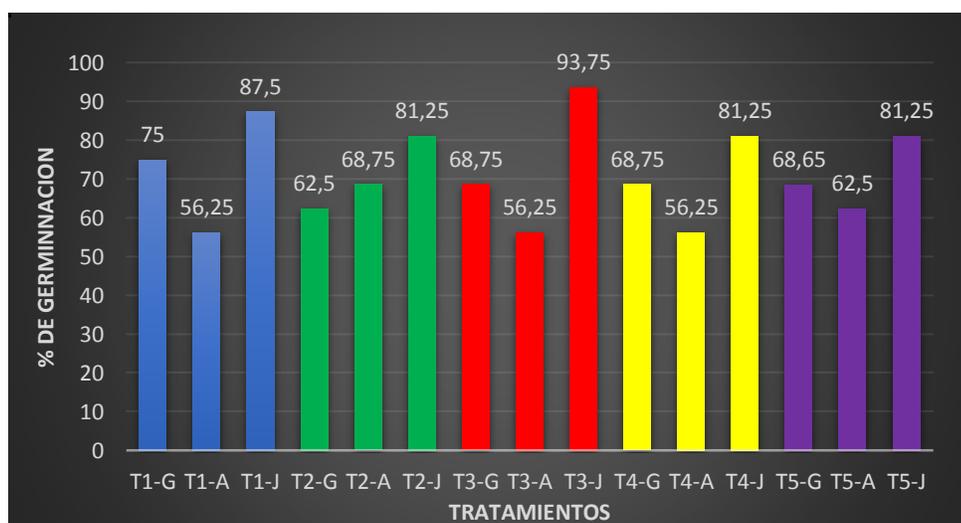


Figura 5. Efecto de los tratamientos en la germinación de 3 genotipos de maíz

Comparación de medias para altura de planta

El análisis de varianza no manifestó diferencia significativa entre tratamientos ($p > 0.8571$), obteniendo un coeficiente de variación del 25.94029 %.

Cuadro 3. Análisis de varianza de la altura de la planta

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	4	344.165553	86.041388	0.32	0.8571
Error	10	2674.173259	267.417326		
Total	14	3018.338812			

Se observa que las plantas que fueron inoculadas con el tratamiento 1, presentaron una mayor altura respecto a las demás, en cambio con el tratamiento 3 tienden a manifestar la menor altura.

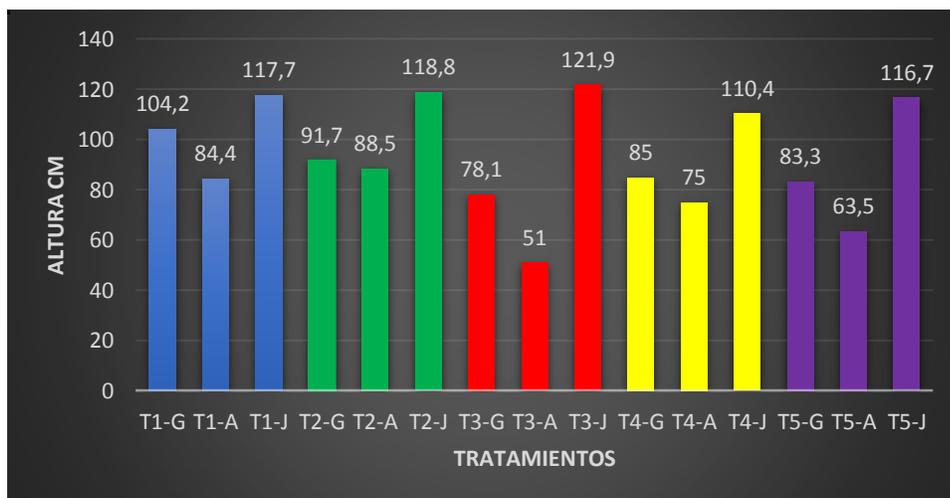


Figura 6. Efecto de los tratamientos en la altura de los 3 genotipos de maíz

Comparación de medias para diámetro de Tallo

El análisis de varianza en esta variable no manifestó diferencia significativa entre tratamientos ($p > 0.8571$), obteniendo un coeficiente de variación del 25.94029 %.

Cuadro 4. Diámetro de tallo. UAAAN, 2017

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	4	0.99515667	0.24878917	0.67	0.6266
Error	10	3.70561667	0.37056167		
Total	14	4.70077333			

De igual manera se observa que el tratamiento 5 (Testigo) ocupa el tercer lugar de acuerdo con el grosor del tallo de las plantas a los 85 días, siendo las plantas con el tratamiento 1 las mejores con el tallo más grueso.

