UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN DE AGRONOMÍA DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA



Efectividad Biológica de *Trichoderma harzianum* sobre la Costra Negra de Papa *Rhizoctonia solani* Bajo Condiciones de Invernadero

Por:

MARÍA DEL CARMEN NELY ANDRADE AYALA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Saltillo, Coahuila, México Noviembre 2014

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO DIVISIÓN DE AGRONOMÍA DEPARTAMENTO DE BOTÁNICA

Efectividad Biológica de *Trichoderma harzianum* sobre la Costra Negra de Papa *Rhizoctonia solani* Bajo Condiciones de Invernadero

Por:

MARÍA DEL CARMEN NELY ANDRADE AYALA

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO EN AGROBIOLOGÍA

Aprobada

Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo Asesor Principal

Dr. Gabriel Ballegos Morales

Dra. Silvia Yudith Martínez Amador
Coasesor

Dr. Leobardo Bañuelos Herrera Coordinador de la División de Agronomía

> Coordinación División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México Noviembre 2014

AGRADECIMIENTOS

A dios, por darme todo lo que tengo, por permitirme llegar a este momento de mi vida por darme las fuerzas para siempre salir adelante y no dejarme caer en los momentos difíciles de mi vida y durante el transcurso de mi Carrera.

A Mi Alma Terra Mater, por darme los medios durante mi formación profesional.

Al Dr. Francisco Daniel Hernández Castillo, por aceptar ser mi asesor, por orientarme y sobre todo por su apoyo y paciencia durante la realización de este trabajo.

Al Dr. Gabriel Gallegos Morales, por su apoyo y colaboración y tiempo en la realización de esta investigación

A la Dra. Silvia Yudith Martínez Amador, por su apoyo y por haber sido parte de los profesores que me formaron durante mi estancia en la universidad.

A Mª. Cristina Sánchez Flores, por su apoyo y orientación en el laboratorio.

A Epifanio Castro del Ángel y Diana Llera Aguilar por su apoyo en este trabajo el cual fue fundamental.

A Marco Antonio Tucuch Pérez, por su apoyo incondicional durante la realización de este trabajo.

A mis grandes amigas Elda Luz y Gabriela, gracias por su apoyo, por todos los momentos que pasamos y compartimos, por todas las experiencias juntas en el transcurso de nuestra formación en la universidad, las quiero mucho!

A la Sra. Hortensia Espinoza, por ser tan buena conmigo por apoyarme y por todas sus bendiciones y buenos deseos.

A mis compañeros de la generación CVXII de Ingeniero en Agrobiología.

A todos y cada uno de los profesores de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro por compartir sus conocimientos y ser parte de mi formación profesional.

DEDICATORIAS

A mi madre Adelia Ayala, por ser mi amiga incondicional por apoyarme siempre en todo momento, por ser la mujer más grandiosa de todas por todos tus sacrificios por dar siempre todo lo mejor de ti y por darme siempre el ejemplo de mujer luchadora por enseñarme el valor de las cosas por no dejarme caer en los momentos difíciles, eres la mejor mama te quiero mucho!

A mi padre Jesús Andrade, por ser mi ejemplo de vida y de luchador incansable por darme siempre todo y apoyarme en todas y cada una de las decisiones que eh tomado en mi vida por ser un padre y hombre ejemplar, gracias por tus esfuerzos para con tu familia sé que estas lejos de nosotros para siempre darnos lo mejor, por darnos siempre libertad de volar lejos de casa para logar nuestros sueños, Gracias papa te quiero mucho!

A ustedes dos por todo su apoyo por todo cuanto me han dado en la vida por su amor, cariño y compresión por estar siempre a mi lado cuando los necesito, no me alcanzaría la vida para agradecerles todo lo que me han dado estoy orgullosa de ustedes, que diosito los cuide y bendiga siempre....son los mejores papas los quiero mucho!!!

A mis hermanos Julieta, Julio Y Omar, hermanos míos esto también es por y para ustedes que siempre han estado a mi lado en los buenos y malos momentos, gracias por comprenderme y apoyarme por ser mis amigos dios los cuide y los proteja siempre en su vida y todo lo que hagan....los quiero mucho!

A Marco Antonio Tucuch Pérez, gracias por ser mi amigo, mi cómplice y por estar siempre a mi lado en todo momento apoyándome y alimentándome a salir a delante, por creer siempre en mí, gracias por tu compañía y por todo tu amor y comprensión, siempre tendrás un lugar importante en mi vida y te deseo lo mejor a ti y a ti familia que dios los cuide y bendiga siempre.

ÍNDICE DE CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	٧
ÍNDICE DE FIGURAS	vi
ÍNDICE DEL APENDICE	vii
RESUMEN	vii
INTRODUCCIÓN	1
OBJETIVO GENERAL	2
OBJETIVOS ESPECIFICOS	2
HIPOTESIS	2
REVISIÓN DE LITERATURA	3
Importancia del cultivo	3
Producción nacional	3
Hongos Fitopatógenos del suelo asociados a la papa	4
Costra negra de la Papa Rhizoctonia solani Kühn	4
Características Morfológicas	5
Características Epidemiológicas	5
Grupos de Anastomosis de R. solani	6
Sintomatología	7
Ciclo de la Enfermedad	8
Manejo de Rhizoctonia Solani	9
Control Cultural	9
Control Genético	9
Control Químico	10
Control Biológico	10
Control Biológico de Fitopatógenos	11
Historia e Importancia del Control Biológico	11
Genero <i>Trichoderma</i>	11
HistoriaSistemática de <i>Trichoderma</i>	11 12
Hábitat	13
Mecanismos Empleados por <i>Trichoderma</i> en el Control biológico	10
De hongos FitopatógenosAntagonismo	13 14
Compuestos Volátiles	14
Antibiosis	15
	15
Micoparasitismo MATERIALES Y MÉTODOS	15 16
Localización del Experimento	16

Aislamiento de <i>Rhizoctonia solani</i>	16 17 18
Diseño Experimental Evaluación de los Parámetros	20
Incidencia de la Enfermedad	
Severidad de la Enfermedad en Tubérculos	21 21
Altura de la Planta	21
Peso Fresco de la Planta	21
Peso de la Raíz	21
Peso del Tubérculo	22
Longitud de Raíz	22
Análisis Estadístico	22
RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
Resultados de la actividad antagónica de Trichoderma harzianun	
sobre Rhizoctonia solani	23
Incidencia de la EnfermedadSeveridad de la Enfermedad en Tubérculos	23
	24
Altura de la planta	26
Peso Fresco de la Planta	27
Peso del Tubérculo	28
Peso de la Raíz	29
Longitud de Raíz	30
CONCLUSIONES	32
BIBLIOGRAFÍA	33
APÉNDICE	42

ÍNDICE DE CUADROS

No) .	Pagina
1.	Tratamientos y dosis aplicadas de Bioformulado de	
	Trichoderma harzianum contra Rhizoctonia solani en el cultivo	
	de papa bajo condiciones de invernadero	20
2.	Porcentaje de la incidencia de Rhizoctonia Solani en tubérculos	
	de papa obtenidos de plantas tratadas con diferentes dosis de	
	Bioformulado de <i>Trichoderma</i> a los 70 días después de la	
	siembra	24
3.	Severidad de Rhizoctonia solani expresada como numero de	
	esclerocios en tubérculos de papa obtenidos de plantas	
	tratadas con diferentes dosis del fungicida a base de	
	Bioformulado de <i>Trichoderma</i> a los 70 días después de la	
	siembra	26
4.	Altura de plantas de papa obtenidas inoculadas a los 70 días	
	después de la siembra con R. solani	26
5.	Peso fresco (expresado en kilogramos) de la planta de a los 70	
	días después de la siembra	28
6.	Peso del tubérculo de plantas de papa por tratamientos,	
	tomado a los 70 días después de la siembra	29
7.	Peso de la raíz de plantas de papa obtenidas a los 70 días	
	después de la siembra, inoculadas con Rhizoctonia solani	30
8.	Longitud de raíz en plantas de papa obtenidas a los 70 días	
	después de la siembra	31

ÍNDICE DE FIGURAS

No	•	Pagina
1.	Incremento de la cepa de Rhizoctonia solani en cajas	17
	Petri	
2.	Tubérculo de papa inoculado con granos de trigo infestados	
	con Rhizoctonia solani	18
3.	Aspersión de la suspensión de Bioformulados de <i>Trichoderma</i>	
	sobre los tratamientos	19
4.	Unidades experimentales en invernadero	19
5.	Tubérculos de papa con esclerocios de R. solani	25
6.	Raíz de planta de papa a los 70 días de pues	
	de la siembra	31

ÍNDICE DEL APÉNDICE

No.		Pagina
1.	Análisis de varianza para la medición de incidencia de la	
	enfermedad	43
2.	Análisis de varianza para la medición de severidad en el	
	número de esclerocios por tubérculo	43
3.	Análisis de varianza para el peso fresco de la planta de	
	рара	43
4.	Análisis de varianza para peso del tubérculo de la papa	
	inoculado con Rhizoctonia solani	43
5.	Análisis de varianza para peso fresco de raíz de la planta de	
	рара	44
6.	Análisis de varianza para altura de plantas de papa	44
7.	Análisis de varianza para la longitud de raíz en plantas de	
	papa	44

RESUMEN

Uno de los factores que limitan la producción del cultivo de papa en México lo constituyen las enfermedades de raíz ocasionadas por *Verticillum spp.*, *Fusarium spp* y *Rhizoctonia solani*. Este patógeno ocasiona pérdidas que varían del 7 a 64% además de generar pérdidas de comercialización del producto. En México sin embargo, la tendencia hacia el uso casi único y excesivo de plaguicidas sintéticos aún persiste. Por lo anterior se planteó la siguiente investigación en condiciones de invernadero con la finalidad de analizar el efecto antagónico de Bioformulados de *Trichoderma harzianum* sobre *Rhizoctonia solani*, patógeno causante de la costra negra de la papa.

