

**CONTROL BIOLÓGICO DE *Rhizoctonia solani* KÜHN CON
ESPECIES DE *Trichoderma* NATIVAS DE LA COMARCA LAGUNERA
DE COAHUILA**

MA. YOLANDA AGÜERO ESQUEDA

T E S I S

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

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
“ANTONIO NARRO”**

**UNIDAD LAGUNA
SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO**

Torreón, Coahuila, México. Julio del 2007

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
"ANTONIO NARRO"

SUBDIRECCIÓN DE POSTGRADO

**CONTROL BIOLÓGICO DE *Rhizoctonia solani* KÜHN CON
ESPECIES DE *Trichoderma* NATIVAS DE LA COMARCA LAGUNERA
DE COAHUILA**

TESIS

POR

MA. YOLANDA AGÜERO ESQUEDA

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

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS

Asesor principal



Ph. D. Vicente Hernández Hernández

Asesor



Dr. Francisco Javier Sánchez Ramos

Asesor



Dr. Esteban Favela Chávez



Dr. Jerónimo Landeros Flores
Subdirector de Postgrado

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

Torreón, Coah. México. Julio de 2007

AGRADECIMIENTOS

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

A MI ALMA TERRA MATER. Por abrirme sus puertas y haberme proporcionado los medios para mi formación como profesionista.

A CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA, por la beca otorgada.

A COECYT. Por haberme dado la oportunidad de obtener la beca tesis terminal de maestría.

A mi asesor Ph.D. Vicente Hernández Hernández, por su confianza y apoyo.

A los integrantes del comité revisor: Ph.D. Vicente Hernández Hernández Dr. Francisco Javier Sánchez Ramos, M.Sc. Ma. Teresa Valdés Perezgasga y Dr. Esteban Favela Chávez, quienes mejoraron el trabajo con sus acertadas aportaciones, sugerencias y correcciones.

Al MC. Héctor Zermeño, por su amistad y apoyo brindado

Al Dr. J José Alfredo Samaniego Gaxiola asesor de ésta investigación, por su valiosa guía, atinados consejos e innumerables sugerencias, paciencia, confianza y amistad recibida.

A todos los maestros, que de alguna manera aportaron sus conocimientos en mi formación.

Al M.C. Gerardo Arellano Rodríguez, Por su gran amistad y apoyo durante mi estancia en el Postgrado "Gracias"

A mis amigos y compañeros de Postgrado, por su amistad, acertados consejos, con quienes compartí momentos inolvidables: Rosalinda, Oralia, Norma, Esther, Lili, Marcia, Edson, Eduardo, Andrio y todos.

A todos ustedes muchas gracias.

DEDICATORIA

A Dios

Quien siempre esta conmigo, por permitirme culminar otra meta más en mi vida.

A mi esposo Dante Roman

Por su profundo amor, gran apoyo, comprensión, paciencia e impulso dado para alcanzar ésta meta. Con todo mi amor, respeto y gratitud.

A mis hijas

Ingrid Itzel y la bebe por su amor, motivo de mi fortaleza para seguir adelante y por haberme permitido robarles parte del tiempo que les pertenecía para la realización de éste trabajo.

A mis padres

Vicente y Oscar, por los esfuerzos y sacrificios para brindarme una profesión que es la mejor herencia que pudieron darme y por su apoyo incondicional en mi desarrollo personal y profesional.

A mis hermanas

Gabriela, Olimpia, Socorro, Arcelia y Gorety, por todo el apoyo amor y cariño que siempre me han brindado en el transcurso de mi vida y mi carrera.

A mis hermanos

Oscar y Santiago, por su confianza, comprensión y cariño que siempre han demostrado.

A mis sobrinos

Jonathan, Surisanday, Xitlali, Jairo, Ismael, Oscar, Agustín, Arnulfo y a los que están por nacer. Por su alegría, cariño y amor que han traído a mi vida.

A mis suegros

Reyna Isabel y Salvador. Por su apoyo comprensión y cariño.

A mis cuñadas Yohana y Perla **y mis cuñados** Jairo, Agustín, Jesús, Arnulfo, Luis y Víctor por su amistad, cariño y apoyo.

COMPENDIO

CONTROL BIOLÓGICO DE *Rhizoctonia solani* KÜHN CON ESPECIES DE *Trichoderma* NATIVAS DE LA COMARCA LAGUNERA DE COAHUILA

POR
MA. YOLANDA AGÜERO ESQUEDA

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA

Torreón, Coahuila, Julio del 2007

Ph.D. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ- Asesor

Palabras claves: Control biológico, *Trichoderma*, *Rhizoctonia solani* kühn

Trichoderma spp es un hongo habitante natural del suelo que puede vivir como saprófito o como parásito sobre otros hongos. El presente trabajo consistió identificar y evaluar la actividad antifúngica de cepas nativas de *Trichoderma* spp de la Comarca Lagunera frente a una cepa de *Rhizoctonia solani*, un fitopatógeno del suelo, causante de muchas enfermedades en plantas de interés económico. Se empleo para ello la técnica de enfrentamientos duales en laboratorio para demostrar el grado de antagonismo de 13 aislamientos de *Trichoderma* frente al fitopatógeno. Con la finalidad de que los resultados en laboratorio puedan reproducirse a nivel de campo, se realizaron evaluaciones en macetas con arena

infestada con *R. solani*, al aire libre con los 13 aislamientos y un testigo, con cuatro repeticiones, donde se utilizaron plántulas de frijol para evaluar la actividad antagónica de *Trichoderma*. Se concluyó que la actividad antagónica fue mayor para tres cepas de *Trichoderma*, denominadas como T3, T7 y T9 (*T. harzianum*) en pruebas *in vitro*, y que llevados a pruebas de campo están dentro de los mejores antagonistas, así mismo estadísticamente fueron iguales a la cepa T4 (*T. harzianum*) aun cuando los resultados de campo fueron superiores para este último. Sin embargo, se puede decir que todas las cepas mostraron actividades inhibitorias diferentes lo cual no sucedió en el tratamiento testigo (*R. solani* sin antagonista). Los aislamientos identificados fueron *T. harzianum*, *T. koningii* y *T. viridae* obteniendo un mayor número de *T. harzianum*.

ABSTRACT

BIOLOGICAL CONTROL OF *Rhizoctonia solani* KÜHN WITH NATIVE SPECIES OF *Trichoderma* OF THE COMARCA LAGUNERA OF COAHUILA

CONTROL BIOLÓGICO DE *Rhizoctonia solani* KÜHN CON ESPECIES DE *Trichoderma* NATIVAS DE LA COMARCA LAGUNERA DE COAHUILA

BY

MA. YOLANDA AGÜERO ESQUEDA

MASTER SCIENCE AGRONOMIC PRODUCTION

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA “ANTONIO NARRO”
UNIDAD LAGUNA

TORREÓN, COAHUILA, JULY OF 2007

Ph. D. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ -Adviser

Key words: Biological control, *Trichoderma* spp, *Rhizoctonia solani*.

Trichoderma is a soil borne fungus that lives as a saprophyte or as a parasite on other fungi. This study was performed to identify and to evaluate the activity of native isolates of *Trichoderma* from the Comarca Lagunera, Mexico, against an isolate of *Rhizoctonia solani*, a soil borne plant pathogen responsible of many plant diseases of economical importance. Dual confrontation of 13 isolates of *Trichoderma* versus the plant pathogen was made in laboratory to evaluate the antagonistic

effect. Evaluations were also made in past in the field using the 13 isolates and a control. Sand in the pots was infested with *R. solani*, inoculated with *Trichoderma* and planted with beans. The greatest antagonistic activity was for *T. harzianum* *in vitro* and in the field. However, all the isolates had antagonistic activity against *R. solani*. The isolates identified were *T. harzianum* (the most abundant), *T. koningii* y *T. viridae*.

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	xi
ÍNDICE DE FIGURAS	xii
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 OBJETIVOS	2
1.2 HIPÓTESIS	2
2 REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1 Pérdidas causadas por organismos dañinos	3
2.2 El control químico de las enfermedades de plantas	3
2.3 El control biológico de las enfermedades de las plantas	5
2.4 <i>Trichoderma</i> como agente de control biológico	6
2.4.1 El género <i>Trichoderma</i>	9
2.4.2 Características ecológicas de <i>Trichoderma</i>	10
2.5 Mecanismos de control biológico de <i>Trichoderma</i>	12
2.5.1 Estimulación de los mecanismos de defensa de las plantas (resistencia inducida)	12
2.5.2 Inactivación de los sistemas de ataque del patógeno	14
2.5.3 Competencia por los nutrientes y el espacio	14
2.5.4 Antibiosis	15
2.5.5 Micoparasitismo	17
2.6 <i>Trichoderma</i> spp contra <i>Rhizoctonia solani</i>	20
2.7 El fitopatógeno: <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	22
2.7.1 Enfermedades y rango de hospedante	22
2.7.2 Relación hospedante-patógeno	23
2.8 Métodos de control	24
2.8.1 Control físico y químico	24
2.9 Ubicación taxonómica de <i>Rhizoctonia</i>	25
2.9.1 Ciclo de vida	25
3. MATERIALES Y MÉTODOS	28
3.1 Localización del área de estudio	28
3.2 Aislamiento de especies de <i>Trichoderma</i>	28
3.2.1 Sitios de muestreo	28
3.2.2 Aislamientos de <i>Trichoderma</i> spp	29
3.2.3 Purificación y conservación de los aislamientos de <i>Trichoderma</i> spp.	29
3.2.4 Selección de especies de <i>Trichoderma</i>	29
3.3 Prueba <i>in vitro</i>	30
3.4 Prueba en maceta	31
3.4.1 Preparación del inóculo de <i>Rhizoctonia solani</i>	31
3.4.2 Preparación del inóculo de <i>Trichoderma</i> spp.	31
3.4.3 Preparación del material vegetal	31
3.4.4 Aplicación de los microorganismos	32
3.4.5 Siembra en macetas	32
3.4.6 Tratamientos	32
3.4.7 Diseño del experimento	32
3.4.8 Evaluaciones	33
3.4.9 Ubicación del experimento	33
3.4.10 Identificación de las especies de <i>Trichoderma</i>	33
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	34