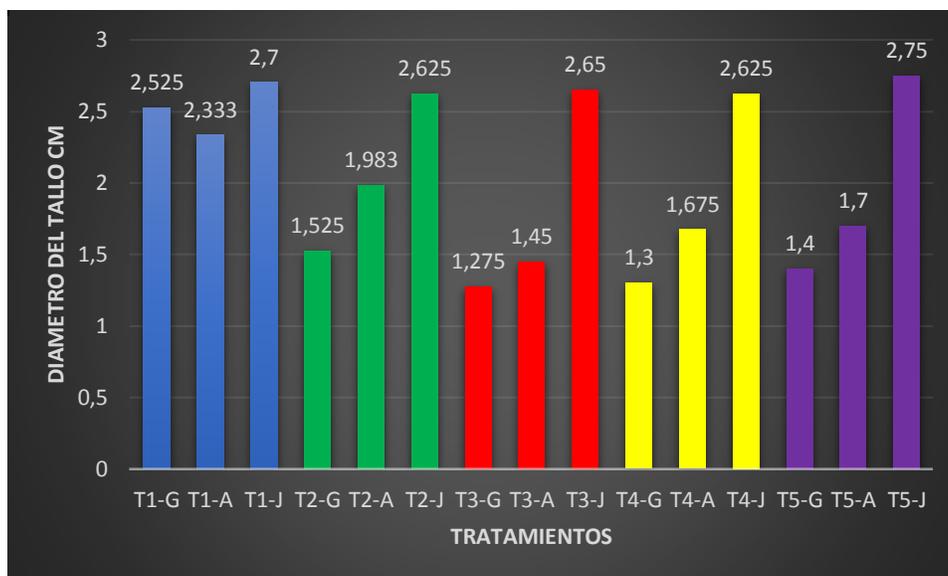


figura 7. Efecto de los tratamientos en el diámetro en los 3 genotipos de maíz

Comparación de medias para incidencia de *Fusarium* en las raíces

El análisis de varianza manifestó alta diferencia significativa entre tratamientos ($p > 0.0030$), obteniendo un coeficiente de variación del 27.38613 %.

Cuadro 5. Análisis de varianza de la incidencia de *Fusarium verticillioides*

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	4	11250.00000	2812.50000	8.44	0.0030
Error	10	3333.33333	333.33333		
Total	14	14583.33333			

En la siguiente tabla se observa que en las plantas que se les inóculo el tratamiento 4 (*Fusarium verticillioides* 1×10^8 UFC/ml) fue el que presentó mayor incidencia de *Fusarium sp* en las raíces, en cambio las plantas a las que se les inóculo el tratamiento 1 (*Trichoderma harzianum* 1×10^8 UFC/ml + *Fusarium verticillioides* 1×10^8 UFC/ml) presentaron menor incidencia en las raíces por parte de este patógeno, al igual Castro (2013) mencionó que *T. harzianum T1 4* reduce la incidencia de pudrición en 38.33%, puesto que este hongo tiene diferentes mecanismos de acción.

Cuadro 6. Agrupación de medias de los genotipos de maíz con *Fusarium verticillioides*

Tratamiento	Media	Agrupación		
4	100.000000	A		
5	91.670000	A	B	
2	66.670000	A	B	C
3	50.000000	B		C
1	25.000000	C		

*Letras iguales no son estadísticamente diferentes de acuerdo a Tukey al 0.05%.

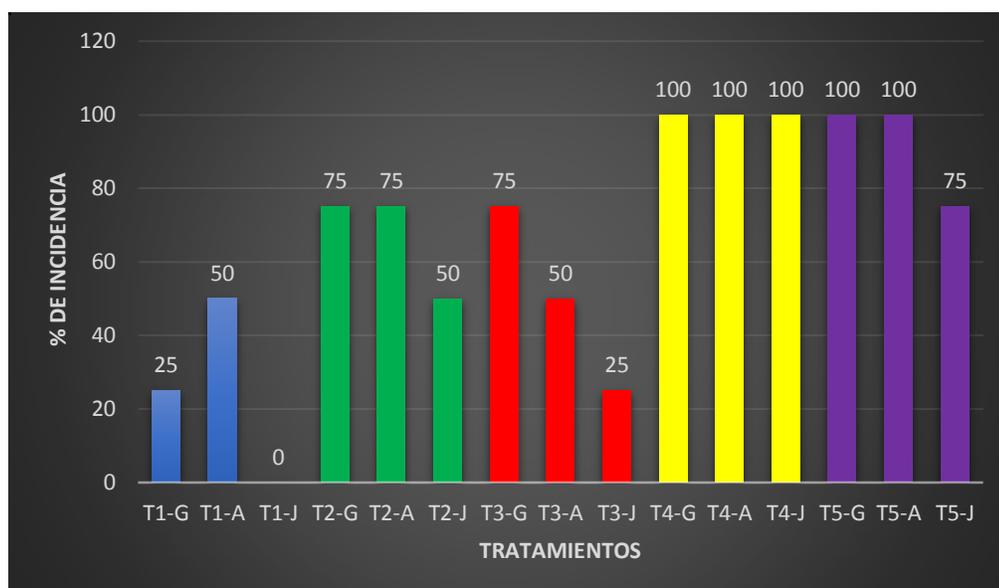


Figura 8. Efecto de los tratamientos en la incidencia de *F. verticillioides* en 3 genotipos de maíz UAAAN, 2017.

Comparación de medias de la severidad de *Fusarium* en las raíces

El análisis de varianza no manifestó diferencia significativa entre tratamientos ($p > 0.0406$), obteniendo un coeficiente de variación del 31.83577 %.

Cuadro 7. Análisis de varianza de la severidad de *Fusarium verticillioides*.