Para este trabajo se emplearon tubérculos de papa, los cuales se depositaros en masetas con peat moos, inoculados con granos de trigo infestados con el hongo *R. solani y* asperjados con Bioformulados de *T. harzianum*, para evaluar el efecto de este patógeno en el cultivo, atreves de la incidencia, severidad de la costra negra, así como el efecto en peso del tubérculo, peso de la raíz, peso de la planta y longitud de raíz al final del ensayo.

Los resultados, indican que el efecto de *Trichoderma* en el desarrollo de la enfermedad y del cultivo no se observan de manera estadística; aunque si hubo una disminución en cuanto a incidencia y severidad de la enfermedad, así como en las unidades agronómicas altura de planta, peso de raíz y longitud de raíz.

Palabras clave: patógeno, plaguicida sintético, enfermedad, bioformulado.

INTRODUCCIÓN

La papa (*Solanum tuberosum L.*) es el cuarto alimento básico a nivel mundial, superado solamente por el maíz, trigo y arroz, la superficie cultivada y el consumo per cápita ha aumentado en más de 45% desde 1960. Los países en desarrollo consumen el 50% del total de la producción de papa en el mundo, muchas de las cuales son cultivadas para auto consumo. Los principales productores a nivel nacional son Sinaloa, Sonora, Estado de México, Nuevo León, Chihuahua, Guanajuato y Michoacán, que conforman el 74.3% de la producción nacional (Devaux *et al.*, 2006).

El cultivo de papa es afectado por la costra negra, enfermedad producida por el hongo *Rhizoctonia solani*, el cual afecta la emergencia y el desarrollo de la planta, provoca la producción de tubérculos deformes, protuberantes, partidos y con costra negra, y finalmente, reduce el rendimiento del cultivo.

R. solani, afecta al cultivo tanto en preemergencia como en postemergencia, siendo en ambos casos sumamente destructivo, ya que en algunos cultivos puede ocasionar pérdidas totales de la siembra. En papa, al momento de la cosecha es la enfermedad que más afecta la calidad del producto ya que forma esclerocios que es la forma de invernar de este patógeno (Martínez 1997).

Los productos químicos logran reducir el daño causado, sin embargo; el uso de estos se debe hacer con ciertos límites y consideraciones ya que pueden causar daños al medio ambiente, a la salud humana, animales domésticos y además del riesgo de inducir resistencia en los patógenos.

Para el manejo de esta enfermedad se ha empleado el uso del control biológico. Una respuesta positiva y concreta es la utilización de microorganismos antagónicos competitivos para la protección de los cultivos de patógenos fúngicos del suelo. En particular el uso de especies del género *Trichoderma* ha merecido la atención máxima como agente de biocontrol (Stefanova *et al.*, 1995; 1999; Stefanova, 2000).

En este sentido es necesario de buscar alternativas para el control de enfermedades y considerar su eficacia sobre el patógeno y la reducción de los efectos que el método de control pueda causar al medio ambiente, al humano y al producto que posteriormente será consumido, por lo anterior en el presente trabajo se planteó como objetivo:

OBJETIVO GENERAL

Estudiar la efectividad biológica de *Trichoderma harzianum* en el control de *Rhizoctonia solani* y su efecto en el cultivo de papa bajo condiciones de invernadero.

OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Determinar el efecto de Bioformulados de *T. harzianum* sobre *R. solani* a diferentes concentraciones.

Determinar el efecto de *T. harzianum* en la producción y desarrollo de plantas de papa.

HIPÓTESIS

- T. harzianum tendrá efecto sobre Rhizoctonia solani, patógeno causante de la enfermedad llama costra negra de la papa.
- T. harzianum tendrá efecto sobre el crecimiento y desarrollo las plantas de papa

REVISIÓN DE LITERATURA

Importancia del Cultivo

La papa (*Solanum tuberosum* L.) es el cuarto alimento básico a nivel mundial, superado solamente por el maíz, trigo y arroz, la superficie cultivada y el consumo per cápita ha aumentado en más de 45% desde 1960 (FAO 2008). Debido a las características nutricionales del tubérculo (contenido de carbohidratos, vitaminas y minerales), el cultivo de la papa se considera decisivo para la seguridad alimentaria de cientos de millones de personas del mundo en desarrollo (FAO 2008). La papa es un cultivo de importancia económica para países tanto desarrollados como en desarrollo, debido a que crece y se adapta rápidamente, produce gran cantidad de tubérculos y posee un elevado contenido energético. El consumo per cápita es muy alto en naciones como Alemania, Rusia y Polonia (80 kg año) comparado con países de Latinoamérica (Colombia, Brasil, Perú) y África (Camerún, Kenya, Malawi) cuyo consumo es de 15 kg año (FAO, 2006). La producción mundial de papa en el año 2005 supero los 323 millones de toneladas y la superficie dedicada a su cultivo en los países subdesarrollados ha superado la de los demás cultivos básicos (FAO, 2006).

Producción Nacional

En México, el cultivo de la papa ocupa el cuarto lugar en importancia con un consumo de 16.5 kg anuales persona. En nuestro país la producción es alrededor 1, 350,000 ton al Año. Los principales productores a nivel nacional son Sinaloa, Sonora, Estado de México, Nuevo León, Chihuahua, Guanajuato y Michoacán, que conforman el 74.3% de la producción nacional (Devaux, *et al.*, 2006). En México, este cultivo es importante además de su valor nutricional por que demanda una gran cantidad de jornales de trabajo durante la siembra, cosecha, comercialización y demás actividades con su producción.

Hongos Fitopatógenos del Suelo Asociados a la Papa

Entre los hongos fitopatógenos del suelo que se han señalado como patógenos de la papa, destacan algunas especies de los géneros *Rhizoctonia*, *Verticillium*, *Fusarium* y *Sclerotinia* (Lopez, 1994).

Rhizoctonia solani ha sido reconocido como uno de los patógenos más comunes y ampliamente distribuido en las zonas productoras de papa. Suele presentarse en forma endémica y debido a su naturaleza es difícil de controlar ya que tiene un amplio rango de hospederos y suele sobrevivir en el suelo en desechos vegetales por largos periodos de tiempo (Banville, 1989; Frank y Leach, 1980; Zimmer y Russel, 1981).

Costra Negra de la Papa Rhizoctonia solani Kühn

R. solani fue descrito por Julius Kühn en 1858, pertenece a la clase Basidiomicetes y únicamente en condiciones especiales produce esporas sexuales (basidiosporas). En la naturaleza *R. solani* se reproduce asexualmente y existe como micelio vegetativo, el cual forma estructuras de resistencia o esclerocios, que son masas de hifas estrechamente entretejidas con superficies duras y resistentes. El estado sexual se conoce como *Thanatephorus cucumeris* (Domsch *et al.*, 1980).

R. solani, es un hongo que afecta a un amplio rango de hospederos que incluye a frutales, hortalizas, ornamentales, forestales, cultivos básicos y otros; ocasionando numerosas pérdidas (Chávez, 2004).

En las plantas de papa *R. solani* ocasiona la enfermedad denominada rhizoctoniasis o cáncer de raíces y tallos, y costra negra cuando se presenta como esclerocios en la superficie de los tubérculos (Prado y Acosta 2011).