4.1 Aislamientos de especies nativas de <i>Trichoderma</i>	34
4.2 Selección de los aislamientos de <i>Trichoderma</i>	34
4.3 Prueba <i>in vitro</i>	35
4.4 Prueba en macetas	36
4.4.1 Plantas vivas	37
4.4.2 Longitud de tallo y raíz alcanzada a los 30 días después de la siembra	38
4.4.3 Peso total de las plantas	40
4.5 Identificación de las especies de <i>Trichoderma</i>	41
5. CONCLUSIONES	42
6. RESUMEN	43
7. LITERATURA CITADA	44
8. APENDICE A	51

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Ejemplos de aislados de <i>Trichoderma</i> usados en experimentos de control biológico contra Fitopatógenos	7
Cuadro 2. Productos a base de <i>Trichoderma</i> registrados y comercializados como agentes de control biológico.	8
Cuadro 3. Ubicación de los sitios de muestreo de <i>Trichoderma</i> . UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	28
Cuadro 4. Tratamientos de <i>Trichoderma</i> spp contra <i>Rhizoctonia solani</i> . UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	32
Cuadro 5. Numero de aislados de <i>Trichoderma</i> spp obtenidos por sitio de muestreo. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	34
Cuadro 6. Aislamientos de <i>Trichoderma</i> seleccionados para su evaluación. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	35
Cuadro 7. Diámetro de las colonias de <i>R. solani</i> a las 96 horas En el enfrentamiento con diferentes cepas de <i>Trichoderma</i> . UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	36
Cuadro 8. Efecto de <i>Trichoderma</i> sobre la emergencia y sobrevivencia de plantas de frijol sembradas en medio infestado con <i>R. solani</i> . UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	37
Cuadro 9. Efecto de <i>Trichoderma</i> sobre la plantas sobrevivientes de frijol sembradas en medio infestado con <i>R. solani</i> . UAAAN-UL. Torreón Coah. 2006.	37
Cuadro 10. Longitud de tallo de plántulas de frijol a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	39
Cuadro 11. Longitud de raíz de plántulas de frijol a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	39
Cuadro 12. Evaluación del peso fresco total de las plántulas que sobrevivieron en cada tratamiento a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL Torreón, Coah., 2006.	40
Cuadro 13. Identificación a nivel de especie de las 13 cepas de <i>Trichoderma</i> seleccionadas para este estudio. UAAAN-UL. Torreón, Coah., 2007.	41

ÍNDICE DE FIGURAS

- Figura. 1. Detalles microscópicos del micoparasitismo de *Trichoderma harzianum* sobre *Pythium* (A) y *Rhizoctonia* (B) 19
- Figura 2. Enfrentamiento dual *Trichoderma* contra *R. solani* 30

1. INTRODUCCIÓN

En la Comarca Lagunera y en otras áreas de país y del mundo los principales hongos fitopatógenos del suelo son: *Fusarium* spp, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich, *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Duggar, *Phytophthora* spp, *Pythium* spp, *Rhizoctonia solani* Kühen y *Verticillium dahliae* Kleb. Estos fitopatógenos son importantes principalmente por: su supervivencia, ya que pueden persistir en el suelo por varios años debido a las estructuras de resistencia que forman; su amplio rango de hospedantes, pues en general afectan a los principales cultivos de interés para el hombre; su distribución debido a la cual se encuentran en la mayoría de los suelos; las enfermedades que causan, ya que pueden matar a las plantas y/o reducir drásticamente los rendimientos. Consecuentemente, estos hongos limitan los sistemas de producción en suelos donde se encuentran (Hernández, 2002; Chew y Jiménez, 2002; Herrera y Samaniego, 2002).

En la Comarca Lagunera, *Rhizoctonia solani* es el principal fitopatógeno del suelo, ya que afecta prácticamente a todos los cultivos regionales, siendo especialmente importante en hortalizas y forrajes. Las enfermedades que ocasiona son: complejo de enfermedades de la semilla y plántula, pudriciones de la raíz, de la corona, de la base del tallo y del fruto (Cardona *et al.*, 2003).

Por su distribución espacial y el medio donde prospera este fitopatógeno, el manejo mediante los métodos tradicionales es sumamente difícil, por lo que se requieren alternativas diferentes para eliminarlo y/o reducir el daño que ocasiona (Cardona *et al.*, 2003).

Una opción para el manejo de fitopatógenos del suelo es el control biológico mediante el empleo de organismos antagonistas o parásitos. Actualmente se están utilizando para con este propósito especies de *Trichoderma*, un deuteromiceto habitante natural del suelo y parásito de hongos fitopatógenos (Rodríguez *et al.*,

1997). Los mecanismos de acción de *Trichoderma* son micoparasitismo, antibiosis y competencia por nutrientes en el exudado de las semillas (Fernández-Larrea, 2001). Por lo tanto, se considera que las especies nativas de *Trichoderma* constituyen una posibilidad real para el control de *R. solani*.

1.1 OBJETIVOS

- Aislar e identificar especies de *Trichoderma* nativas de la Comarca Lagunera de Coahuila.
- Evaluar actividad antagónica de *Trichoderma* spp. contra *R. solani*.

1.2 HIPÓTESIS

- En la Comarca Lagunera existen varias especies nativas de *Trichoderma*.
- Las especies nativas de *Trichoderma* son antagónicas sobre *R. solani*.

2 REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Pérdidas causadas por organismos dañinos

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

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

2.2 El control químico de las enfermedades de plantas

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

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

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

2.3 El control biológico de las enfermedades de las plantas

Un método alternativo al uso de químicos, es el denominado control biológico, que se basa en el empleo de organismos excepto el hombre, con capacidad para reducir la población del agente causante de la enfermedad o evitar sus efectos (Hjeljord y Tronsmo, 1998). Estos organismos, conocidos como “agentes de control biológico” (ACB), pueden ser patógenos hipovirulentos que compitan por el espacio y los nutrientes con las cepas silvestres; variedades de plantas resistentes a la enfermedad, u otros organismos que interfieran con la supervivencia del patógeno o con sus mecanismos para provocar la enfermedad (Whipps y Lumsden, 2001).

La principal ventaja que poseen los agentes de control biológico frente a los químicos es que debido a su complejo modo de acción, resulta improbable la aparición de cepas resistentes del patógeno. Además, estos agentes de biocontrol suelen ser microorganismos pertenecientes a la flora autóctona, por lo que son compatibles con el medio ambiente. En algunos casos han resultado una alternativa real, siendo efectivos contra enfermedades para las que no existe control químico, como por ejemplo el mal del pie del trigo causado por *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* o el tizón del castaño y la hernia de las brassicáceas producidas por *Cryphonectria parasitica* y *Plasmodiophora brassicae* respectivamente (Whipps y Lumsden, 2001).

A pesar de la investigación desarrollada, el control biológico tiene aún grandes limitaciones. La principal es que, además de ser relativamente más caro, más lento e imprevisible, en numerosas ocasiones el efecto no es suficiente para reemplazar a los agentes químicos en su totalidad (Chet e Inbar, 1994).

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

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

2.4 *Trichoderma* como agente de control biológico

Los agentes de control biológico que se emplean contra fitopatógenos suelen ser microorganismos antagonistas como bacterias (*Bacillus* spp., *Pseudomonas*), estreptomicetos y virus fundamentalmente. Entre estos últimos se comercializan algunas especies de los géneros *Pythium*, *Fusarium*, *Ampelomyces*, *Coniothyrium*, *Endothia*, *Gliocladium* y *Trichoderma* (Butt *et al.*, 2001). La mayor parte de la investigación que se lleva a cabo sobre control de enfermedades fungosas se refiere a cepas del hongo del género *Trichoderma*. La naturaleza

antagonista de *Trichoderma* se descubrió hace más de 70 años (Weindling, 1932) y desde entonces, numerosas especies clasificadas dentro de este género se han utilizado en experimentos de control biológico de hongos patógenos de plantas (Benítez *et al.*, 1998) (Cuadro 1).

CUADRO 1. Ejemplos de aislados de *Trichoderma* usados en experimentos de control biológico contra fitopatógenos.