FV	GL	SC	CM	F	P>F
Tratamiento	4	1131.349333	282.837333	3.76	0.0406
Error	10	752.046667	75.204667		
Total	14	752.046667			

Se observa que las plantas con el tratamiento 5 fueron en las que la severidad de *F. verticillioides* en las raíces fue mayor siendo el tratamiento 1 el mejor, es decir, con una

severidad por parte de dicho patógeno menor, en cambio Martínez (2016) reporto una incidencia de *Fusarium oxysporum* en semillas de maíz del 70 % con una severidad del 100%, es decir tal fue el grado que ninguna semilla germino, esto debido a que la semilla es un medio en el cual el hongo puede sobrevivir y dañarla, viéndose afectado parcial o totalmente la calidad de la semilla.

Cuadro 8. Agrupación de medias

Tratamiento	Media	Agrupación
5	35.433	A
4	34.700	A
3	28.167	A B
2	26.567	A B
1	11.333	B

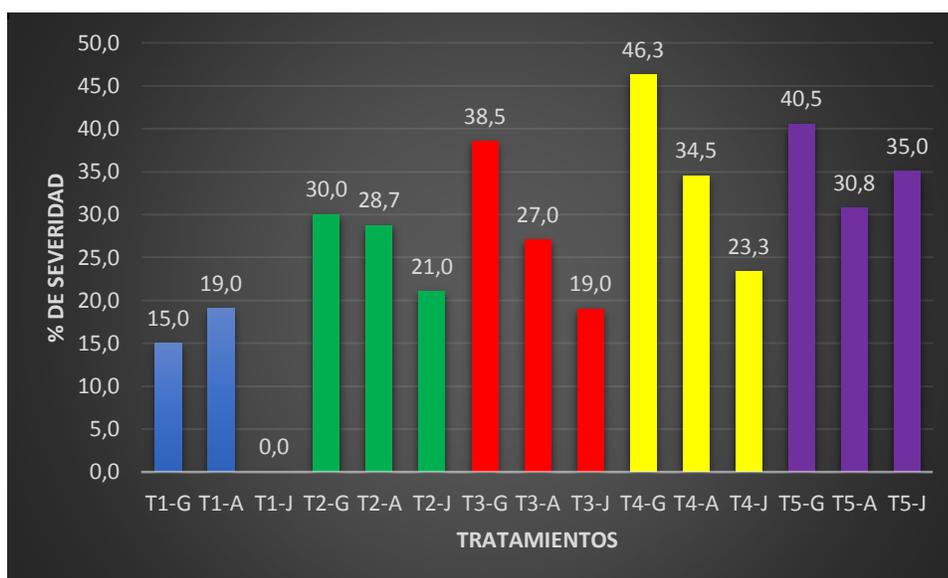


Figura 9. Efecto de los tratamientos en la severidad de *F. verticillioides* en 3 genotipos de maíz. UAAAN, 2017.

Reislamiento del patógeno

El patógeno se aisló de las raíces que manifestaban síntomas, se sembró en PDA, y después se caracterizó morfológicamente, para comprobar la presencia del patógeno.

CONCLUSIÓN

La incidencia de *Fusarium verticilloides* está presente en los tres genotipos de maíz, la variedad Jaguan fue la que presento los porcentajes más bajos de la presencia de este hongo con valores de 0 al 100% los genotipos criollos de Guanajuato y Arteaga Coahuila presentaron incidencia de un 25% al 100%.

En lo que respecta a la respuesta de los tratamientos los tres genotipos presentaron la incidencia más baja al aplicar *Trichoderma harzianum* Jaguan 0%, criollo Guanajuato 25%, criollo Arteaga 50% los tratamientos con *Bacillus* y cobre se comportaron muy similares con valores del 25 al 75% de incidencia, el testigo absoluto presento un 75% de incidencia en el genotipo Jaguan y un 100% en los criollos.

La severidad está presente en los tres genotipos, el tratamiento que se comportó mejor fue el de *Trichoderma harzianum* con valores de 0, al 19% de severidad, el tratamiento con *Bacillus* y cobre se comportaron muy similares, y el testigo absoluto presento una severidad mayor en los tres genotipos, el tratamiento 4 presento una menor severidad que el absoluto, solo el genotipo de Guanajuato fue mayor.

El genotipo que presento mayor severidad en todos los tratamientos fue el de Guanajuato, segundo del de Arteaga y el mejor fue el genotipo Jaguan.