Características Morfológicas

Las características típicas de R. solani es su ramificación en ángulo recto, con ligeras constricciones, formación de un septo en la rama cercana a su origen, presenta micelio de color café castaño o castaño oscuro, hifas con un diámetro que varía de 8 a 10 μ (Ogoshi, 1987; Hooker, 1990; Alexopoulos et~al., 1996). Este patógeno rara vez produce el estado perfecto del basidiomiceto conocido como T. cucumeris. Esta etapa perfecta se forma cuando hay suficiente humedad presentando un aspecto de mildiu fino que se desarrolla sobre el suelo, hojas y tallos infectados que se encuentran por arriba de la superficie del suelo (Agrios 2005).

Los basidios tienen forma de barril formados en una capa membranosa de micelio presentando cuatro esterigmas. La reproducción o multiplicación se lleva a cabo por medio de esclerocios, hifas y basidiosporas (Ogoshi, 1987; Thompson, 1993; Alexopoulos *et al.*, 1996).

Características Epidemiológicas

La severidad de la enfermedad depende de la temperatura, de la humedad del suelo y de los exudados de la planta y sus raíces, los cuales se han encontrado que estimulan el crecimiento del micelio. La infección de las plantas, por este hongo es más severa cuando el crecimiento es lento, crecen mejor en suelos moderadamente húmedos que en suelos secos. El desarrollo del hongo se produce entre los 9 y 27°C, el rango óptimo es de 15-20°C (Agrios, 1988; Carling y Leiner, 1990; Randall, 1993). El patógeno se mantiene de una temporada a otra en forma de esclerocios en el suelo y en la superficie de los tubérculos y como micelio en restos vegetales en el suelo (Chaves, 2004).

La población de *R. solani* puede incrementarse cuando se cultiva papa en el mismo campo sucesivamente. Los esclerocios germinan cuando encuentran las condiciones favorables esto es temperaturas de 21º a 25ºC y suelos húmedos.

Grupos de Anastomosis de R. solani

R. solani esta subdividido en grupos basados en la anastomosis hifal, la cual es una manifestación somática mostrando incompatibilidad entre aislamientos. La hifa de un aislamiento representando el mismo grupo de anastomosis (AG por sus siglas en ingles) puede anastomarse con alguna otra del mismo grupo, pero no con hifas de grupos diferentes (Carlin y Leiner, 1990). La primera subdivisión natural de R. solani fue hecha en 1936 por Schultz, quien dividió las especies según la anastomosis hifal (Adams y Butler, 1979). Parmeter et al. (1969) reconocieron cuatro grupos de anastomosis AG-1, AG-2, AG-3 Y AG-4.

Los aislamientos de AG-3 son identificados como la principal causa de la enfermedad causada por *R. solani* en papa, aunque ha llamado la atención la patogenicidad de aislamientos de AG-2, AG-4, AG-5 y AG-7 (Alonso *et al*, 1992) además de AG-2-1, AG-2-2 y AG-9 han sido asociados con plantas enfermas de papa. Los grupos de anastomosis restantes incluyendo AG-8, no han sido reportados en asociación con plantas de papa (Carling y Leiner, 1990). El AG3 se caracteriza porque en la superficie de los tubérculos forma esclerocios, soporta temperaturas bajas y afecta especialmente a la planta de papa y a las raíces de la cebada. El AG4, es el más patogénico, no forma esclerocios, soporta temperaturas más altas y afecta a muchos cultivos incluyendo papa (Chávez 2004).

Con base en el criterio de anastomosis, *R. solani* se ha dividido en 14 grupos anastomósicos (1 al 13 y el AGBI); sin embargo, se han generado subgrupos para explicar las diferencias que existen en morfología, patología, requerimiento de tiamina y grado de anastomosis. Recientemente, se han propuesto categorías adicionales (C3, C2, C1 y C0) para describir las reacciones de anastomosis entre las dos hifas, además de la reacción. Aunque el criterio de anastomosis ha servido para agrupar a los aislamientos de *R. solani*, la relación entre el sistema de grupos anastomósicos y sus subgrupos respecto a un sistema taxonómico de especies aún no se establece (Gonzales, 2002).

Sintomatología

R. solani causa un amplio rango de síntomas en la papa, que varían según el ambiente, la edad del hospedero y la parte de la planta afectada. El patógeno ataca los brotes jóvenes antes de la emergencia a menudo produciendo su muerte (Agrios, 1988; Romero, 1988).

Hooker (1990) menciona que en la superficie de los tubérculos maduros se forman esclerocios de color negro o castaño oscuro. Los esclerocios pueden ser chatos y superficiales, grandes e irregulares en forma de terrones, de ahí el nombre común de "costra negra". Generalmente la epidermis del tubérculo por debajo de los esclerocios no presenta ninguna anormalidad. Otros síntomas en los tubérculos incluyen agrietaduras, malformaciones, concavidades y necrosis en el extremo de unión con el estolón.

Mendoza y Pinto (1983) señalan que en condiciones favorables a *R. solani* ataca plántulas antes de que hayan emergido o poco después de la emergencia del suelo; las lesiones son hundidas, de tamaño variable, con coloraciones de café canela a café rojizo. Si las condiciones son favorables, las lesiones se extienden y adquieren un aspecto hundido y pueden llegar a cubrir todo el tallo y destruir las raíces debilitando a la planta o causando un acentuado amarillamiento.

Los daños más severos a la planta se producen en primavera poco después de la siembra; el hongo mata los brotes subterráneos retardando o anulando su emergencia, especialmente en suelos fríos y húmedos, lo que da como resultado campos con plantas desiguales en el crecimiento, plantas débiles y reducción en el rendimiento. Los brotes que llegan a emerger también se infectan, formándose cánceres en los tallos en desarrollo, los que a menudo llegan a estrangularlos ocasionando su colapso. El estrangulamiento parcial de los tallos puede suscitar diversidad de síntomas como retardo en el desarrollo de la planta, arrosetamíento del ápice, necrosis cortical del tejido leñoso, pigmentación púrpura de las hojas, aparición de tubérculos aéreos y a menudo clorosis y amarillamiento (Hooker, 1990; Walker, 1975).

Las lesiones que se forman en los estolones son de color castaño rojizo y provocan la muerte de los mismos. En suelos húmedos y ricos en humus *R. solani* produce en la base del tallo de la papa y de algunas malezas un fieltro micelial de color blanco sucio, sobre las que se originan las basidiosporas y le dan a la superficie una apariencia polvorienta, considerándose a esta como la fase perfecta del hongo (Romero, 1988).

Ciclo de la Enfermedad.

R. solani, sobrevive en el suelo y en tubérculos en forma de esclerocios o como micelio en residuos de cosecha, se propaga con el agua de lluvia, riego y tubérculos infectados (Agrios, 1988; León, 1988; Hooker, 1990). El estado sexual (teleomorfo) de este patógeno, se presenta en la superficie de los tallos sobre la línea del suelo, formando una capa blanquecina, sobre la cual se forman las basidiosporas. El tejido en contacto con esta capa se presenta sano (Ogoshi, 1987; Singleton, 1992, Alexopoulos et al., 1996). T. cucumeris se distingue por una combinación de caracteres. El himenio es discontinuo y distintivo, los basidiosporas ovoides, elípticas, oblongas o arriñonadas, hialinas en forma de barril de 18 x 8 micras con cuatro esterigmas. Al germinar los esclerocios, el hongo invade los brotes emergentes y tallos de papa, las raíces y los estolones. La formación de esclerocios en los tubérculos nuevos se produce en cualquier momento, sin embargo, el mayor desarrollo se produce una vez que la planta está muerta y los tubérculos han quedado bajo suelo por un tiempo prolongado (Roberts, 1978; Agrios, 1988).

Manejo de *Rhizoctonia solani*

Control Cultural

Harris (1978) menciona que el control cultural consiste en recurrir a modificaciones o cambios en las practicas que desfavorecen las fases de la enfermedad, disminuyendo así, el inoculo viable a la cosecha. El uso de tubérculos libres de esclerocios es una buena medida para evitar la infección de los brotes en estado de pre emergencia. También es necesario destruir los restos de cosecha con la finalidad de eliminar el micelio del hongo que se encuentra en los tallos y estolones en el campo después de la cosecha.

Romero (1988) menciona que para reducir los daños de *R. solani se* deberan seleccionar suelos con buen drenaje, eliminar malezas, rotar cultivos incluyendo pastos y cereales y manejar de fechas de siembra.

Por su parte Agrios (2005) recomienda sembrar tubérculos libres de la enfermedad, evitar sembrar en tierras húmedas y poco drenadas, además de dejar espacios amplios entre plantas para que se permita una buena aireación de la superficie del suelo y de las plantas.

Control Genético

Este método de control, consiste en introducir genes de plantas más rusticas a las variedades comerciales, con el propósito de que estas tengan mayor resistencia a plagas y enfermedades. De acuerdo con Hooker (1990), hasta la fecha no se ha sido posible identificar un alto nivel de resistencia que contrarreste a *R. solani* en papa. (Martínez, 2002).