Antagonista	Patógeno	Cultivo	Referencia
<i>T. harzianum</i>	<i>Sclerotium rolfsii</i>	caña de azúcar	Vancura y Kunc (1989)
	<i>Pythium ultimum</i>	Lechuga	Lynch <i>et al.</i> (1991)
	<i>Fusarium oxysporum</i>	narciso, algodón	Beale y Pitt (1990)
	<i>Rhizoctonia solani</i>	lechuga, haba	Lewis y Papavizas (1987)
	<i>Verticillium spp.</i>	Tomate	Sivan y Chet (1987)
	<i>Botrytis cinerea</i>	Tomate	O'Neill <i>et al.</i> (1996)
		Fresa	Sutton y Peng (1993)
<i>T. hamatum</i>		Uva	Gullino (1992)
	<i>G. graminis</i>	trigo y centeno	Sivasithamparam <i>et al.</i> (1988)
	<i>F. oxysporum</i>	Narciso	Beale & Pitt (1990)
<i>T. viride</i>	<i>R. solani</i>	Tomate	Lewis <i>et al.</i> (1990)
		algodón, haba	Lewis y Papavizas (1991)
	<i>Penicillium digitatum</i>	Naranja	Rice (1995)
	<i>Pythium ultimum</i>	Lechuga	Lynch <i>et al.</i> (1991)
<i>T. virens</i>	<i>F. oxysporum</i>	Narciso	Beale y Pitt (1990)
	<i>R. solani</i>	algodón, tomate	Lewis y Papavizas (1987)
		Papa, haba	
	<i>P. ultimum</i>	Algodón	Howell (1991)
<i>T. koningii</i>	<i>R. solani</i>	Papa, haba	Lewis y Papavizas (1987)
	<i>Phytophthora spp.</i>	Peral	Roiger y Jeffers (1991)
	<i>G. graminis</i>	trigo y centeno	Dewan y Sivasithamparam (1988)
<i>T. polysporum</i>			Latunde-Dada (1991)
	<i>R. solani</i>	Leguminosas	
<i>T. reesei</i>	<i>Fomes annosus</i>	Bosques	Donelly y Sheridan (1986)
<i>Trichoderma spp.</i>	<i>Rhizopus stolonifer</i>		Watts <i>et al.</i> (1988)
	<i>Rhizoctonia</i>	Hortalizas	Chet (1987)
	<i>Pythium</i>	varios cultivos	
	<i>Rhizoctonia</i>	Patata	Beagle-Ristano y Papavizas (1985)
	<i>Verticillium</i>	Champiñón	Ricard (1988)
	<i>Pythium</i>	Guisante	Nelson <i>et al.</i> (1988)
	<i>Rhizoctonia</i>	Rábano	Mihuta-Grimm y Rowe (1986)
	<i>Sclerotium</i>	Manzana	Conway (1986)
	<i>Verticillium dahliae</i>	Papa	Keinath <i>et al.</i> (1991)
	<i>Roseum</i>		
<i>Gliocladium spp.</i>	<i>Rhizoctonia</i>	Ornamentales	Lumsden y Lock (1989)
	<i>Pythium</i>		
<i>Gliocladium spp.</i>	<i>Sclerotium</i>	Haba	Papavizas y Lewis (1989)
<i>Gliocladium spp.</i>	<i>Rhizoctonia</i>	Cacahuete	Jones <i>et al.</i> (1984)

Adaptado de: Benítez *et al.*, 1998

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

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

Cepa	Patógeno	Aplicación	Producto comercial
		Suelo y raíces	
<i>T. virens</i>	<i>Pythium ultimum</i> , <i>R. solani</i>	Marchitamiento de plántulas de semilleros	SoilGard (GL-21) (Thermo Trilogy)
<i>T. harzianum</i>	<i>Fusarium spp.</i> , <i>P. ultimum</i> , <i>R. solani</i> , <i>Sclerotinia homeocarpa</i> , varios hongos	Varios cultivos y Ornamentales	T-22G, T-22 Planter Box, Bio-Trek y Root Shield (Bio-Works) Supresivit Fytovita
<i>T. harzianum</i> + <i>T. polysporum</i>	Varios hongos	Cultivos de invernadero	BINAB-T WP (Bayer)
<i>T. viride</i>	<i>Fusarium ssp.</i> , <i>Pythium sp.</i> , <i>Rhizoctonia sp.</i> , <i>Macrophomina phaseolina</i> , <i>Phytophthora sp.</i>	Algodón, legumbres, girasol, tabaco y Hortalizas	Ecofit (Hoechst Schering AgrEvo Ltd)
Partes aéreas			
<i>T. harzianum</i>	Botrytis cinerea y otros Patógenos foliares	Pepino, uva, nectarina, soya, fresa, girasol, tomate	Trichodex (Makhteshim Chemical Works Ltd)
<i>T. harzianum</i> + <i>T. polysporum</i>	<i>B. cinerea</i> <i>Chondrostereum purpureum</i> , <i>Eutypa</i>	Fresa y uvas clorosis y rizado de las hojas de drupáceas	BINAB-T WP (Bayer)
<i>T. harzianum</i> + <i>T. viride</i>	<i>C. purpureum</i>	clorosis y rizado de las hojas de drupáceas o pomáceas	Trichodowels, Trichobject y Trichoseal (Agrimm Technologies Ltd)

Adaptado de: Whipps y Lumsden, 2001

2.4.1 El género *Trichoderma*

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

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

Las primeras clasificaciones taxonómicas existentes son preliminares y se basan fundamentalmente en las características morfológicas de las especies, que a menudo no aportan la información suficiente para discernir unas de otras. Aunque existe un concepto general de morfología básica de *Trichoderma* (crecimiento rápido, esporulación abundante, conidios verdes y conidióforos mal definidos), éste no está establecido por completo, existiendo una integración con otros géneros hifomicetos. Rifai (1969), por ejemplo, dividió el género en nueve agregados de

especies, Gams y Bissett (1998), definieron las secciones *Trichoderma*, *Longibrachiatum*, *Pachybasium* e *Hypocreanum*. Desde entonces y con la aplicación de diversas técnicas moleculares como cariotipos electroforéticos, análisis de isoenzimas, análisis de polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP), polimorfismos de fragmentos de ADN amplificados al azar (RAPD), secuenciación de ADN (por ejemplo, de secuencias espaciadoras intergénicas del ADN ribosómico o ITS), junto con técnicas bioquímicas y fisiológicas, se han ido redefiniendo o confirmando tanto secciones completas como especies dentro del género (Lieckfeldt *et al.*, 1998). Por ejemplo, la inclusión en el género *Trichoderma* de *Gliocladium virens*, uno de los hongos más citados en control biológico, ha sido aceptada sólo después de ser determinada mediante el análisis de secuencias de ITS (Rehner y Samuels, 1994).

2.4.2 Características ecológicas de *Trichoderma*

Las características ecológicas de los hongos pertenecientes a este género los hacen especialmente adecuados para su aplicación como agentes de control biológico de enfermedades producidas por hongos. Las especies de *Trichoderma* son ubicuas, se hallan ampliamente distribuidas tanto geográficamente como en distintos tipos de suelo, siendo predominantes en hábitats donde abundan restos vegetales y madera en descomposición. Son hongos saprófitos, con la excepción de algunas especies que además son micoparásitas. Poseen una gran capacidad de colonización de distintos ambientes debido a que crecen muy rápidamente, tienen pocos requerimientos nutricionales y sobreviven en condiciones muy adversas (Papavizas, 1985).

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

Rara vez se ha asociado a *Trichoderma* con enfermedades de plantas, al contrario, se considera un organismo benéfico para las mismas. La promoción del crecimiento vegetal por parte de *Trichoderma* es un fenómeno que se ha observado en varios tipos de cultivos (Lindsey y Baker, 1967; Harman *et al.*, 1989). Este fenómeno se manifiesta como una potenciación de la germinación de las semillas, una floración más abundante y temprana e incremento de altura y peso de las plantas (Chang y Baker, 1986). Sin embargo, los mecanismos mediante los cuales se produce este efecto permanecen aún sin identificar. Uno de ellos podría ser la capacidad de *Trichoderma* para solubilizar metales, como el zinc, el manganeso, el hierro o el cobre, convirtiéndolos así en nutrientes asimilables por las plantas (Altomare *et al.*, 1999). Otro efecto indirecto podría ser la eliminación de la rizosfera de patógenos de menor incidencia, como es el caso de *Pythium*, sin los cuales las plantas alcanzarían su máximo potencial de desarrollo (Harman *et al.*, 1989). Aún así, en experimentos de laboratorio en los que sólo están presentes *Trichoderma* y la planta a ensayar, también se produce el estímulo del crecimiento. Existen evidencias de que hay factores difusibles, aún no identificados, que intervienen en el desencadenamiento de la respuesta de la planta, dado que experimentos en los que los dos organismos, planta y hongo, se separan mediante una membrana de celofán

dan resultados similares (Windham *et al.*, 1986). Una hipótesis más reciente propone que *Trichoderma* es capaz de limitar e incluso revertir el efecto del daño en la raíz causado por *R. solani* (Björkman *et al.*, 1998).

2.5 Mecanismos de control biológico de *Trichoderma*

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

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

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

Se ha observado que muchas cepas de *Trichoderma* son capaces de inducir resistencia sistémica en las plantas, ya que aplicadas en la rizosfera producen

protección contra patógenos del suelo o foliares (Meera *et al.*, 1994). Esta resistencia viene acompañada en muchos casos de un incremento de actividad de peroxidasa y quitinasa en zonas distantes de la raíz (Yedidia *et al.*, 1999) y de la síntesis en moléculas de la planta que intervienen en este tipo de respuesta, como es el ácido salicílico (De Meyer *et al.*, 1998).

Las moléculas implicadas en el desarrollo de la resistencia sistémica, parecen ser las enzimas hidrolíticas que secreta *Trichoderma*. La producción de xilanasas y celulasas por *Trichoderma* se ha relacionado en muchos casos con la síntesis de etileno en las plantas, otra de las hormonas implicada en la respuesta sistémica (Dean *et al.*, 1989). La acción de estas enzimas sobre la pared vegetal (celulosa, pectina, xilanos) o la pared celular de los hongos circundantes (quitina, glucanos, proteínas) puede dar lugar a la liberación de moléculas que sirven como inductores del sistema de defensa vegetal. Sin embargo, se ha comprobado que las enzimas hidrolíticas pueden servir como inductores, directos, independientemente de su actividad (Martínez *et al.*, 2001). Enkerli *et al.* (1999), demostraron mediante mutagénesis del sitio catalítico, que la actividad de la xilanasas II de *T. reesei* no es necesaria para la inducción de respuesta en la planta.