LITERATURA CITADA

- Abed, A. F. A. A. M. 2005. Biological control of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* by using local isolates of *Trichoderma* spp. Tesis de Grado, An- Najah National University, Nablus, Palestine. 109 p.
- Adelantado, C., Acero, X., Tusell, P., Corcuera, P. y Calvo, Ma. 2000 Evaluación de la capacidad de cepas de *Bacillus subtilis* de degradar sustratos celulósicos. Microbiología, Departamento de sanidad animal y anatomía Universidad Autónoma de Barcelona. 9 p.
- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academic Press. 5° edition. San Diego, CA. USA. 921pp
- Ait-Lahsen, H., A. Soler, M.J. Rey, J. de la Cruz, E. Monte, and A. Liobell. 2001. An antifungal exo- α -1,3-glucanase (AGN13.1) from the biocontrol fungus *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology 67: 5833-5839
- Alexopoulos, C., J: C. W. Mims and M. Blackwell. 1996. Introductory Mycology. Fourth Edition, Wiley & Sons, Incorporated Jhon, New York, USA. 868 pp.
- Alezones, J. y Gonzales, A. 2009. Efecto de diferentes fungicidas sobre la incidencia de *Fusarium verticillioides*. Fitopatología de Venezuela. Vol. 22, No. 2. Pp 31 y 32.
- Álvarez, N. G. 1984. Fases y etapas fenológicas del cacahuate *Arachis hipogea* L. cultivado bajo riego en la región de Delicias, Chih. Tesis Profesional UAAAN.
- Argumedo, D., R.; Alarcon.; Ferrera, C., R. y Peña, C., J. J. 2009. El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánico e inorgánico. Microbiología. Vol. 25. No. 4. Pp 257-259.
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. 1998. Illustrated Genera Imperfect Fungy. Fourth Edition. Editorial Prentice Hall Inc. 241p.

- Bermejo P, Guerra J.A, Martínez F. 2000. Gestión del riesgo de resistencia de patógenos a los fungicidas. Libro de Actas del Congreso Iberoamericano de Investigación y Desarrollo en Patata. Patata 2000. 3-6 Julio, Vitoria–Gastéis, España. 493-503 p.
- Burke D.J., A.M. Kretzer, P.T. Rygielwicz & M.A. Topa. 2006. Soil bacterial diversity in a loblolly pine plantation: Influence of ectomycorrhizas and fertilization. FEMS Microbiology Ecology 57:409-419.
- Bush, B. J.; L. Carson. M.; A. Cubeta, M.; M. Hagler, W. and A. Payne, G. 2004. Infection and fumonisin production by *Fusarium verticillioides* in developing maize kernels. Phytopathology. Vol. 94, No.1. Pp 88-93.
- Butt T. M., J. G. Harris and K. A. Powell. 1999. Microbial Biopesticides. The European scene In Biopesticides use and Delivery. Ed.F. R. Hill and J. J. Menn. Humana Press, N. J. Pp: 23-44.
- Castro. del A. E. (2013). Control de *Fusarium verticillioides* en Genotipos de Maíz con especies de *Trichoderma* bajo condiciones de Campo. Tesis de Maestría. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Cantu, J. M. R., 1998. Distribución de cepas de *Fusarium moniliforme* productoras de fomonisina B1 en maíz cultivado en el Estado de Nuevo León, Tesis de postgrado. San Nicolás de los Garza, Nuevo León.
- Carmona, M. y M. Scandiani (2011). Importancia y control de *F. verticillioides* en semillas de maíz. Propuesta para su manejo. Fitopatología. FAUBA. Laboratorio agrícola Rio Paraná. San Pedro. 76 p.
- Chet, I and Inbar, J. 1994. Biological control of fungal pathogens. Applied Biochemistry and Biotechnology. 48:37-43.
- CIMMYT, 2013. Manual de ensayos para la semilla de maíz y trigo.

- Cisneros, L. Ma. E., Mendoza, O. L. E., Mora, A. G. 2007. Cold tolerant sorghum hybrids and parental lines. III: Quality of seeds harvested from plants infected with *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg. *Agrociencia*. 41:405-415.
- Cuervo, L. J. P. 2010. Aislamiento y caracterización de *Bacillus spp.* como fijadores biológicos de nitrógeno y solubilizadores de fosfatos en dos muestras de biofertilizantes comerciales. Tesis de Licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana Facultad de Ciencias Básicas Carrera de Microbiología Agrícola Y Veterinaria, Bogota D.C. 28 p.
- Damarys M., Medina, C. y Zenteno, Z. 1976. Morfología de mazorcas de maíz. México. *II boletín de la Sociedad de Microbiología*. 10:71-72.
- De La Cruz, S., A. Hidalgo-Gallego, J. Lora, T. Benítez, and J. Pintortoro. 1992. Isolation and characterization of three chitinases from *Trichoderma harzianum*. *European Journal Biochemistry*. 200: 859-867.
- De la Torre, H., Sánchez, R. Ma. E., Galeana, S. D., Eduardo, y Plasencia, P, J. 2014. Fumonisin Síntesis y función en la interacción *Fusarium verticillioides* maíz. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 17(1), 77-91.
- Delp, C.J. 1980. Coping with resistance to plant disease control agents. *Plant Disease*. 64: 652-657 p.
- Dennis, C., y Webster, J. (1971c). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interactions. *Transactions of the British Mycological Society*, 57, 363-369.
- Desjardins A E, Proctor R H. 2001. Biochemistry and genetics of *Fusarium* toxins. In: *Fusarium*. Summerell. Editorial: APS Press. St. Paul, Minnesota. pp 22 – 137.
- Duncan, K.E. and Howard, R.J. 2010. Biology of maize kernel infection by *Fusarium verticillioides*. *Mol. Plant-Microbe Interact*. 23, 6-16.