Control Químico

Este método de control consiste básicamente en la aplicación de productos para la erradicación del agente causal del daño.

El uso de fungicidas (aplicados al suelo o como desinfectantes de tubérculos), no incrementa los rendimientos, pero, incrementa la calidad sanitaria de los tubérculos. Por otro lado, los fungicidas deberían utilizarse de acuerdo al AG presente. Algunos trabajos realizados han determinado que el Pencycuron controla eficientemente el AG3, pero aislamientos de GA-4 y AG-5 son tolerantes al funguicida; mientras que el tolclofos-methyl y fludioxonil inhibe eficientemente el AG-2, AG-4 y AG-5 (Cruz, 2004)

Control Biológico

Cook (1985) define al control biológico como la reducción en la densidad de inoculo o de la actividad productora de la enfermedad de un patógeno en su estado activo o dormante por uno o más organismos, realizado de manera natural o por manipulación del medio ambiente, hospedero o antagonista. Varios géneros de hongos han sido identificados como potenciales agentes de control biológico contra varios fitopatógenos del suelo; sin embargo son *Trichoderma spp.* y *Gliocladium spp.* los que han ofrecido mejores resultados en la práctica y los que han sido registrados como formulaciones en diferentes países de Europa y América (Cotes, 2001).

Liu y Baker (1980) determinaron que existe antagonismo de *T. harzianum* contra *R. solani*. En laboratorio observaron que las ramificaciones de hifas de *Trichoderma* son capaces de atacar y enrollarse alrededor de las hifas de *R. solani*. Posteriormente observaron lisis y separación de las hifas de *R. solani* atacadas. No observaron penetración de las hifas de *Trichoderma* sobre las de *R. solani*.

Control Biológico de Fitopatógenos

Historia e Importancia del Control Biológico

El control biológico ha surgido en las últimas décadas como una alternativa para controlar fitopatógenos y principalmente ha sido orientado al control biológico de patógenos habitantes del suelo (rizósfera). Este tipo de control se ha enfocado mediante el uso de antagonistas residentes o nativos y por la introducción de antagonistas (Andrew, 1992). Algunos ejemplos son: *Agrobacterium radiobacter, Phlebie gigantae, Trichoderma sp., Chondrostereum purpureum, Endothia parasítica, Pseudomonas fluorescens, Verticillium malthoseiu y Pythium oligandrum (*Zavaleta *et al.,* 1992).

El estudio de las interacciones antagónicas entre los hongos tales como microparasitismo, lisis, inhibición, competencia, antibiosis y fungistasis son particularmente importantes en el control biológico de hongos fitopatogenos (Pantoja, 2009).

Genero Trichoderma

Historia

El género *Trichoderma* fue descrito por Persoon en 1791 en Alemania y cuatro especies fueron originalmente descritas. En 1927 Gilman y Abbott reconocieron cuatro especies en base a la forma de la conidia, el color y al desarrollo de la colonia (Mohiddin *et al.*, 2010). El potencial de *Trichoderma* como agente biocontrolador fue sugerido por Weindling en 1932, quien fue el primero en demostrar la actividad parasítica de los miembros de este género hacia patógenos del suelo (Fadel, 2005). El primer intento serio de distinguir morfológicamente especies de *Trichoderma*, o

más bien " especies agregadas", fue hecho por Rifai en 1969, logrando definir nueve especies (Kubicek y Harman, 1998).

Características del Genero Trichoderma

Trichoderma forma una colonia que se desarrolla rápidamente, al inicio el micelio es sumergido y eventualmente es aéreo, hialino, muy variable en su forma, puede ser enmarañado, flucoso, lanoso o aracnoideo, dependiendo de la cepa y del medio de cultivo. El color de la colonia es variable, puede ser amarillo, ámbar rojizo opaco o amarillo-verde. Produce un olor pronunciado o débil, característico del género, lo que sugiere el olor a coco o alcanfor. La producción de conidios es abundante en pústulas o formando mechones compactos, normalmente en tonos verdes y con menos frecuencia blanco, gris o marrones (Gams y Bissett, 1998). Presenta células conidiogénicas, conocidas como fíalidas, por lo general dispuestas en verticilos divergentes, terminales en las ramas del conidióforo o directamente debajo de los septos a lo largo de los conidióforos y ramas, son cilíndricas, subuladas, lageniformes, ampuliformes o subglobosas; generalmente atenuadas a un conidióforo estrecho, teniendo el cuello corto y cilíndrico. Las clamidiosporas generalmente están presentes y son abundantes, especialmente en el micelio sumergido; son intercalares o terminales en cortas ramas laterales de hifas vegetativas; de apariencia globosa a elipsoide, incoloras o de color amarillento a verdoso, lisas y a veces de paredes gruesas (4 μm). Las hifas vegetativas generalmente son hialinas de paredes lisas de 1-10 µm de ancho, con menos frecuencia (o en el micelio sumergido) de color amarillo pálido, con un engrosamiento de pared irregular de hasta 16 µm de anchura (Gams y Bissett, 1998).

Sistemática de Trichoderma

La taxonomía del genero *Trichoderma* ha sido debatida fuertemente y solo hasta épocas recientes se ha podido realizar una identificación taxonómica confiable

(Druzhinina y Kubicek, 2005). Los análisis filogenéticos muestran que *Trichoderma* e *Hypocrea* son congéneres (Samuels, 2006). Otros análisis revelan que especies de *Hypocrea* con ascosporas verdes y anamorfos de *Trichoderma* son derivados desde dentro de *Hypocrea* pero no forman un grupo monofiletico. Los caracteres fenotípicos por si solos no son generalmente útiles en la comprensión de relaciones filogenéticas en este grupo de organismos, ya que los caracteres teleomorfos son generalmente muy conservados y mientras que los caracteres amorfos tienden a ser morfológicamente divergentes dentro de los linajes mono fileticos o clados (Chaverri y Samuels, 2003).

Hábitat

Trichoderma se considera generalmente como un género de hongos del suelo de vida libre, pero la evidencia sugiere que las especies de *Trichoderma* pueden ser simbiontes oportunistas de plantas, no virulentas, así como parásitos de otros hongos. Los miembros del genero *Trichoderma* están universalmente presentes en casi todos los suelos del mundo, aunque algunas especies pueden ser cosmopolitas (por ejemplo, *T. harzianum*) o limitadas (por ejemplo, *T viride*) en su distribución geográfica (Samuels, 2006).

Las especies de *Hypocrea* se encuentran con mayor frecuencia en la corteza o en la madera descortezadora de árboles, pero muchas especies crecen en hongos de repisa (por ejemplo *H. pulvinata*), exidia (*H. sulphurea*), nidios del pájaro (*H. latizonata*) o en agaricos (*H. avellanea*) (Cheverri y Samuel, 2003).

Mecanismos Empleados por *Trichoderma* en el Control Biológico de Hongos Fitopatógenos.

Para comprender los mecanismos de control biológico, es útil apreciar las diferentes formas en que los organismos interactúan (Pal y McSpadden, 2006). Las poblaciones de dos especies pueden interaccionar de dos maneras básicas, que

corresponden a combinaciones neutras, positivas y negativas (Odium *et al.*, 2008). Desde la perspectivas de la planta, el control biológico puede ser considerado como un resultado neto positivo, procedente de una variedad de interacciones específicas y no especificas (Pal y McSpadden, 2006).

En general, los antagonistas no tienen un único modo de acción y la multiplicidad de estos es una característica importante para su selección como agente 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 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 los microorganismos de suelo, los antagonistas producen antibióticos, actúan en competencia por nutrientes y/o inducen resistencia en el hospedero (De la Garza, 1996).

Compuestos Volátiles

Trichoderma posee mecanismos fungistáticos que impiden el desarrollo de los hongos fitopatógenos, así como la capacidad para sintetizar sustancias volátiles involucradas en el complejo responsable de este 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 (Pantoja 2009).

Antibiosis

La antibiosis es el fenómeno por el cual *Trichoderma* inhibe o destruye a un organismo a través de la producción metabólica de pequeñas moléculas toxicas, volátiles y de enzimas líticas (Pantoja, 2009). La producción de antibióticos confiere a los microorganismos una ventaja selectiva en la competencia por nutrientes y espacio en cualquier nicho ecológico (Lara *et al.*, 2007).

Micoparasitismo

El micoparasitismo es definido como una simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, y que se corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados (Infante 2009).

Las especies de *Trichoderma* durante el proceso de micoparasitismo crecen quimiotrópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas del mismo, se enrollan en ellas frecuentemente y las penetran en ocasiones. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del proceso parasítico que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno (Carsolio *et al.*, 1999).