Uno de los ejemplos más estudiados ha sido el de la xilanasas de 22 kDa de *T. viridae*, que es capaz de inducir en la planta la apertura de canales iónicos, la biosíntesis de proteínas relacionadas con la patogénesis (PR), la biosíntesis de etileno y la glicosilación, así como acilación grasa de fitoesteroles. Parece que esta capacidad tampoco depende de la actividad de la enzima sino que está mediada por receptores de la membrana plasmática de la planta que interaccionan directamente con la proteína (Hananaia y Avni, 1997).

Es interesante señalar que las cepas de *T. harzianum* mejor adaptadas a la rizosfera tienen potenciadas sus actividades celulolíticas y algunas tienen una gran capacidad para digerir xilano y otros carbohidratos complejos (Ahmad y Baker, 1988).

2.5.2 Inactivación de los sistemas de ataque del patógeno

Uno de los mecanismos de antagonismo que *Trichoderma* ejerce contra algunos hongos fitopatógenos es el de anular el modo de acción de éstos. *T. harzianum* T39, por ejemplo, excreta una proteasa que degrada las enzimas que *B. cinerea* utilizada para atacar la pared celular de las plantas (Elad y Kapat, 1999). Una cepa de *T. viride* excreta una α -glucosidasa que degrada una fitotoxina asociada con el cáncer que *R. solani* produce en el arroz (Shanmugan *et al.*, 2001).

2.5.3 Competencia por nutrientes y espacio

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

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

Otra ventaja que tiene *Trichoderma* al establecerse en el suelo es que es muy resistente al efecto fungistático resultante de los metabolitos liberados por otros microorganismos, siendo capaz de desarrollarse en condiciones de competencia extrema. Muchas cepas son asimismo resistentes a muchos herbicidas y fungicidas y se recuperan con facilidad después del contacto con dosis subletales de estos tóxicos (Hjeljord y Tronsmo, 1998).

2.5.4 Antibiosis

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

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

El modo de acción de la mayoría de los antibióticos identificados se desconoce. Se sabe que la gliotoxina se une selectivamente a los grupos tioles de la membrana citoplásmica y que las trichorzianinas actúan modificando la permeabilidad de la membrana de la célula formando canales iónicos en la misma (Schirmbock *et al.*, 1994).

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

2.5.5 Micoparasitismo

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

Dentro de los hongos micoparásitos suceden dos tipos de comportamiento: el parasitismo necrotrófico, en el que el parásito mata a las células del hospedante antes o inmediatamente después de la invasión para la utilización de los nutrimentos liberados y el parasitismo biotrófico, en el que el parásito obtiene los compuestos que le servirán de nutrimentos a partir de las células vivas. Los del primer tipo son muy agresivos y suelen tener un amplio espectro de hospederos; los segundos, sin embargo tienen un espectro más restringido y un mecanismo de acción más específico que consiste en la emisión de estructuras especializadas para la absorción de nutrimentos. El género *Trichoderma* incluye varias especies micoparásitas, especialmente *T. harzianum* y *T. viride*, que pertenecen a la primera clase (Barnett y Binder, 1973).

El proceso de micoparasitismo ejercido por *Trichoderma* se produce en varias etapas sucesivas. Comienza por el crecimiento quimiotrófico de *Trichoderma* hacia el hospedante estimulado por moléculas procedentes del mismo, de naturaleza desconocida. Las únicas que se han detectado hasta ahora parecen ser aminoácidos y azúcares, por lo que no es factible esperar que la inducción sea específica del hospedante (Chet *et al.*, 1981). Cuando *Trichoderma* entra en contacto con el hospedante debe producirse un reconocimiento de éste que desencadena las etapas siguientes. Parece que el proceso de reconocimiento está

mediado por interacciones entre las lectinas y los carbohidratos presentes en las paredes tanto de *Trichoderma* como de los hongos a los que se enfrenta (Neethling y Nevalainen, 1996).

Una prueba de ello es que cuando se incuba *R. solani* con fucosa o galactosa, azúcares que bloquean determinadas glicoproteínas, el efecto de *T. harzianum* resulta inhibido (Elad *et al.*, 1983). Además se han identificado otras lectinas de *Sclerotium rolfsii* capaces de unirse sólo a las cepas de *Trichoderma* que parasitan a este hongo (Barak *et al.*, 1985; Chet, 1990). Una de estas lectinas ha sido purificada y unida covalentemente a una fibra de nylon, provocando el enrollamiento de *Trichoderma* a su alrededor (Inbar y Chet, 1992, 1994).

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

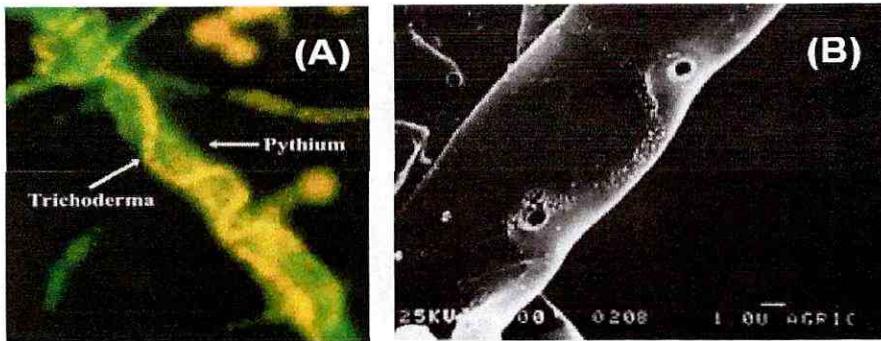


Figura. 1. Detalles microscópicos del micoparasitismo de *Trichoderma harzianum* sobre *Pythium* (A) y *Rhizoctonia* (B)

La relevancia que cada uno de estos cinco mecanismos (inducción de sistemas de defensa de la planta, inhibición de enzimas del patógeno, competencia, antibiosis y micoparasitismo) tiene en el control biológico no está bien establecida, aunque al parecer claro que depende de varios parámetros, incluyendo la cepa de *Trichoderma* y del hongo al que parasite, así como de las condiciones ambientales, la disponibilidad de nutrimentos, el pH del suelo, la temperatura, las concentraciones iónicas, entre otras. Lo más probable que varios de ellos actúen de forma secuencial, combinada o sinérgica, como sucede en el control de *Botrytis* en uva por *Trichoderma*, en el que están implicados tanto la competencia por los nutrimentos como el micoparasitismo de los esclerocios (Hjeljord y Tronsmo, 1998). Además los antibióticos y las enzimas hidrolíticas no sólo se producen juntos sino que actúan de manera sinérgica en el micoparasitismo. Al parecer la degradación de la pared celular facilita el acceso de los antibióticos al interior de la célula (Di Pietro *et al.*, 1993; Schirmbock *et al.*, 1994; Lorito *et al.*, 1996).

2.6 *Trichoderma* spp contra *Rhizoctonia solani*

Cuando se utilizó *T. viride*, *T. koningii* y *T. harzianum*, sobre *Rhizoctonia solani*, *Alternaria niger* y *Phytophthora rhododendry*, el antagonismo consistió en la inhibición del crecimiento micelial por acción de gases de las especies de *Trichoderma* (Dennis y Webster 1971; Huctchinson y Cowan 1982).

Hadar *et al.* (1979), aislaron del suelo a *T. harzianum* y elaboraron un biopreparado con alimento basado en salvado de trigo para controlar a *R. solani*. Con este aislamiento se controló efectivamente el complejo de enfermedades de la semilla y la plántula en frijol, tomate y berenjena.

La disminución de la severidad de la enfermedad e incremento del rendimiento y la disminución de la población del patógeno *R. solani* resultó de la incorporación de salvado de trigo colonizado por *T. harzianum* en viveros de fresa y parcelas de campo (Elad *et al.*, 1980).

La incorporación de salvado de trigo colonizado por *T. harzianum* en viveros de fresa y parcelas en campo, resultó en la disminución de la población de *R. solani*, de la severidad de la enfermedad y en el incremento del rendimiento (Elad y Hadar *et al.*, 1981).

Harman *et al.* (1981), reportaron que *T. hamatum*, aplicado como tratamiento a la semilla, controla la pudrición de la raíz en chícharo y rábano infestadas con *Pythium* sp y *R. solani*.

Elad y Hadar (1981), al aplicar *T. harzianum* en salvado de trigo colonizado al suelo para el control de *R. solani* en clavel, obtuvieron una correlación lineal entre

la cantidad de *T. harzianum* aplicado al suelo y el grado de control de la enfermedad, donde la incidencia fue reducida a un 70 %.

Chet *et al.* (1981), obtuvieron interacción hifal de *T. hamatum* con *R. solani* en condiciones "in vitro". Harman *et al.* (1981), realizando tratamientos sobre semillas y plántulas de chícharo con *T. hamatum*, lo cual las protegió del ataque de *R. solani*. Bell *et al.* (1982), demostraron que cepas de *Trichoderma* spp. fueron altamente efectivas contra *R. solani*.

Elad y Hadar. (1981), controlaron efectivamente a *R. solani* cuando se incorporó salvado de trigo colonizado con *T. harzianum* al medio de crecimiento de las plantas en tomate, cacahuate, papa, frijol y zanahoria así como en flor de lirio.