- Duran, E., M.Y. De Romero, E. Romero, y J. Ramallo. 2003. Sensibilidad in vitro de cepas de *Trichoderma* aisladas de semillas de soja frente al fungicida maxim® xl. Boletín Micológico 22: 51-54.
- FAO. Consulta de bases de datos de producción mundial y comercio internacional de Maíz. Disponible en: <http://apps.fao.org/faostat>. [Consulta: noviembre 2017].
- Gilbertson, R.L., Brown, M. Jr., Ruppel, E.G. Capinera, J.L. 1986. Association of corn stalk rot *Fusarium spp.* and western corn rootworm beetles in Colorado. Phytopathology. 76, 1309-1314.
- Gleen, A., E.; Gold, S., E. and Bacon, C., W. 2002. Fdb1 and Fdb2, *Fusarium verticillioides* loci necessary for detoxification of preformed antimicrobials from corn. Vol. 15, No. 2. Pp 91-101.
- Glick, B. R. 1995. The enhancement of plant growth by free-living bacteria. Can. J. Microbiol. 41:109-117.
- Haran, S., Schickler, H., Oppenheim, A., y Chet, I. (1996). Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. Phytopathology, 86, 980-985.
- Harman, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant disease. 84: 377-393
- Hedden P (1999) Recent advances in gibberellin biosynthesis. J Exp Bot 50: 553–563 [Consulta: Octubre 2016].
- Hernández, C. F. D., Berlanga, P. A. M., Gallegos, M. G., Cepeda, S. M. y Ovalle, N. S. Uso de Filtrados Tóxicos de *Trichoderma spp.* Sobre *Rhizoctonia solani*. 2009. Memorias del XXXII Congreso Nacional de Control Biológico. Septiembre 2016. Villahermosa, Tabasco, México. 431 p.

- Hernández, C. F. D., Lira, S. R. H., Cruz, C. L., Gallegos, M. G., Galindo, C. M. E., Padrón, C. E. y Hernández, S. M. 2008 a. Antifungal potential of *Bacillus spp.* strains and *Larrea tridentata* extract against *Rhizoctonia solani* on potato (*Solanum tuberosum* L.) crop. International Journal of experimental botany *Phyton* 77:241-252.
- Hernández, J. A. 2008. *Trichoderma* en el control de enfermedades de plantas. Universidad de Zulia Facultad de Agronomía del estado de Zulia, Venezuela. Disponible en: <http://www.oocities.org/ecologialuz/trichoderma3.htm>.
- Herrera, T. y Ulloa, M. 1990. El reino de los hongos, micología básica y aplicada. Universidad Nacional Autónoma de México. Fondo de Cultura Económica. México, D.F. 552 pp.
- Inbar, J., Abramsky, M., Cohen, D., y Chet, I. (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
- Infante, D., Martínez, B., Gonzales, N. y Reyes, Y. 2009. *Trichoderma* mechanisms of action against phytopathogen fungi. *Revista de Protección Vegetal*.24:14-21.
- Jansen, J. D, 2004. Fatty acid analysis in the identification, taxonomy and ecology of (plant pathogenic) bacteria. In: Kowalchuk GA, de Bruijn FJ, Head IM, Akkermans AD, van Elsas JD, eds. *Molecular Microbial Ecology Manual*, 2nd ed. New York, USA: Springer Publishing, 973-982.
- Jarvis, W. R. and R. A. Shoemaker. 1989. Taxonomic status of *Fusarium oxysporum* causing foot and root rot of tomato. *Phytopathology* 68:1679-1680.
- Jarvis, W. R., W. D. Gubler, and G. G. Grove. 2002. Epidemiology of powdery mildews in agricultural pathosystems. Pp. 169-199. In: *The Powdery Mildews. A comprehensive treatise*. Bélanger, R. R., W. R. Bushnell, A. J. Dik and T. L. W. Carver (eds). APS PRESS, St. Paul, Minnesota.

- Jensen, D.F., y Wolffhechel, H. 1995. Biological Control: Bnefits and Risks. (Series: Plant and microbial biotecnology research. En: M.T.H., Heikki y J.M. Lynch (Eds.). The use of fungi, particularly *Trichodrema spp.* and *Gliocladium spp.*, to control root rot and Damping-off diseases. Cambridge: Cambridge, University Press. Pp.177-189.
- Knudsen, I.M.B., Hockenhull, J., Jensen, D.F., Gerhardson, B., Hökeberg, M., Tahvonen, R., Teperi, E., Sundheim, L., y Henriksen, B. (1997). Selection of biological control agents for controlling soil and seed-borne diseases in the field. *European Journal of Plant Pathology*, 103, 775-784.
- Levin, L., Ridaio, A., Castaño, F. 2003. Fusariosis de la espiga en el maíz. INTA: 20ª Jornada de actualización profesional en cultivos de verano. Mar del Plata, Setiembre de 2006.165.p
- Lindow, S.E., y Wilson, M. (1998). *Manual of Industrial Microbiology and Biotechnology*. En J. Davies (Ed.) *Strategies for implementation of biological*.
- Llancer, G.; López, M.M.; Trapero, A.; Bello, A. 2000. *Patología Vegetal*. Segunda Edición. Phytoma-Sociedad Española de FitopatologiaGrupo Mandí-Prensa. Madrid España
- Marasas, W. F. O. 2001. Discovery and occurrence of the fumonisins: a historical perspective. *Environmental Health Perspectives*. 109:239-243.
- Martínez, C.Y. (2016). *Detección de Hongo en Semillas de Maiz*. Tesis de Licenciatura. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.
- Mastouri, F.; Björkman, T. y Harman, G., E. 2012. *Trichoderma harzianum* Enhances Antioxidant Defense of Tomato Seedlings and Resistance to Water Deficit. Vol. 25. No. 9. Pp1264-1271.