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del Experimento

Este trabajo se realizó en el laboratorio de fitopatología y en un invernadero del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila. La Universidad se localiza a 7 km al sur de la ciudad en las coordenadas geográficas entre 25° 21´ latitud norte y 101° 01 y 101° 03´longitud Oeste del Meridiano de Greenwich, con una altitud de 1743 msnm.

Aislamiento de Rhizoctonia solani

R. solani se aisló de tubérculos de papa con esclerocios del hongo; por ello los tubérculos se lavaron con agua corriente, se cortaron pequeños trozos de epidermis con esclerocios y se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% por 3 min, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril para eliminar el exceso de desinfectante y se secaron en papel estraza estéril, y posteriormente se sembraron en placas Petri con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) acidificado. Una vez etiquetadas las cajas Petri se incubaron a temperatura de 22 ± 2°C durante 48 h. Al cabo de este tiempo se purifico la cepa por punta de hifa y se volvió a incubar a la temperatura señalada anteriormente. (Figura1).

La identificación del hongo se realizó por comparación, morfológica del género y especie. Las observaciones se realizaron en el microscopio compuesto con el objetivo 40X.

Las características bajo observación fueron: color de micelio en hifas jóvenes, y diámetro de la hifa, observación de la ubicación del septo y verificación de ausencia de conidias, observación de constricciones en la ramificación cercana al punto de origen y caracterización de forma, tamaño y color de esclerocios.



Figura 1. Incremento de la cepa de R. solani en cajas Petri.

Preparación del Inóculo.

El inóculo de *R. solani* se preparó en granos de trigo depositándose 700 g de grano en un vaso de precipitado de 1000 ml al cual se le agrego agua hasta aforarlo a 1000 ml y se dejó remojar por 24 h, posteriormente se decantó el líquido y se extrajeron los granos de trigo colocándose 300 gr en matraces Erlenmeyer de 1000 ml los cuales se esterilizaron dos veces por 40 min, posteriormente se agregó 20 ml de caldo de papa y se esterilizo una tercera vez por 40 min a 120°C y una presión de 15 lb, dejándose reposar por 24 h. Finalmente los granos de trigo se inocularon con cuatro explantes de *R. solani* de 5 mm de diámetro depositados en matraces, dejándose incubar a temperatura ambiente por 15 días para que el desarrollo del hongo.

Establecimiento y Aplicación de los Tratamientos en Invernadero.

Para este ensayo se emplearon minitubérculos de papa variedad Fiana, los cuales se desinfectaron previamente con hipoclorito de sodio al 3%, después se lavaron con agua destilada estéril y se dejaron secar durante cuatro horas sobre papel estraza. Posteriormente se realizó la siembra en macetas de plástico de 3 Kg de capacidad, agregándole 2 Kg de suelo esterilizado (este suelo fue esterilizado por 20 min a 80°C por tres ocasiones), posteriormente se depositó el minitubérculo de papa y 20 granos de trigo infestados con el hongo *R. solani* alrededor de este (Figura 2).



Figura 2. Tubérculo de papa inoculado con granos de trigo infestados con R. solani.

Los tratamientos se aplicaron con un atomizador manual, diluyendo el líquido de aspersión de Bioformulados de *Trichoderma* sobre los tubérculos y enseguida se cubrieron con suelo estéril y se aplicó una vez más, cuando los tubérculos estaban cubiertos con el suelo (figura 3).



Figura 3. Aspersión de la suspensión de Bioformulados de *Trichoderma* sobre los tratamientos

Las macetas se mantuvieron en invernadero durante 70 días (Figura 4), a una temperatura promedio de 10°C, con temperatura máxima de 17°C y una mínima de 2°C. Se aplicaron riegos a intervalos tres días procurando que no hubiera exceso de humedad en las macetas.



Figura 4. Unidades experimentales en invernadero.

Los tratamientos aplicados se muestran en el cuadro 1. Estos son formulaciones en polvo de *Trichoderma* a una concentración de 1x10⁸ esporas en diferentes dosis de aplicación.

Diseño Experimental

Se estableció un diseño de bloques al azar con cinco tratamientos y seis repeticiones, donde la unidad experimental fue una maceta con un minutuberculo de papa, repetido seis veces para cada tratamiento.

Cuadro 1.Tratamientos y dosis aplicadas de Bioformulados de *Trichoderma* harzianum contra *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa bajo condiciones de invernadero.

TRATAMIENTOS	DOSIS/ 400 L
1. Bioformulado de Trichoderma	1Kg
2. Bioformulado de Trichoderma	2Kg
3. Bioformulado de Trichoderma	3 Kg
4. Thiabendazol	1Kg
5. Testigo absoluto	Sin aplicación de productos

Evaluación de los Parámetros.

Los parámetros que se evaluaron fueron los siguientes: Incidencia de la enfermedad en tubérculos, severidad expresada como número de esclerocios por tuberculo, peso fresco de la planta, peso del tubérculo, peso fresco de la raíz, altura de planta y longitud de raíz. La toma de datos se realizó a los 70 días de establecido el cultivo.

Incidencia de la Enfermedad

La evaluación de este parámetro se realizó al momento de la cosecha, clasificando los tubérculos de los tratamientos en sano (sin esclerocios) y en enfermo (con esclerocios). Posteriormente se contó el número de tubérculos tanto sanos como enfermos y se pesaron.

Severidad de la Enfermedad en Tubérculos

Este parámetro se evaluó por el número de esclerocios presentes en los tubérculos.

Altura de la Planta

Para la medición de este parámetro se utilizó una regla graduada, se tomó en cuenta la medición desde la base de la raíz hasta el punto más alto de la planta.

Peso Fresco de la Planta

Para el peso fresco de la planta, el procedimiento fue el siguiente: fue necesario sacar la planta completa con todo y cepellón de las macetas, enseguida se retiró el peat moss, se lavó, se dejó secar y se procedió a tomar el peso, enuna balanza granataría.

Peso de la raíz

Para tomar el peso de la raíz, esta se lavó hasta quitar el sustrato utilizado que se adhirió a la raíz; una vez retirado todo el sustrato proseguimos a secar la raíz dejándola escurrir para poder tomar el peso, para esto se utilizó una balanza granataría.

Peso del Tubérculo

Para la medición de este parámetro fue necesario retirar los tubérculos de la planta y lavarlos para quitar el exceso de sustrato adherido a ellos, se dejaron secar y posteriormente se pesaron, en una balanza granataría.

Longitud de la Raíz

Para la medición de la longitud se utilizó una regla graduada y se tomó en cuenta la raíz completa hasta la base del tallo que es donde cambia la coloración de café a verde.

Análisis Estadístico.

Los datos obtenidos fueron analizados con base en un diseño experimental por bloques al azar usando el paquete de diseños experimental del software estadístico SAS (Statistical Analysis System) La comparación de medias se realizó utilizando un nivel de significancia de 0.05.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Resultados de la Actividad Antagónica de *Trichoderma harzianum* sobre *Rhizoctonia solani*.

Se tomaron por separado los datos de incidencia por tubérculo enfermo, severidad por el número de esclerocios por tubérculo, peso de la planta, peso de tubérculo y peso de raíz.

A los 40 días después de la siembra, no se observó que los tratamientos manifestaran síntomas de fitotoxicidad, por lo que se ubicaron en la escala 1; es decir sin efecto toxico sobre las plantas

Incidencia de la Enfermedad

Durante el muestreo realizado a los tallos de las plantas de papa no se observaron síntomas de *R. solani*.

La incidencia de la enfermedad en los tubérculos de papa a los 70 días después de la siembra vario de 81. 94% en el testigo a 48.33% en el tratamiento con Bioformulado de *Trichoderma* 3 kg/ha (Cuadro 2). El análisis de varianza no detecto diferencia estadística entre los tratamientos, sin embargo se observa en el mismo cuadro, que el tratamiento del Bioformulado de *Trichoderma* 3 Kg/ha presenta un 41% menos que el testigo, también se puede apreciar que el fungicida tiene un efecto sobre la enfermedad, ya que conforme se aumenta la dosis se reduce la incidencia (Cuadro 2). También se observa que la dosis media y alta del Bioformulado de *Trichoderma* presenta numéricamente una menor incidencia que la obtenida con el Thiabendazol; esto es 25.6% menos incidencia con Bioformulado de

Trichoderma 3 Kg/ha que con Thiabendazol 2 kgha. En este estudio se pudo observar una disminución del 41% la enfermedad cuando se aplicó *Trichoderma* 3 kg/ha. En este sentido, Castro y Osorio (2005) demostraron el efecto antagónico de *Trichoderma* sobre *R. solani* en semilleros de café, obteniendo una reducción de 55% en la incidencia de la enfermedad cuando inocularon el sustrato con el hongo antagonista.

Cuadro 2. Porcentaje de Incidencia de *Rhizoctonia Solani* en tubérculos de papa obtenidos de plantas tratadas con diferentes dosis del Bioformulado de *Trichoderma* a los 70 días después de la siembra.