Strashnov *et al.* (1985), encontraron un nuevo aislamiento de *T. harzianum* el cual fue efectivo para proteger plántulas contra *R. solani*, mientras Sandoval *et al.* (1995), comprobaron la efectividad de *T. harzianum* contra los patógenos *P. aphanidermatum*, y *R. solani*, causantes del complejo de enfermedades de la semilla y la plántula de tomate en cultivo hidropónico.

Tratamientos a la semilla y al suelo resultaron altamente satisfactorios para el control de *R. solani* y *P. parasítica* en tomate y *P. capsici* en pimiento. El vigor de las plantas siempre fue superior en los tratamientos bajo la protección del biopreparado (Sandoval *et al.*, 1995).

2.7 El fitopatógeno: *Rhizoctonia solani* Kühn

2.7.1 Enfermedades y rango de hospedantes

Las enfermedades causadas por *R. solani* ocurren en todo el mundo y producen pérdidas en la mayoría de los cultivos anuales, incluyendo arvenses, hortalizas y plantas florales, así mismo en plantas perennes tales como los pastos para césped, plantas de ornato perennes, arbustos y árboles. Los síntomas de las enfermedades por *Rhizoctonia* pueden variar en los diferentes cultivos e incluso en una misma planta hospedera, dependiendo de la etapa de crecimiento por la que pasa la planta en el momento en que es infectada y de las condiciones ambientales predominantes. Los síntomas más comunes de las enfermedades causadas por *Rhizoctonia*, principalmente por *R. solani*, son el ahogamiento de plántulas y pudrición de raíz, así como pudrición y cáncer del tallo de plantas adultas y en proceso de crecimiento. Sin embargo en algunos hospedantes, *Rhizoctonia* produce también la pudrición de los órganos vegetales almacenados (tubérculos y raíces), así como los tizones o manchas del follaje, especialmente cuando el follaje se encuentra cerca del suelo (Agrios, 1998).

En el complejo de enfermedades de semilla y plántula. El ahogamiento es el síntoma más común producido por *R. solani*; en este caso las plantas jóvenes pueden ser afectadas antes o poco después de que han emergido del suelo. El hongo ataca el tallo haciéndolo acuoso, blando, generalmente el síntoma inicia, en la parte basal de los tallos al nivel del suelo de modo que la plántula no se puede sostener, se desploma y muere. Las plantas maduras también pueden ser atacadas por el hongo; aquí el patógeno se limita a invadir los tejidos corticales externos produciendo lesiones de color café rojizo pudiendo producir subdesarrollo o la muerte (Agrios, 1998).

La cancrrosis del tallo de las plántulas destruye las plantas de algodónero, con manchas que tienen el aspecto de cánceres profundos de color café rojizo, rodeando la porción de tallo que se encuentra cerca de la superficie del suelo (Agris, 1998).

En los pastos finos para césped y de los prados. *Rhizoctonia* produce la enfermedad conocida como mancha café. En los tallos y raíces suculentos y carnosos, así como tubérculos, bulbos y cormos y otros órganos, *Rhizoctonia* causa pudriciones de color café superficiales o profundas, ocasionando achaparramiento y amarillamiento o la muerte del follaje (Agris, 1998).

En los tubérculos de papa, *Rhizoctonia* causa la "costra negra", son pequeños esclerocios negros y endurecidos sobre la superficie, o bien un "arrosetamiento" o "sarna en roseta" (Agris, 1998).

Finalmente *Rhizoctonia* produce pudriciones en frutos y vainas y otros órganos que yacen en el suelo como en los cultivos de pepino, lechuga, frijol, berenjena y tomate, entre otros. (Agris, 1998).

2.7.2 Relación hospedante-patógeno.

R. solani puede penetrar al hospedante mecánicamente o bajo la acción de enzimas o toxinas, dependiendo la etapa de penetración. (Chet y Baker, 1980) reportaron esta infección, que puede ser sobre el hipocotilo y la radícula donde el hongo presenta clavijas de infección, penetrando la epidermis del tejido del hospedante. En algunos casos las hifas se aplanan y funcionan como apresorios antes de la penetración. La infección por medio de clavijas aparentemente penetra las células mecánicamente como es descrito por varios estudios. Sin embargo las

células parenquimatosas secretan materiales mucilaginosos, permitiendo así que el hongo se adhiera a los tejidos del hospedante (Chet y Baker, 1980).

El papel de las enzimas en la penetración es importante, ya que *R. solani* produce enzimas cutinolíticas, que pueden degradar la cutícula. Pectinasas y celulasas pueden producir fusión durante la penetración, presumiblemente después de que haya penetrado y destruido la cutícula (Krupa y Dommergues, 1981).

No se ha podido identificar las enzimas que actúan durante la penetración. Pero posiblemente las protopectinasas y celulasas son importantes durante la degradación y muerte de los tejidos del hospedante.

Siguiendo la penetración inicial, el mecanismo patogénico de *R. solani* es variado, pero generalmente después de una invasión intercelular sigue una invasión intracelular (Krupa y Dommergues, 1981).

2.8 Métodos de control

2.8.1 Control físico y químico

Como medio de control físico está el acolchamiento, donde se colocan cubiertas de polietileno transparentes o plástico fotodegradable sobre el suelo húmedo durante los días cálidos de verano. La temperatura que prevalece en los primeros 5 cm en la parte superficial del suelo puede elevarse hasta 52°C, comparada con un máximo de 30°C en suelos que carecen de acolchado. Esto se mantiene cuando el calentamiento es generado por el sol conocido con el nombre de "solarización", el cual inactiva a muchos patógenos que habitan en el suelo. Se ha

reportado que una solarización de 20 días, causa una mortalidad de esclerocios hasta de un 80% en una profundidad de 5 a 20 cm (Mont., 1993)

El control de las enfermedades por *Rhizoctonia*, cuando el hongo va en la semilla, depende del uso de semillas libres de la enfermedad o que hayan sido tratadas con agua caliente y compuestos químicos. El humedecimiento del suelo con PCBN (Pentacloronitrobenceno) ayuda a disminuir el ahogamiento de los almácigos e invernaderos. Entre los compuestos químicos que inhiben el crecimiento micelial se tiene al Naftaleno, Derivados del Cloro y Bromo. Metam sódico: N-metil ditiocarbamato de sódio, Captafol: Cis-N-((1,1,2,2-tetracloroetil) tio)-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida y benomilo: Cis-N-((1,1,2,2-tetracloroetil) tio)-4-ciclohexeno-1,2-dicarboximida (Lewis y Papavizas, 1987). Akem, y Dashiell, (1991) reportan que el PCNB en cantidades de 6.8 -13 Kg/ha. es efectivo.

2.9 Ubicación taxonómica de *Rhizoctonia*

Fase asexual

Dominio: Eukarya

Reino: Hongos

División: Eumycota

Clase: Hypomycetes

Genero: *Rhizoctonia*

Especie: *solani*.

Fase sexual

Dominio: Eukaria

Reino: Hongos

División: Eumycota

Clase: Basidiomycotina

Genero: *Rhizoctonia*

Especie: *solani*

(Agrios., 1998)

2.9.1 Ciclo de vida

R. solani forma un micelio estéril que es incoloro cuando pasa por su estado juvenil pero que se torna amarillo o de color café claro conforme madura. El micelio consta de células largas y produce ramificaciones que crecen casi en ángulo recto con respecto a la hifa principal. Las características de la ramificación comúnmente son los únicos medios disponibles para identificar al hongo como *Rhizoctonia*. En ciertas condiciones, el hongo produce ramilletes de células cortas, anchas de forma

oval o triangular y que se asemeja a esclerocios, las cuales funcionan como clamidosporas. Dichos ramilletes pueden desarrollar en pequeños esclerocios de color café a negro y dispuestos en forma laxa, los cuales son comunes en algunos hospedantes (Agrios, 1998).

R. solani rara vez produce un estado perfecto de basidiomiceto conocido como *Thanatephorus cucumeris*. Esta fase perfecta se forma cuando hay suficiente humedad, y tiene el aspecto de un algodoncillo fino que se desarrolla sobre el suelo, hojas y tallos infectados. Los basidios tienen forma de barril, se forman sobre una capa membranosa de micelio y tiene cuatro esterigmas, cada una de las cuales produce una basidiospora ovoide (Agrios, 1998).

Existe una anastomosis (fusión de hifas que entran en contacto), formándose después una hifa heterocariótica (Agrios, 1998).

El patógeno hiberna casi siempre en forma de micelio o esclerocios en el suelo, en plantas perennes infectadas o en órganos de propagación tales como tubérculos de papa. El hongo también ataca a otros hospedantes, tales como frijol, berenjena, pimiento y tomate, puede ser localizado en la semilla. Se encuentra en la mayoría de los suelos y una vez que se ha establecido en un campo, permanece por tiempo indefinido.

El hongo se disemina con la lluvia, o por medio de inundación, así como los órganos de propagación infectados o contaminados. Con respecto a este hongo, la temperatura óptima para que se produzca la infección se encuentra cerca de 15°C o 18°C y en algunos casos a más de 35°C. La enfermedad es más severa en suelos

que son moderadamente húmedos que en suelos que son secos o se encuentran inundados. La infección de las plantas jóvenes es más severa cuando el crecimiento de la planta es lento, debido a las condiciones ambientales adversas para su desarrollo (Agris, 1998).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Localización del área de estudio

El trabajo de investigación se realizó en dos etapas: Una en campo y otra en los Laboratorios de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicada en Torreón Coahuila y el laboratorio de Fitopatología del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) de Matamoros, Coahuila.