- Matsuoka Y.; Y. Vigouroux.; M. Goodman.; J. Sanchez.; E. Buck and J. Doebley. 2002. A single domestication for maize shown by multilocus microsatellite genotyping. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 99: 6080-6084.
- Maya, H. V., B. 2013. *Trichoderma harzianum*. Conocimientos con todos y para todos EcuRed. Disponible en: <http://www.ecured.cu/index.php/Trichodermaharzianum>.
- Méndez, B. M. 2004. Novel roles of the master transcription factor spo0a and sigma B for survival and sporulation of bacillus subtilis at low growth temperature. *Journal of Bacteriology*. 186(4) 989-1000, 2004.
- Mendoza Z., C. 1992. Enfermedades fungosas en hortalizas y fresa. Pp. 273-312. En: Manejo fitosanitario de las hortalizas en México. Anaya R., S., N. Bautista M., B. Domínguez R. (eds). Centro de Entomología y Acarología. Chapingo, Estado de México. Colegio de Postgraduados. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos.
- Mendoza Z., C. 2002. Fungicidas en ornamentales. Pp. 119-147. En: Manejo fitosanitario de las ornamentales. Bautista M., N., J. Alvarado L., J. C. Chavarín P., H. Sánchez A. (eds). Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México.
- Mendoza, M., E.; E, Andrio., E.; A, López., B.; R, Rodriguez., Guerra.; L, Latournerie., Moreno.; S, A. Rodriguez., Herrera. 2006. Tasa de pudrición del tallo en el maíz causado por *Fusarium moniliforme*. *Agronomía Mesoamericana*. Celaya, Guanajuato, México. Vol. 17, No. 1. Pp 19-24. 2004.
- Mondino. P. 2001. Curso de Protección Vegetal Hortícola y Protección Vegetal Frutícola. Tema: Manejo de la Resistencia a fungicidas 11: 2-4 p.

- Moreno, M. E y Zamor, J., J. (1978) Guía para evitar problemas causados por hongos en semillas y granos almacenados. UNAM. Mercksharp y Dohme de México, S.A. de C. V. Pp. 1-8.
- Munkvold, G. P., and Carlton, W. M. 1997. Influence of inoculation method on systemic *Fusarium moniliforme* infection of maize plants grown from infected seeds. Plant Dis. Vol.81, No. 2. Pp211-216.
- Murillo, I., Cavallarin, L. and San Segundo, B. 1999. Cytology of infection of maize seedlings by *Fusarium verticillioides* and immunolocalization of the pathogenesisrelated PRms protein. Phytopathology. 89, 737-747.
- Nawar, L.S. 2005. Chitosan and Three *Trichoderma spp.* to Control *Fusarium* Crown and Root Rot of Tomato in Jeddah, Kingdom Saudi Arabia. Egypt Journal Phytopathology 33(1): 45-58.
- Nelson P.E, Toussoun T.A, Marasas, WOF. 1982. *Fusarium sp*, an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State. University Press: University Park, PA. pp:1-193.
- Obregón, G. M. Á. 2004. *Bacillus subtilis* bacteria antagónica y promotora de crecimiento *Bacillus subtilis* cepa mog04, Control biológico de enfermedades en los cultivos. Disponible en <http://doctorobregon.com/Bacillussubtilis.aspx>.
- Ortoneda, M.; GUARRO, J.; Madrid, M.; Caracuel, z.; Roncero, M.I.; Mayayo, E.; Di rieto, A. 2004. *Fusarium oxysporum* as a multihost 117 model for the genetic dissection of fungal virulence in plants and mammals. Infection and Immunity. 72:1760-176.
- Pérez L., J. R. 1997. Evaluación del metalaxyl M para el control del tizón tardío de la papa *Phytophthora infestans* (Mont.) De Bary. Tesis de Licenciatura. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 79 p.