TRATAMIENTO	DOSIS	INCIDENCIA	% DE EFICACIA
			EN TUBÉRCULOS
			DE PAPA
Bioformulado de <i>Trichoderma</i>	1kg/ha	68.33 A	16.00
Bioformulado de <i>Trichoderma</i>	2kg/ha	56.11 A	31.00
Bioformulado de Trichoderma	3kg/ha	48. 33 A	41.00
Thiabendazol	2kg/ha	65.00 A	20.61
Testigo		81.94 A	

^{*}Medidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (P=5%).

Severidad de la Enfermedad en Tubérculos

La severidad de la enfermedad en los tubérculos a los 70 días después de la siembra (Figura 5), vario en el número de esclerocios en los tubérculos de 6.52 en el tratamiento con Thiabendazol a 4.50 en el tratamiento de Bioformulado de *Trichoderma* 2 kg/ha (Cuadro 3). El análisis de varianza no detecto diferencia estadística entre los tratamientos, sin embargo el tratamiento de Bioformulado de *Thichoderma* 2 kg/ha en promedio presenta 2.0 y 1.4 menos esclerocios que en los

tubérculos del tratamiento con Thiabendazol y que los del testigo respectivamente. Es notorio también que la severidad de *Rhizoctonia* en los tubérculos disminuye conforme se incrementa la dosis del fungicida



Figura 5. Tubérculos de papa con esclerocios de R. solani.

Algunos investigadores señalan que la severidad de la enfermedad está directamente relacionada con la formación de estructuras de infección y al respecto señala que esta habilidad es estimulada por el hospedante y las temperaturas.

Cherif y Benhamou (1990), citado por (López *et al.*, 2010), señalan que las especies de *Trichoderma* poseen buenas posibilidades como hiperparásitos competitivos, produciendo metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas para el control de patógenos del suelo, principalmente de los géneros *Rhizoctonia*, *Fusarium y Sclerotium*, entre otros y aunque este efecto no se observó de manera estadística si hubo una disminución de la incidencia y severidad de la enfermedad con relación al testigo; probablemente el resultado obtenido en el presente ensayo se debió a las bajas temperaturas que influyeron en el desarrollo del cultivo y en la actividad de *Trichoderma*.

Cuadro 3. Severidad de *Rhizoctonia solani* expresada como numero de esclerocios en tubérculos de papa obtenidos de plantas tratadas con diferentes dosis del fungicida a base de Bioformulado de *Trichoderma* a los 70 días después de la siembra.

TRATAMIENTO	DOSIS	NUMERO DE ESCLEROCIOS
Bioformulado de Trichoderma	1kg/ha	5.58 A
Bioformulado de Trichoderma	2 kg/ha	4.50 A
Bioformulado de Trichoderma	3 kg/ha	4.56 A
Thiabendazol	2 kg/ha	6.52 A
Testigo		5.90 A

^{*}Medidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (P=5%).

Altura de planta

Los resultados de la variable altura de la planta de papa, se observan en el Cuadro 4. Los análisis estadísticos muestran que no se obtuvieron diferencias significativas entre los tratamientos.

Chamarro (1995) señala que a menudo la iluminación es un factor limitante en los cultivos de invernadero, siendo esto el factor que más afecta el desarrollo vegetativo, indicando así que cuando disminuye la iluminación, se reduce la altura de las plantas.

El mismo autor indica también que la temperatura tiene un efecto sobre el desarrollo vegetativo de la planta, y que la velocidad de elongación del tallo aumenta con la temperatura, aunque la temperatura óptima depende de la iluminación, esta se encuentra alrededor de los 25°C.

Cuadro 4. Altura de plantas de papa obtenidas inoculadas con *R. solani* a los 70 días después de la siembra.

TRATAMIENTO	DOSIS/ha	ALTURA DE PLANTA cm	LA
Bioformulado de <i>Trichoderma</i>	1 Kg/ha	23.33 A	
Bioformulado de Trichoderma	2 kg/ha	21.83 A	
Bioformulado de Trichoderma	3 kg/ha	22.16 A	
Thiabendazol	1 kg/ha	23.33 A	
Testigo absoluto		19.08 A	

^{*}Medidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (P=5%).

Peso Fresco de la Planta

Los resultados de peso fresco de las plantas de papa (expresado en kg) se observan en la Cuadro 5. El análisis estadístico no mostro una diferencia significativa entre los tratamientos. En un ensayo realizado por Fernandois (2003), orientado a evaluar la eficiencia en el control de *Pyrenochaeta lycopersici* mediante distintas cepas de *Trichodermas spp.* y *Paenibacillus lentimorbus* en tomate producido bajo invernadero, obtuvo resultados similares en relación al peso fresco de las plantas; es decir que no se presentaron diferencias significativas entre los tratamientos y el testigo, lo que en este caso se atribuyó a el efecto de la temperatura y luminosidad sobre el desarrollo vegetativo de las plantas. Esta situación fue similar en el presente ensayo, donde las bajas temperaturas que se mantuvieron durante el desarrollo del experimento pudieron haber influido de manera significativa para el crecimiento de las plantas de papa.

Por otro lado algunos autores mencionan que el efecto que causa *T. harzianum* sobre el crecimiento de las plantas se debe a la producción de fitohormonas y vitaminas, además de la conversión de minerales de formas no

utilizables a otras utilizables por la plantas y al aumento en la absorción y translocación de nutrientes (Cruz y Cisterna 1998).

Cuadro 5. Peso fresco (expresado en kilogramos) de la planta de papa a los 70 días después de la siembra.

TRATAMIENTO	DOSIS	PESO FRESCO DE LA
		PLANTA kg
Bioformulado de Trichoderma	1 kg/ha	0.011 A
Bioformulado de Trichoderma	2 kg/ha	0.012 A
Bioformulado de Trichoderma	3 kg/ha	0.010 A
Thiabendazol	1 kg/ha	0.015 A
Testigo absoluto		0.011 A

^{*}Medidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (P=5%).

Peso del Tubérculo

En la Cuadro 6 se muestran los resultados de la variable peso del tubérculo (expresado en kg). En dicho cuadro se puede observar que los análisis estadísticos no muestran diferencia significativa entre los tratamientos. Resultados afines se obtuvieron en un ensayo realizado bajo condiciones productivas de tomate, en el cual se evaluó el control ejercido de distintas cepas de *Trichoderma y Paenibacillus lentimorbus* sobre *Pyrenochaeta lycopersici* (Fernandois, 2003), y en el que los tratamientos no presentan diferencias significativas para el rendimiento de frutos. Estos resultados fueron atribuidos a las bajas temperaturas a las que estuvieron sometidas las plantas.

Cuadro 6. Peso del tubérculo de plantas de papa por tratamientos, tomado a los 70 días después de la siembra.

TRATAMIENTO	DOSIS	PESO DEL TUBÉRCULO
		Kg
Bioformulado de Trichoderma	1 kg/ha	0.036 A
Bioformulado de Trichoderma	2 kg/ha	0.033 A
Bioformulado de <i>Trichoderma</i>	3 kg/ha	0.041 A
Thiabendazol	1 kg/ha	0.034 A
Testigo absoluto		0.050 A

^{*}Medidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (P=5%).

Peso de la Raíz

Los resultados de la variable peso de la raíz (expresado en kg) se observan en la Cuadro 7. Estos fueron medidos en gramos. En dicho cuadro se puede apreciar que no existe diferencia significativa entre los tratamiento.

Sánchez (2009), reporta que en un ensayo realizado con plantas de tomate los resultados mostraron similitud, es decir no se encontró diferencia significativa entre ellos.

Cuadro 7. Peso de raíz de plantas de papa obtenidas a los 70 días después de la siembra, inoculadas con *Rhizoctonia solani*.

TRATAMIENTO	DOSIS	PESO DE LA RAÍZ kg
Bioformulado de Trichoderma	1 Kg/ha	0.0015 A
Bioformulado de Trichoderm	2 kg/ha	0.0013 A
Bioformulado de Trichoderma	3 kg/ha	0.0013 A
Thiabendazol	1 kg/ha	0.0013 A
Testigo absoluto		0.0011 A

^{*}Medidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (P=5%).

Longitud de Raíz

Los resultados muestran que la longitud de raíz obtenida en los tratamientos de Trichoderma es estadísticamente superior a la del testigo (Cuadro 8, Figura 6). Similares resultados fueron obtenidos por López *et al.*, (2010), quienes reportan que el comportamiento de *Trichoderma* en la inducción del desarrollo de raíces de plantas de maíz, fue significativo, estableciéndose así que *Trichoderma* favorece el desarrollo del sistema radical.