3.2 Aislamiento de especies de *Trichoderma*

3.2.1 Sitios de muestreo

Los aislamientos de *Trichoderma* spp fueron obtenidos de suelos colectados durante el mes de junio del 2005 a marzo de 2006 en huertos de nogal localizados en diferentes áreas de la Comarca Lagunera, en los municipios de Torreón, San Pedro de las Colonias y Matamoros, Coah. La ubicación de donde se extrajeron las muestras se muestran en el Cuadro 3.

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

Huerto	Lugar	Localidad
1	Hormiguero	Torreón Coahuila
2	La partida	Torreón Coahuila
3	La encantada	Torreón Coahuila
4	La barranca	Torreón Coahuila
5	Tierra Blanca	Torreón Coahuila
7	El Perú	Torreón Coahuila
8	Huerto Narro	Torreón Coahuila
9	Recreativo natividad	Matamoros Coahuila
10	Huerto Inifap	Matamoros Coahuila
11	San Carlos	San Pedro Coahuila
12	San Isidro	San Pedro Coahuila

En cada sitio de muestreo se colectaron al azar de 5 a 10 muestras de suelo de aproximadamente 1kg. Cada muestra fue tomada de los primeros 30 cm de profundidad eliminando la materia orgánica superficial y se transportaron en bolsas

de plástico al Laboratorio de Parasitología de la UAAAN -UL. Las muestras se conservaron a temperatura ambiente de 25 a 30 °C hasta su utilización.

3.2.2 Aislamientos de *Trichoderma* spp

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

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

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

Las colonias previamente reconocidas como *Trichoderma* se transfirieron a las cajas petri para purificarlas; Las colonias puras se pasaron a los tubos de ensayo y cuando el hongo colonizó toda la superficie del medio se mantuvieron en refrigeración a temperatura de 4 °C para su conservación y uso posterior.

3.2.4 Selección de especies de *Trichoderma*

En el experimento tanto *in vitro* como en maceta, los aislamientos fueron seleccionados considerando los que obtuvieron un mayor crecimiento en 7 días y que al mismo tiempo mostraran características diferentes de crecimiento.

3.3 Prueba *in vitro*

Esta prueba consistió en el desarrollo simultáneo de los microorganismos antagónico y patógeno en el medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) que permitiera su crecimiento en cajas petri, ambos bajo las mismas condiciones (Bell *et al.*, 1982) (Fig. 2).

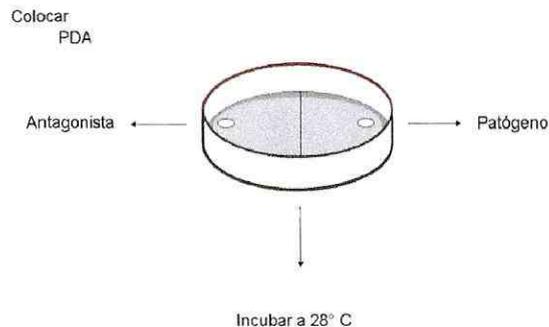


Figura 2. Enfrentamiento dual de *Trichoderma* contra *R. solani*

Para la evaluación del efecto antagónico se utilizó como fitopatógeno un aislamiento de *R. solani*, obtenido de plántulas de alfalfa con síntomas de pudrición de raíces y corona. Como potenciales biocontroladores, fueron evaluados trece aislamientos nativos de *Trichoderma* spp, extraídos de huertos de nogal y un testigo, con un total de 14 tratamientos; con cuatro repeticiones cada una representada por una caja petri.

De la periferia de las colonias que crecían en medio de cultivo se cortaron discos con sacabocados de 0.5 cm de diámetro los cuales fueron transferidos a cajas petri con el mismo medio, en posiciones opuestas y equidistantes, de tal modo que quedaran enfrentados el fitopatógeno y el antagonista en cada tratamiento. El tratamiento testigo consistió en el crecimiento del aislamiento de *R. solani* sin antagonista. Las cajas se mantuvieron en incubadora a una temperatura de 28 °C. Para determinar el antagonismo se midió el diámetro de las colonias a las 96 horas de crecimiento después de la siembra.

3.4 Prueba en maceta

3.4.1 Preparación del inóculo de *Rhizoctonia solani*

R. solani se colocó en cajas petri que contenían PDA, las cuales se incubaron por siete días a una temperatura de 27 °C. Posteriormente se mezclaron 96 g de arena lavada y cribada en un tamiz de 2 mm, con 4 g de harina de maíz y 20 ml de agua destilada. La mezcla se colocó en matraces de 250 ml, se esterilizó por 60 minutos y se dejó enfriar para sembrar discos de 0.5 cm de diámetro de medio con *R. solani*. Los matraces se incubaron por 18 días a 27 °C según Sneh *et al.*, (1991).

3.4.2 Preparación del inóculo de *Trichoderma* spp.

De los aislamientos de *Trichoderma* en conservación fue extraída una muestra pequeña de micelio de cada tubo para sembrarlo en cajas petri con PDA, se incubaron por una semana a una temperatura de 27 °C. Posteriormente se mezclaron 10 g de arena, con 10 g de paja de trigo y 25 ml de agua destilada según Lewis y Papavizas, (1984a). La mezcla se colocó en matraces de 250 ml, se esterilizó por 60 minutos y se dejó enfriar para sembrar discos de 0.5 cm de diámetro de medio con *Trichoderma* spp. Luego los matraces se incubaron por 15 días a 27 °C.

3.4.3 Preparación del material vegetal

Como planta experimental se utilizó frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) para lo cual a la semilla se le realizó una prueba de germinación, que consistió en colocar 4 bandejas con 100 semillas cada una e introducidas a la germinadora a una temperatura de 28 °C por 8 días. Se tomaron datos de las semillas germinadas a los 4 y 8 días expresando el resultado como porcentaje de germinación.

3.4.4 Aplicación de los microorganismos

La incorporación de *R. solani* y *Trichoderma* se realizó antes de sembrar, utilizando 0.5 % (peso/peso) de inóculo de cada uno de los microorganismos, el cual se incorporó uniformemente haciendo una mezcla en la arena.

3.4.5 Siembra en macetas.

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

3.4.6 Tratamientos

Cuadro 4. Tratamientos de *Trichoderma* spp contra *Rhizoctonia solani*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

No. de Tratamiento	Tratamientos considerados
1	T0 (Testigo: <i>R. solani</i> sin antagonista)
2	T1 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)
3	T2 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)
4	T3 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)
5	T4 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)
6	T5 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)
7	T6 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)
8	T7 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)
9	T8 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)
10	T9 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)
11	T10 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)
12	T11 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)
13	T12 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)
14	T13 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)

3.4.7 Diseño del experimento

El experimento se estableció utilizando un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones por tratamiento.

3.4.8 Evaluaciones

Se realizaron observaciones a los 8, 14 y 30 días después de la siembra registrando el porcentaje de germinación, semillas dañadas, plantas enfermas y plantas muertas. Al concluir los 30 días, las plantas que sobrevivieron fueron se extrajeron de las macetas y se evaluaron los siguientes parámetros: peso total de la planta, longitud de la de la raíz y longitud del tallo.

3.4.9 Ubicación del experimento

El experimento se instaló al aire libre afuera del Laboratorio de Fitopatología del Inifap, el 17 de julio del 2006, el cual se repitió dos veces, con una duración de 8 semanas, en dicho período la temperatura promedio fue de 25 °C, con una mínima y máxima de 20 a 30 °C respectivamente.

3.4.10 Identificación de las especies de *Trichoderma*

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

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Aislamientos de especies nativas de *Trichoderma*

Se colectaron 105 muestras de suelo de huertos de nogal en la Comarca Lagunera de Coahuila, se aislaron 50 cepas de *Trichoderma* spp utilizando el método de siembra directa de suelo sobre el medio de cultivo. (Cuadro 5).

En los suelos provenientes de los huertos 1y 5 de las localidades de Torreón, Coahuila, fue donde se encontró un mayor número de aislamientos. Estas localidades se caracterizan por presentar un buen manejo en el cultivo del nogal.

Cuadro 5. Numero de aislados de *Trichoderma* spp obtenidos por sitio de muestreo. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

Huerto	Localidad	No. de aislados	Código asignado a las cepas aisladas
1	Hormiguero	22	H1, H2, H3 , H4, H5 , H6 , H7 , H8, H9, H10 , H11, H12, H13, H14 , H15, H16, H17, H18, H19 , H20, H21, H22
2	La partida	2	P1, P2
3	La encantada	1	E1
4	La barranca	1	B1
5	Tierra Blanca	11	Tb1, Tb2, Tb3 , Tb4, Tb5, Tb6, Tb7 , Tb8, Tb9, Tb10, Tb11
6	El Perú	1	Pe1
7	Huerto Narro	8	Hn1 , Hn2, Hn3, Hn4, Hn5, Hn6, Hn7, Hn8
8	Recreativo natividad	1	Rn1
9	Huerto Inifap	2	Hi1 , Hi2
10	San Carlos	0	
11	San Isidro	1	Si1

4.2 Selección de los aislamientos de *Trichoderma*

De los 50 aislamientos obtenidos, se seleccionaron 13 para su evaluación como antagonistas; los aislamientos seleccionados fueron los que mostraron un mayor crecimiento a los 7 días y que mostraron características diferentes de crecimiento (Cuadro 6).

Cuadro 6. Aislamientos de *Trichoderma* seleccionados para su evaluación. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

No. de tratamiento (aislamiento)	Código asignado a las cepas aisladas
T1	Hn1
T2	H3
T3	H5
T4	H6
T5	H7
T6	H10
T7	H19
T8	H14
T9	Tb3
T10	Tb7
T11	Si1
T12	Hi1
T13	P2

Cook y Baker (1983) afirman que la velocidad de crecimiento presentado por las especies de *Trichoderma* son motivos de utilización de este microorganismo como antagonista, para el control de fitopatógenos.