- PROMEAR. 2009. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación; Proyecto especial de producción de maíz de alto rendimiento. 137 p.
- Ranere A.; D. Piperno.; I. Holst and J. Iriarte. 2009. The cultural and chronological context of early Holocene maize and squash domestication the Central Balsas River Valley, Mexico. *Proc Natl Acad Sci USA*. 106 (13): 5019-5024.
- Rodríguez, R., y De león, C. 2008. El cultivo del maíz Temas selectos. México: Mundi Prensa.
- Romero, S., C. 1988. Hongos Fitopatógenos. Patronato Universitario. Ed Luciano Tress V. UACH. Estado de México, Mex. 347 p.
- Rosa A. 2009. El cultivo de Maíz, su origen y clasificación. El Maíz en Cuba. Cultivos tropicales vol. 30, Núm. 2. p- 113- 120.
- Sanabria, N.; Guadarrama, A.; Romero, H. 2002. Caracterización de especies de *Fusarium* mediante patrones electroforéticos de proteínas. *Revista de la Facultad de Agronomía de La Universidad del Zulia*. 28:161173.
- Sarandón S.J., Flores C.C. 2014. Agroecología: bases teóricas para el diseño y manejo de agroecosistemas sustentables., 1a ed. - La Plata: Universidad Nacional de La Plata., pp 314-341.
- Schwinn, F.J., and Margot, P. 1991. Control with chemicals. Pages 225-265 In: *Phytophthora infestans*, the cause of late blight of potato. *Advances in Plant Pathology*. D.S. Ingram and P.H. Williams, eds. Academic Press, London.
- Shim W-B, Woloshuk C. 1999. Nitrogen repression of fumonisin B1 biosynthesis in *Gibberella fujikuroi*. *FEMS Microbiology Letters*. 177:109-116.
- SIAP. 2014. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. <http://www.siap.gob.mx>.

- SIAP-SAGARPA 2012. Reporte Panorama del Maíz en México 2014, [Consultado Julio 2016]. Disponible en: <http://www.financierarural.gob.mx>.
- Sosa, A. B. Y. y Gonzales, M. 2008. Aislamiento, identificación y caracterización de cepas de *Bacillus spp.* Con potencialidades para el control biológico de los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Pythium*. Taller Latinoamericano de Biocontrol de Fitopatógenos, Ciudad de La Habana, Cuba, 22-29 Sep. 2008. 14(1) p. 63.
- Sponsel VM (2003) Gibberellins. In: Henry HL, Norman AW (eds) Encyclopedia of hormones, vol 2. Academic, pp 29–40.
- Stefanova, M., Leiva, A. Larrinaga, L. y Coronado, M. F. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma spp.* para el control de hongos fitopatógenos del suelo. Revista Facultad de Agronomía. 16:509-516.
- Stefanova, N.M., y Sandoval, R.I. (1995). Efectividad de biopreparados de *Trichoderma spp.*, en el control de fitopatógenos de suelo. Boletín Técnico CIV_INISAV, 2, 10-22.
- Summerell, B., A.; Salleh, B. y Lesli, J. F. 2003. A Utilitarian Approach to *Fusarium* identification. The American Phytopathological Society. Vol. 87, No. 2. Pp 117-128.
- Tlapal B., B. 2006. Principales enfermedades del jitomate. Pp. 153-189. En: Producción del jitomate en invernadero. Bautista M., N., y J. Alvarado L. (eds). Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México.
- USDA. 2014. Departamento de Agricultura de Estados Unidos <http://www.usda.gov> .
- Warham, E. J., Butler, L. D. y Sutton, B. C. 1996. Ensayos para la semilla de maíz y de trigo. Manual de laboratorio. CIMMYT. México, D. F. 84p.

Williams, M. A., and Munkvold, G. P. 2008. Systemic infection by *Fusarium verticillioides* in maize plants grown under three temperature regimes. Plant Dis. Vol. 92, No. 12. Pp1695-1700.

APÉNDICE

Cuadro de concentraciones de los parámetros a evaluar genotipo Guanajuato

GENOTIPO GUANAJUATO	T1 <i>Trichoderma</i>	Repetición	Germinación	Altura	Diámetro	Incidencia	Severidad
		1	3	125	2.9	0	0
		2	3	91.7	2.4	1	30
		3	2	91.7	2.5	0	0
		4	4	108.3	2.3	0	0
	T2 <i>Bacillus</i>	1	3	87.5	1.8	1	35
		2	3	87.5	1.3	1	37
		3	2	91.7	1.4	1	39
		4	2	100.0	1.6	0	0
	T3 Cobre	1	2	91.7	1.1	1	45
		2	3	91.7	1.4	1	38
		3	3	62.5	1.3	1	40
		4	3	66.7	1.3	0	31
	T4 <i>Fusarium</i>	1	2	91.7	1.2	1	55
		2	2	95.8	1.3	1	38
		3	4	79.2	1.3	1	47
		4	3	75.0	1.4	1	45
	T5 Testigo	1	2	104.2	1.8	1	40
		2	3	70.8	1.3	1	39
		3	3	70.8	1.2	1	45
4		3	87.5	1.3	1	38	

Cuadro de concentraciones de los parámetros a evaluar genotipo Arteaga

GENOTIPO ARTEAGA	T1 <i>Trichoderma</i>	Repetición	Germinación	Altura	Diámetro	Incidencia	Severidad
		1	2	104.2	2.4	1	30
		2	3	62.5	2.3	0	0
		3	2	104.2	2	1	27
		4	2	66.7	2.4	0	0
	T2 <i>Bacillus</i>	1	2	58.3	2	1	29
		2	2	104.2	2	1	35
		3	4	108.3	1.8	1	22
		4	3	83.3	1.9	0	0
	T3 Cobre	1	2	41.7	1.3	1	39
		2	2	62.5	1.4	1	15
		3	3	41.7	1.5	0	0
		4	2	58.3	1.6	0	0
	T4 <i>Fusarium</i>	1	2	83.3	1.8	1	33
		2	2	70.8	1.3	1	27
		3	2	70.8	1.5	1	40
		4	3	75.0	2.1	1	38
	T5 Testigo	1	3	41.7	1.4	1	25
		2	2	50.0	1.8	1	33
		3	2	120.8	2	1	45
4		3	41.7	1.6	1	20	