En otro estudio se encontró que el desarrollo de raíces de tomate se incrementa, al utilizar *T. harzianum* (Santander *et al.* 2003; Jimenez *et al.* 2003; Montealegre *at al.* 2005).

Cuadro 8. Longitud de raíz en plantas de papa obtenidas a los 70 días después de la siembra.

TRATAMIENTO	DOSIS	LONGITUD DE RAÍZ cm
Bioformulado de <i>Trichoderma</i>	1 Kg/ha	17.75 A
Bioformulado de Trichoderma	2 kg/ha	18.41 A
Bioformulado de Trichoderma	3 kg/ha	19.16 A
Thiabendazol	1 kg/ha	17.16 AB
Testigo absoluto		12.53 B

^{*}Medidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (P=5%).



Figura 6. Raíz de planta de papa a los 70 días de pues de la siembra.

El efecto de *Trichoderma harzianum* no se observó de manera estadística, aunque si hubo una disminución en cuanto a incidencia y severidad de la enfermedad, el efecto de *Trichoderma* en el desarrollo de la enfermedad y del cultivo no se observan de manera estadística; aunque si hubo una disminución en cuanto a incidencia y severidad de la enfermedad, así como en las unidades agronómicas altura de planta, peso de raíz y longitud de raíz. Probablemente los resultados obtenidos en el presente ensayo se debieron a las bajas temperaturas ya que se presentaron temperaturas promedio de 10°C, con máximas de 17°C y mínimas de 2°C, las cuales no favorecen al cultivo ni a *Trichoderma*.

CONCLUSIONES

Bajo las condiciones experimentales en que se desarrolló la presente investigación podemos concluir lo siguiente:

- Los tratamientos con Bioformulados de Trichoderma harzianum en sus diferentes dosis no muestran diferencias estadísticas en la incidencia y severidad en relación al testigo.
- Los tratamientos con Bioformulados de *T. harzianum* en sus diferentes dosis no muestran diferencias estadísticas en la altura de planta, peso fresco, peso del tubérculo y pero de la raíz en relación al testigo.
- Los tratamientos con Bioformulados de *T. harzianum* inducen una longitud de raíz estadísticamente superior a la obtenida por el testigo.

BIBLIOGRAFÍA

- Adams, C.D. and Butler, E.E. 1979. Serological relationships among anastomosis groups of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology, 69: 629-633.
- Agrios, N. G. 2005. Plant Pathology 5^a Edition. El Sevier- Academic Press. San Diego. CA. p 922.
- Alexopoulos, C.J. and Mims, C.W. 1979. Introductory Mycology. 3th edition. Willey and Sons, Editorial. USA. 632p.
- Alonso, C.Z. 1992. Aplicación de fungicidas para el control de costra negra Rhizoctonia solani Kühn en papa Solanum tuberosum L., en Galeana Nuevo León. Tesis. Licenciatura. UAAAN. Buenavista, Saltillo Coahuila.
- Andrew, J.H. 1992. Biological control in the phillosphere. Annual Review Phytopathology 30: 603-635.
- Anguis, R. y Martin, C. 1990. Caracterización y Patogenicidad de *Rhizoctonia solani* Khun que afecta a la papa en tres zonas ecológicas del Perú. Fitopatologia 25: 16-22.
- Bains , P.S. and Bisht, V.S. 1995. Anastomosis group identity and virulence of *Rhizoctonia solani* isolated collected from potato plants in Alberta Canada. Plant Disease 79: 241-242.
- Baker, R. y Griffin, J.G. 1995. Nuevos enfoques para la gestión integrada de plagas. Estrategias para el control Biológico de Hongos Patógenos de Plantas. Florida. 153-182p.

- Banville, G.J. 1989. Yield losses and damage to potato plants caused by *Rhizoctonia Solani*, Kühn. Amer Potato J. 66:pp 821-834.
- Briseño, M. M.1997. Evaluación de fungicidas químicos y biológicos para el control de la Costra Negra *Rhizoctonia solani* Kühn en papa *Solanum tuberosum* L. en el Ejido La Concha, Municipio de Galeana, Nuevo León. Tesis Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buena vista, Saltillo, Coahuila, México.pp. 8- 15.
- Carling, D. E,. Leiner ,R. H. and Westphale, P. C. 1989. Symtoms, signs and yield reduction associated with *Rhizoctonia disease* of potato induced by tuberborne inoculum of *Rhizoctonia solani* AG-3. amer. Pot.S. 66:693-701.
- Carling, D.E and Leiner, R.H. 1990. Effect of temperature on virulence of *Rhizoctonia* solani and other *Rhizoctonia* on potato. Phytopatology 80: 930-934.
- Carsolio, C., Benhamou, N., Haran, S., Cortés, C., Gutierrez, A., Chet, I., y Herrera, E. A.1999.Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitim. Appl Environ Microbiol. 65:929-935.
- Castro, M. Osorio, C. 2005. Biorregulacion de *Rhizoctonia solani* en germinadores de café. Boletín CENICAFE. Avance técnico No. 336.
- Cepeda, S. M. y Gallegos, M. G. 2003. La papa: el fruto de la tierra. Ed. Trillas. México. pp 10.
- Chamarro, J. 1995. Anatomía y fisiología de la planta en el cultivo del tomate. Madrid, Mundi-Prensa. pp.43-91.

- Chaverri, P. and Samuels, G.J. 2003. *Hypocrea/Trichoderma* (Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae): Species with green ascospores. Studies in Mycology 48. Centraal bureau Boor Schimmelcultures (CBS): Utrecht, P.116.
- Chávez, L. L. 2004. Potencial antifúngico de cepas de *Bacillus spp.* y extracto de *Larrea tridentata* contra *Rhizoctonia solani* en el cultivo de la papa (*Solanum tuberosum I.*). Tesis de Maestria. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buena vista, Saltillo, Coahuila, México.pp. 4-8.
- Cortes, A. M., Cárdenas, A., Pinzón, H. 2001. Effect of seed priming in the presence of *Trichoderma koningii* on seed and seedling disease induced in tomato by *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. IOBC Bulletin Vol. 24 (3) 259-263.
- Dal Bell, G.M., Monaco C.I. y Chavez, A.R. 1997. Efecto de los metabolitos volátiles de *Trichoderma harmatum* sobre el crecimiento de hongos fitopatógenos procedentes del suelo. Rev. Iberoam Micol 14: 131-134.
- Devaux, A., Thiele, G., López, G. y Velasco, C. 2006. Papa Andina: Innovación para el Desarrollo en los Andes, 2002-2006. Centro Internacional de la Papa. (CIP). Lima. p. 79.
- De la Garza, J.L.1996. Fitopatología General. Universidad Autónoma de Nuevo León. Facultad de Agronomía. Marín N.L, p. 116.
- Díaz, J. 1994. Algunos aspectos biológicos de *Trichoderma* y su posible uso como biocontrol. Trabajo de Diploma en opción al título de Ingeniero Agrónomo. Universidad Agraria de La Habana. p. 18-20.

- Druzhinina, I. and Kubicek, C.P. 2005. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters. Journal of Zhejiang University Science 6:100-102.
- Fadel, A. A., Abed, A. A. 2005. Biological Control of *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* by Using local isolates of *Trichoderma Spp*. Thesis of Master on Environmental Science. An-Najanh National University, Nablus, Palestin, p.3.
- Fernandois, C. 2003. Control biológico en tomate (*Lycopersicuon esculentum Mill*), cultivado bajo invernadero frío en suelo naturalmente infectado con *Pyrenochaeta lycopersici*. Memoria de Título Ing. Agr. Valparaíso, Universidad Católica de Valparaíso, Facultad de Ciencias Agronómicas. 71 p.
- Gams, W. and Bissett, J.1998. Morphology and identification of *Trichoderma*, in *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vol. 1 C.P. Kubicek and G.E. Harman, eds. Taylor & Francis, London, pp.6-7.
- Gonzales, H. D. 2002. Estado actual de la taxonomía de *Rhizoctonia Solani* Kühn. Departamento de sistemática vegetal. Instituto de Ecología, A.C V.20. N2.
- Henis, Y., Adams, P.B., Lewis J.A., and Papavisas, G.C. 1983. Penetration of Sclerotia of Sclerotium rolfsii by Trichoderma spp. Phytopathology 73:103-1046.
- Hooker, J.W. 1990. Compendium of potato diseases. 4ta Edition. American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota, USA. 125 p.
- Howell, C., Hanson, L., Stipanovic, R. and Puckhaber, L. S. 2000. Induction of terpenoid synthesis in cotton roots and control of *Rhizoctonia solani* by seed treatment with *Trichoderma virens*. Phytopathology .90: 248-252.