4. 3 Prueba *in vitro*

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

La mayor actividad antagónica de las diferentes cepas de *Trichoderma* sobre *R. solani* se obtuvo con los tratamientos T3, T7 y T9 que corresponden a *T. harzianum*. Los tratamientos T5, T12, T1 que corresponden a *T. harzianum* y T10, T11 que corresponden a *T. koningii* resultaron ser los menos antagónicos.

Todos los tratamientos superaron al testigo (Cuadro 7). A pesar de que los tratamientos T5, T12, T1 que corresponden a *T. harzianum* y T10, T11 que corresponden a *T. koningii* mostraron diferencia con respecto al testigo fueron los de menor efectividad en el control de *R. solani*

CUADRO 7. Diámetro de la colonia de *R. solani* a las 96 horas en el enfrentamiento con diferentes cepas de *Trichoderma*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

Tratamientos	Diametro cm
T0 (Testigo: <i>R. solani</i> sin antagonista)	9.00 A
T5 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	4.87 B
T10 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	4.82 B
T12 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	4.80 B
T1 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	4.80 B
T11 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	4.70 BC
T2 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	4.50 C
T13 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)	3.50 D
T4 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	3.50 D
T6 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	3.20 E
T8 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	3.10 E
T7 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	2.75 F
T3 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	2.72 F
T9 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	2.62 F

* Medias con la misma letra son estadísticamente iguales en DMS ($p \leq 0.05$).

Resultados similares informan Dennis y Webster (1971), al encontrar actividad antagónica de *T. harzianum* contra diferentes hongos incluidos *R. solani*, mientras que Sandoval *et al.*, (1995), comprobaron “*in vitro*” en cultivo dual que *T. harzianum* resultó buen antagonista de diferentes aislamientos de *R. solani*.

4.4 Prueba en macetas

Se obtuvo un 100% de germinación en las pruebas realizadas a la semilla de frijol utilizada

Los trece tratamientos estudiados mostraron un ataque contra *R. solani*. Todos los tratamientos con *Trichoderma* spp diferían del testigo al mostrar un menor número de semillas podridas y un mayor número de plantas vivas (Cuadro 8).

CUADRO 8. Efecto de *Trichoderma* sobre la emergencia y sobrevivencia de plantas de frijol sembradas en medio infestado con *R. solani*. UAAAN-UL. Torreón Coah. 2006

Tratamientos	No. de semillas		No. de Plantas	
	Podrida	Emergida	Muertas	Vivas
T0 (Testigo: <i>R. solani</i> sin antagonista)	7	13	10	3
T1 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	0	20	5	14
T2 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	1	19	9	10
T3 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	2	18	3	15
T4 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	1	19	0	19
T5 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	1	19	3	16
T6 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	4	16	2	14
T7 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	1	19	3	16
T8 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	1	19	5	14
T9 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	0	20	5	15
T10 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	1	19	4	15
T11 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	1	19	5	14
T12 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	0	20	6	14
T13 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)	3	17	4	13

4.4.1 Plantas vivas

De los 13 aislamientos de *Trichoderma* spp., estudiados resultaron ser mejores estadísticamente los tratamientos T4, T5, T7, T3, T1, T9, T6, T8, T12 correspondientes a *T. harzianum* y T10, T11 correspondientes a *T. koningii* (Apéndice A2) al mostrar un mayor número de plantas vivas, sin embargo el T4 es el mejor (Cuadro 9)

CUADRO 9. Efecto de *Trichoderma* sobre las plantas sobrevivientes de frijol sembradas en medio infestado con *R. solani*. UAAAN-UL. Torreón Coah. 2006

Tratamientos	Promedio
T4 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	4.75 A
T5 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	4.00 AB
T7 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	4.00 AB
T3 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	3.75 AB
T1 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	3.75 AB
T9 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	3.75 AB
T10 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	3.75 AB
T6 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	3.50 ABC
T8 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	3.50 ABC
T11 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	3.50 ABC
T12 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	3.50 ABC
T13 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)	3.25 BC
T2 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	2.25 C
T0 (Testigo: <i>R. solani</i> sin antagonista)	0.75 D

* Medias con la misma letra son estadísticamente iguales en DMS ($p \leq 0.05$)

Todas las cepas superaron al testigo (Cuadro 9). A pesar de que el tratamiento T13 correspondiente a *T. viridae* mostró diferencia con respecto al testigo, fue el que presentó un menor número de plantas vivas. Los resultados obtenidos se asemejan a los obtenidos en estudios realizados por Hadar *et al.*, (1979), que aislaron del suelo a *T. harzianum*; con este aislamiento se controló efectivamente el complejo de enfermedades de la semilla y plántula de frijol, tomate y berenjena.

También Elad y Hadar (1981) controlaron efectivamente a *R. solani* cuando se incorporó salvado de trigo colonizado con *T. harzianum* al medio de crecimiento de las plantas en tomate, cacahuate, papa, frijol y zanahoria así como en flor de lirio.

4.4.2 Longitud de tallo y raíz a los 30 días después de la siembra.

A los treinta días después de la siembra los tratamientos fueron estadísticamente diferentes en cuanto a longitud de tallo (Cuadro A3). Los mejores resultados se obtuvieron con los tratamientos T11, T10 correspondientes a *T. koningii* y T7, T12, T5, T9, T3 correspondientes a *T. harzianum.*, mientras que el tratamiento T13 correspondiente a *T. viridae* presentó la longitud más corta, aunque es diferente al testigo. Todos los tratamientos mostraron mayor longitud que el testigo (Cuadro 10). A pesar de que el tratamiento T6 (*T. harzianum*) mostró diferencia con respecto al testigo fue el que obtuvo una menor longitud de tallo.

Cuadro 10. Longitud de tallo de plántulas de frijol a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006

Tratamientos	Longitud Tallo
T11 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	29.77 A
T7 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	27.85 AB
T12 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	27.59 AB
T5 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	27.15 ABC
T10 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	26.97 ABC
T9 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	26.65 ABC
T3 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	25.74 ABCD
T4 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	24.16 BCDE
T1 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	22.12 CDE
T13 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)	20.70 DEF
T8 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	20.05 EF
T2 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	19.95 EF
T6 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	16.04 F
T0 (Testigo: <i>R. solani</i> sin antagonista)	9.05 G

* Medias con la misma letra son estadísticamente iguales en DMS ($p \leq 0.05$)

También hubo diferencia estadística entre tratamientos en cuanto a longitud de raíz (Cuadro A.4). Los tratamientos con mayor longitud de raíz (T12, T11, T3, T1, T10, T2, T4, T9, T3, T7) incluyen a *T. koningii*, *T. harzianum* y *T. viridae* (Cuadro 11), mientras que el T6 correspondiente a *T. harzianum* mostró una menor longitud de raíz y fue igual que el testigo (Cuadro 11).

CUADRO 11. Longitud de raíz de plántulas de frijol a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006

Tratamientos	Promedio Raíz
T12 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	14.49 A
T11 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	14.22 AB
T3 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	14.15 AB
T1 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	12.71 ABC
T10 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	12.47 ABC
T2 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	12.36 ABC
T4 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	12.03 ABC
T9 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	11.94 ABC
T13 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)	11.82 ABC
T7 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	11.59 ABC
T8 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	11.36 BC
T5 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	10.48 CD
T6 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	10.41 CD
T0 (Testigo: <i>R. solani</i> sin antagonista)	7.65 D

* Medias con la misma letra son estadísticamente iguales en DMS ($p \leq 0.05$)

Los aislamientos de *T. harzianum* y *T. koningii* y en menor proporción *T. viridae*, además de atacar el fitopatógeno, mostraron la capacidad para promover el crecimiento de la plantas y de la raíz lo cual concuerda con Villegas (2005), quien menciona que *Trichoderma* spp además de ser un antagonista de fitopatógenos del

suelo favorece el crecimiento de la planta, le ofrece un mayor vigor germinativo a la semilla, un mejor desarrollo de la raíz y una mejor expresión fenotípica.

4.4.3 Peso total de las plantas.

Según el análisis estadístico existe diferencia altamente significativa para el peso fresco de plántulas entre tratamientos (Apéndice A.5).

Los tratamientos que tuvieron un mayor peso fresco fueron T9, T12, T1 correspondientes a *T. harzianum* y T10 correspondiente *T. koningii* mientras que el T6 fue el que obtuvo un menor peso siendo igual al testigo (Cuadro 12).

CUADRO 12. Evaluación del peso fresco total de las plántulas que sobrevivieron en cada tratamiento a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL Torreón, Coah., 2006.

Tratamientos	Promedio Peso total	
T9 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	3.90	A
T12 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	3.78	AB
T10 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	3.43	AB
T1 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	3.16	ABC
T7 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	3.03	BCD
T3 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	3.01	BCD
T11 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	2.97	BCD
T5 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	2.95	BCD
T13 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)	2.52	CDE
T8 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	2.42	CDE
T4 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	2.34	CDE
T2 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	2.25	DE
T6 (<i>R. solani</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	1.99	EF
T0 (Testigo: <i>R. solani</i> sin antagonista)	1.15	F

* Medias con la misma letra son estadísticamente iguales en DMS ($p \leq 0.05$)

Algunas especies de *Trichoderma* han sido reportadas como estimuladoras de crecimiento en especies tales como: clavel, crisantemo, pepino, berenjena, pimienta, rábano, tabaco, tomate, lechuga, zanahoria, papa, algodón, frijol y pastos ornamentales (Inbar *et al.*, 1994).