Cuadro de concentraciones de los parámetros a evaluar genotipo Jaguan

GENOTIPO JAGUAN		Repetición	Germinación	Altura	Diámetro	Incidencia	Severidad
		T1 <i>Trichoderma</i>	1	3	137.5	2.9	0
	2	4	91.7	2.7	0	0	
	3	4	120.8	2.6	0	0	
	4	3	120.8	2.6	0	0	
T2 <i>Bacillus</i>	1	3	141.7	2.6	1	27	
	2	4	100.0	2.8	1	15	
	3	3	125.0	2.8	0	19	
	4	3	108.3	2.3	0	19	
T3 Cobre	1	4	120.8	2.9	1	19	
	2	3	120.8	2.4	0	0	
	3	4	120.8	2.7	0	0	
	4	4	125.0	2.6	0	0	
T4 <i>Fusarium</i>	1	3	91.7	2.7	1	30	
	2	3	100.0	2.6	1	26	
	3	4	125.0	2.5	1	15	
	4	3	125.0	2.7	1	22	
T5 Testigo	1	3	116.7	2.8	1	35	
	2	4	120.8	2.7	1	34	
	3	3	112.5	2.8	1	29	
	4	3	116.7	2.7	0	0	

Variable: % de Germinación (ger)

Fuente	DF	Suma Cuadrado	Cuadrados medios	F Valor	Pr > F
Modelo	4	36.458333	9.114583	0.05	0.9949
Error	10	1901.041667	190.104167		
Total corregido	14	1937.500000			

R-Cuadrado	Coe. Var.	Raiz MSE	ger Media
0.018817	19.35134	13.78783	71.25000

Fuente	DF	Anova SS	cuadrado medio	F Valor	Pr > F
tratamientos	4	36.45833333	9.11458333	0.05	0.9949

agrupación	medias	N	trat
A	72.92	3	1
A	72.92	3	3
A	70.83	3	2
A	70.83	3	5
A	68.75	3	4

Variable: Altura de Planta (alt)

Suma					
Fuente	DF	cuadrados	cuadrado medio	F Valor	Pr > F
Modelo	4	344.165553	86.041388	0.32	0.8571
Error	10	2674.173259	267.417326		
Total Corregido	14	3018.338812			

	R-Cuadrado	Coe. Var	Raiz MSE	alt Media	
	0.114025	25.94029	16.35290	63.04053	
Fuente	DF	Anova SS	cuadrados medios	F Valor	Pr > F
trat	4	344.1655531	86.0413883	0.32	0.8571

Agrupación	Media	N	trat
A	69.43	3	1
A	67.77	3	2
A	61.38	3	4
A	59.73	3	5
A	56.89	3	3

Variable: Diámetro de tallo (dia)

Suma					
Fuente	DF	Cuadrado	Cuadrados medios	F Valor	Pr > F
Modelo	4	0.99515667	0.24878917	0.67	0.6266
Error	10	3.70561667	0.37056167		
Total corregido	14	4.70077333			

R-Cuadrado Coe. Var Raiz MSE media dia.

0.211701 29.96740 0.608738 2.031333

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado Medio	F Valor	Pr > F
Trat.	4	0.99515667	0.24878917	0.67	0.6266

Agrupación	medias	N	trat
A	2.5167	3	1
A	2.0417	3	2
A	1.9500	3	5
A	1.8667	3	4
A	1.7817	3	3

Variable: Incidencia (inc)

Suma					
Fuente	DF	cuadrado	cuadrados medios	F Valor	Pr > F
Modelo	4	11250.00000	2812.50000	8.44	0.0030
Error	10	3333.33333	333.33333		
Total corregido	14	14583.33333			

R-cuadrado	Coe. Var	Raiz MSE	medias inc.
0.771429	27.38613	18.25742	66.66667

Fuente	DF	Anova SS	cuadrados medios	F Valor	Pr > F
trat	4	11250.00000	2812.50000	8.44	0.0030

Agrupación	Medias	N	trat
A	100.00	3	4
B A	91.67	3	5
B A C	66.67	3	2
B C	50.00	3	3
C	25.00	3	1

Variable: % Severidad (sev)

Suma

Fuente	DF	Cuadrado	cuadrado medio	F Valor	Pr > F
Model	4	1131.349333	282.837333	3.76	0.0406
Error	10	752.046667	75.204667		
Total corregido	14	1883.396000			

R-cuadrado	Coeff Var	raíz MSE	sev Media
0.600696	31.83577	8.672062	27.24000

Prueba de rango para severidad

Las medias con las mismas letras no son significativamente diferentes.

Agrupación	Medias	N	trat
A	35.433	3	5
A	34.700	3	4
B A	28.167	3	3
B A	26.567	3	2
B	11.333	3	1