- HowelL, C. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current Concepts. plant disease 87: 4 10.
- Infante, D., Martínez B., González, N., y Reyes, Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Rev. Protección Vegetal 24: 14 21.
- Jiménez, C., Sanabria, N. Altuna, G. y Albarrancin, M. 2003. Pruebas de patogenicidad de diferentes cepas de *Trichoderma* spp. provenientes de varias localidades del estado Aragua. Fitopatol. Venez 16: 48.
- Kibicek, C.P. and Hatman, G.E. 1998. Basic *Trichoderma* and *Gliocladium*. Biology, taxonomy and genetics. Vol. 1. Eds. Taylor & Francis, London, P.9.
- León, G.H.M 1982. Enfermedades de cultivos en el estado de Sinaloa. SARH. 3ª ed. México, D.F. 269P.
- Liu, S. and Baker, R. 1980. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 70:404-411.
- Lopez, G, C. 1994. Epidemiologia de las enfermedades de la papa causadas por hongos fitopatógenos del suelo en el sur de Coahuila y Nuevo León. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma agraria Antonio Narro. Buena vista, Saltillo, Coahuila, México. p 4.
- Lorito, M., Harman, G., Prieto, A. D., and Hayes, C. 1990. Extracellular chitimolytic enzymes produced by *T. harzianum*, purification, characterization and molecular cloning. Phytopathol. 82:10-77.

- Martínez, A. M.2002. Cultivo de la papa (*Solanum tuberosum* L.) en México y el estudio de la costra negra (*Rhizoctonia solani* Kühn). Tesis licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. p 66.
- Melgarejo, P., and Sagasta, E. 1989. Influence of *Penicillium frecuentans* and two of its antibiotics on production of stromata by *Monilinia laxa* in culture. Can. J. Bot. 67:83-87.
- Méndez, S.V. 2003. Control Biológico de Postcosecha en Uruguay. Revista de Horticultura Internacional. pp. 29-26.
- Mendoza, Z. C. y Pinto, B. 1983. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma de Chapingo, México. p. 311.
- Montealegre, J., R. Herrera, J.C. Velásguez, P. Silva, X. Besoain and L.M. Pérez. 2005. Biocontrol of root and crown rot in conditions using Trichoderma harzianum and tomatoes under greenhouse Paenibacillus *lentimorbus*: Additional effect of solarization. Electronic Journal of Biotechnology 8: 249-257.
- Mohiddin, F.A., Khan, M.R., Khan, S.M., and Bhat, B.H. 2010. Why *Trichoderma* is consedered super hero (super fungus) against the evil parasites. Journal Plant Pathology, 9: 92-102.
- Odium, P.E. y Barret, W. G. 2008. Fundamentos de Ecología. Ed. Cengage learning. 5^{a.} Ed. México D.F México, P.283.
- Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and Intraespecific groups of *Rhizoctonia solani* Kuhn. Phytopathology 25: 138.

- Orietta, F. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Instituto de investigaciones de Sanidad Vegetal de la Habana Cuba. 62:96-100.
- Pal, K. K. and McSpadden G. 2006. Biological control of plant pathogens. The plant Health Instructor, 10: 1094.
- Pantoja, G, L.F., 2009. Actividad antifúngica in vitro de aislamientos de *Trichoderma spp.* sobre *Sclerotium cepivorum* y *Sclerotinia sclerotium*. Tesis licenciatura. Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, Mexico. P, 13.
- Papavizas, G. C., and Lewis, J, A.1997. Isolating, identifying, and producing inoculum of *Rhizoctonia solani*. In: Methods for evaluating pesticides for control of plant pathogens. Hickey KD (Ed.) The American Phytopatological Society, St. Paul Minnesota, USA. pp 50.
- Parmeter, J. R., Sherwood, Jr. R. T., and Platt, W. D. 1969. Anastomosis grouping among isolates of *Thanatephorus cucumeris*. Phytopathology 59: 1270-1278.
- Prado, A. M. y Acosta, C. 2011. *Trichoderma koningiopsis* Th003, alternativa biológica para el control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria CORPOICA.pp.4 7 Disponible en www.corpoica.org.com
- Randall, C.R. 1993. *Potato managament*. The American Phytopathology Society, St. Paul, Minesota, U.S.A. 149-158p.
- Roberts, A.D. y Boothroyd, C.W. 1978. Fundamentos de Patología Vegetal. Edit; Acribia. Zaragoza, España. p. 392.

- Romero, C.S. 1988. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Mexico, D.F. p. 338.
- Samuels, G.J. 2006. *Trichoderma: Systematics*, the sexual state, and ecology. Journal Phytopathology 96: 195-206.
- Samuels, G.J., Chaverri, P., Farr, D.F and McCray, E.B 2008. *Trichoderma* Online, Systematic Mycology and Microbiology Laboratory, ARS, USDA. p.32 39.
- Santander, C., Montealegre ,J. y Herrera, R. 2003. Control biológico de *Rhizoctonia* solani en tomate en suelos previamente sometidos a solarización y Bromuro de Metilo. Cien. Inv. Agr. 30 :107-112.
- Singleton, L., Jeanne, M.D. and Charles, M.R. 1992. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. The American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota, U.S.A. p.265.
- Stefanova, M. 2000. Producción y aplicación de *Trichoderma* spp. Como antagonista de hongos fitopatógenos. Informe técnico de investigación, INISAV, La Habana.p.225.
- Stefanova, M., Leiva, A. Larrinaga, L., Coronado, MF. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo», *Rev. Fac. Agron. (LUZ)* 16:509-516.
- Thompson, W.T. 1993. Agricultural chemicals Book V. Fungicides. Thomposn Publications Fresno, California. USA. p.296.

- Ulloa, CJ. 1996. Enzimas micolíticas produzidas pelo agente de biocontrole *Trichoderma harzianum*. In: Actas del V de Simposio de controle biológico. Anais: Conferencias y Palestras. Foz de Iguaçu-Parana-Brasil. pp. 234-238.
- Walker, J. C. 1975. Patología Vegetal. 3ª Ed. Omega. Barcelona, España. p.818.
- Yuleidi, L., Juan, P., Alexander, H., y Dilicia, U. 2010. Efecto diferencial de seis aislamientos de *Trichoderma* sobre la severidad de *Rhizoctonia solani*, desarrollo radical y crecimiento de plantas de maíz. Posgrado de Agronomía, Decanato de Agronomía, Universidad Centroccidental "Lisandro Alvarado". Apdo. 400. Barquisimeto-Venezuela. p.37- 42.
- Zavaleta, M., E. y Ochoa, D.L. 1992. Control Biológico de Fitopatógenos. Memorias XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Buenavista Saltillo, Coahuila. p.140.

APÉNDICE

Cuadro 1. Análisis de varianza para la medición de incidencia de la enfermedad

F.V	G.L	S.C	C.M	F.	P>F
Modelo	4	3986.53	974.13	1.22	0.33
Error	5	6839.16	1367.83	1.77	0.1787
Total	24	26747.05			

C.V.=44.24

Cuadro 2. Análisis de varianza para la medición de severidad en el número de esclerocios por tubérculo.

F.V	G.L	S.C	C.M	F.	P>F
Modelo	4	18.20	4.55	0.43	0.7821
Error	5	97.15	19.43	1.85	0.1478
Total	24	324.87			

C.V.= 44.52

Cuadro 3. Análisis de varianza para el peso fresco de la planta de papa.

F.V	G.L.	S.C	C.M.	F.	P>F
Modelo	4	0.00020813	0.00002313	0.54	0.8271
Error	20	0.00085387	0.00004269		
Total	29	0.00106200			

C.V. = 54.45

Cuadro 4. Análisis de varianza para peso del tubérculo de papa inoculado con *Rhizoctonia solani.*

F.V	G.L.	S.C	C.M	F.	P>F
Modelo	4	0.00259700	0.00028856	1.03	0.4487
Error	20	0.00558580	0.00027929		
Total	29	0.00818280			

C.V. =41.98988

Cuadro 5. Análisis de varianza para peso de raíz de la planta de papa.

F.V	G.L.	S.C	C.M.	F.	P>F
Modelo	4	1E-6	1.1111111E-7	0.29	0.9696
Error	20	7.666667E-6	3.833333E-7		
Total	29	8.666667E-6			

C.V. =46. 43544

Cuadro 6. Análisis de varianza para altura de plantas de papa.

F.V	G.L.	S.C	C.M.	F.	P>F
Modelo	9	135.1083333	15.0120370	0.80	0.6171
Error	20	373.0666667	18.6533333		
Total	29	508.1750000			

C. V. = 19. 67631

Cuadro 7. Análisis de varianza para longitud de raíz en plantas de papa.

F.V	G.L.	S.C	C.M.	F.	P>F
Modelo	4	205.8250000	22.8694444	2.92	0.0219
Error	20	156.4166667	7.8208333		
Total	29	362.2416667			

C. V. =16.43433