4.5 Identificación de las especies de *Trichoderma*

Finalmente, fueron identificadas las 13 cepas de *Trichoderma* utilizadas en la presente investigación de acuerdo a sus características morfológicas donde se encontraron las siguientes especies de *Trichoderma* (Cuadro 13).

Cuadro 13. Identificación a nivel de especie de las 13 cepas de *Trichoderma* seleccionadas para éste estudio. UAAAN-UL Torreón, Coah., 2007.

Espécie	Cepa	Características
<i>T. harzianum</i>	Hn1, H3, H5, H6, H7, H10, H19, H14, Tb3, Hi1.	Colonias color verde, crecimiento rápido, arriba de 9 cm de diámetro en cinco días, a 20° C em agar-avena. Hifas hialinas, conidióforos con ramificación compacta. Conidias globosas a subglobosas, pared lisa de color verde oliva con un radio menor de 1.25, 2.8 a 3.2 X 2.5 a 2.8 µm.
<i>T. koningii</i>	Tb7, Si1	Colonias de color amarillo a verde oscuro, crecimiento de tres a cinco cms. en cinco días, a 20° C en agar-avena. Conidióforos con ramificación abierta. Conidios de pared lisa, elipsoidales u oblongas de 3.0 a 4.8 X 1.9 a 2.8 µm con base truncada filidas regularmente dispuestas en numero de tres o mas.
<i>T. viride</i>	P2	Colonias de color amarillo a verde oscuro, crecimiento de 4.5 a 7.5 cm de diámetro en cinco días, a 20° C en agar-avena. Conidióforos típicamente piramidales ramificados, ramificaciones cortas divergentes, filidas ordenadas en grupos de dos a cuatro delgadas y regularmente dobladas. Conidias casi globosas de pared rugosa de 3.6 a 4.5 µm de diámetro.

De acuerdo al cuadro anterior se puede observar que la especie que se presento con mayor frecuencia en cepas aisladas de la Comarca Lagunera es de *T. harzianum*.

5. CONCLUSIONES

De los aislamientos de *Trichoderma* obtenidos en suelos de la Comarca Lagunera se identificaron tres especies las cuales fueron *T. harzianum*, *T. koningii* y *T. viridae*.

Existe actividad antagónica de las especies identificadas contra *R. solani*, sobre saliendo tanto *in vitro* como en campo la especie *T. harzianum*. Sin embargo se puede decir que todas las cepas mostraron una actividad antagónica diferente comparada con el testigo.

6. RESUMEN

Trichoderma spp es un hongo habitante natural del suelo que puede vivir como saprófito o como parásito sobre otros hongos. El presente trabajo consistió identificar y evaluar la actividad antifúngica de cepas nativas de *Trichoderma* spp de la Comarca Lagunera frente a una cepa de *Rhizoctonia solani*, un fitopatógeno del suelo, causante de muchas enfermedades en plantas de interés económico. Se empleo para ello la técnica de enfrentamientos duales en laboratorio para demostrar el grado de antagonismo de 13 aislamientos de *Trichoderma* frente al fitopatógeno. Con la finalidad de que los resultados en laboratorio puedan reproducirse a nivel de campo, se realizaron evaluaciones en macetas con arena infestadas con *R. solani*, al aire libre con los 13 aislamientos y un testigo, con cuatro repeticiones, donde se utilizaron plántulas de frijol para evaluar la actividad antagónica de *Trichoderma*. Se concluyó que la actividad antagónica fue mayor para tres cepas de *Trichoderma*, denominadas como T3, T7 y T9 (*T. harzianum*) en pruebas *in vitro*, y que llevados a pruebas de campo están dentro de los mejores antagonistas, así mismo estadísticamente fueron iguales a la cepa T4 (*T. harzianum*) aun cuando los resultados de campo fueron superiores para este último. Sin embargo, se puede decir que todas las cepas mostraron actividades inhibitorias diferentes lo cual no sucedió en el tratamiento testigo (*R. solani* sin antagonista). Los aislamientos identificados fueron *T. harzianum*, *T. koningii* y *T. viridae* obteniendo un mayor número de *T. harzianum*.

6. LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1988. Fitopatología. Editorial Limusa. México. 755 pp.
- Ahmad, J.S. and R. Baker. 1988. Growth of rhizosphere-competent mutants of *Trichoderma harzianum* on carbon substrates. Can. J. Microbiol. 34: 807-814.
- Akem, C. and K. Dashiell. 1991. First report of Southern blight caused by *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani* on soybeans in Nigeria Plant Disease. 75:537.
- Alippi H. and C. Monaco 1990. Antagonismo de hongos fitopatógenos y saprobios en suelos hortícolas. Revista Argentina de Microbiología 22: 90-93
- Altomare, C., W.A. Norvell, T. Bjorkman, and G.E. Harman. 1999. Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. Appl. Environ. Microbiol. 65: 2926-2933.
- Barak, R., Y. Elad, D. Mirelman, and I. Chet. 1985. Lectins: a possible basis for a specific recognition in the interaction of *Trichoderma* and *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology 75: 458-462.
- Barnett, H.L. and F.L. Binder. 1973. The fungal host-parasite relationship. Annu. Rev. Phytopathol. 11: 273-292.
- Bell, D.K., H.D. Wells, and C.R. Markham. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology 72:379-382.
- Benhamou, N. and I. Chet. 1993. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. Phytopathology 83: 1062-1071.
- Benítez, T., J. Delgado-Jarana, A.M. Rincón, M. Rey, and C., L.M. 1998 Biofungicides: *Trichoderma* as a biocontrol agent against phytopathogenic fungi. En Recent Research Developments in Microbiology. Vol. 2. Pandalai, 8.G. (ed). Trivandrum: Research Signpost, pp. 129-150.
- Björkman, T., L.M. Blanchard, and G.E. Harman. 1998. Growth enhancement of shrunken-2 sweet corn by *Trichoderma harzianum* 1295-22: effect of environmental stress. J Am Soc Hort 123: 35-40.
- Buchert, J., T. Oksanen, J. Pere, M. Siika-aho, A. Suurnakki, and L. Viikari. 1998. Application of *Trichoderma reesei* enzymes in the pulp and paper industry. En *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 2. Harman, G.E. and Kubicek, C.P. (eds). London: Taylor & Francis.
- Butt, T. M., C.W. Jackson, and N. Magan. 2001. Introduction- Fungal Biological Control Agents: Progress, Problems and Potential. In Fungi as Biocontrol Agents. Progress, problems and potential. Butt, T.M., Jackson, C. W and Magan, N. (eds). Wallingford, UK.: CABI Publishing. pp. 1-8.

- Chang, Y.C. and R. Baker. 1986. increased growth in the presence of the biological control agent *Trichoderma harzianum*. Plant Dis. 76: 60-65.
- Cardona, R., H. Rodríguez, y H. Nass. 2003. Distribución vertical de esclerocios y control del hongo *Macrophomina phaseolina* con el hongo antagonista *Trichoderma spp.* Fonaiap Portuguesa, Departamento de Fitopatología., Apdo 102, Acarigua-Araure, Edo. Portuguesa.
- Chet, I and R. Baker 1980. Induction of supressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopatology 70: 994-998.
- Chet, I.,G.E. Harman, and R. Baker. 1981. *Trichoderma hamatum*: its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium spp.* Microb. Ecol. 7: 29-38.
- Chet, I. 1990. Mycoparasitism: recognition, physiology and ecology. En: New directions in biological control: Alternatives for supressing agricultural pests and diseases. Barker, R.R. and Dunn, P.E. (eds). NewYork, pp. 211-235.
- Chet, I. and J. Inbar. 1994. Biological control of fungal pathogens. Appl. Biochem. Biotechnol. 48: 3743.
- Chet, I. 1993. Biotechnology in Plant Disease Control. Wiley-Interscience, New York, 372 p.
- Chew, M.V.I. y D.F. Jiménez. 2002 Enfermedades del melón. En: El melón: tecnología de producción y comercialización. Secretaria de Agricultura. Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícolas y pecuarias, Centro de investigación Regional Norte Centro. Campo Experimental La Laguna. Matamoros, Coahuila, México. Diciembre del 2002. pp:161-195.
- Cook, R.J. and K.F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society. St. Paul. Minnesota, USA. 539 p.
- De Mayer, G., J. Bigirmana, Y. Elad, and M. Höfte. 1998. Induced systemic resistente in *Trichoderma harzianum* T39 bicontrol of *Botrytis cinerea*. Eur. J. Plant.Pathol. 104: 279-286
- Dean, J.F.D., H.R. Gamble, and J.D. Anderson. 1989. The ethylene biosynthesis-inducing xylanase: its induction in *Trichoderma viride* and certain plant pathogens. Phytopathology 79: 1071-1078.
- Delgado-Jarana, J., M.A. Moreno-Montes, and T. Benitez. 2003. Glucose uptake in *Trichoderma harzianum*: role of gtt1. Eukaryot. Cell 2: 708-717.
- Dennis, L. and J. Webster. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III Hyphal interaction. Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 363-369.
- Di Pietro, A., M. Lorito, C.K. Hayes, R.M. Broadway, and G.E. Harman. 1993. Endochitinase from *Gliocladium virens*: isolation, characterization, and

- synergistic antifungal activity in combination with gliotoxin. *Phytopathology* 83: 308-313.
- Domsch, K. H; W. Gams, T.H. Anderson. 1980. *Compendium of soil fungi*. Volume 1. Academic Press. London. New York. Toronto. Sydney. San Francisco 795-809p.
- Elad, Y; I; Chet, J. Katan. 1980. *Trichoderma harzianum*: A Biocontrol agent affective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology*. 70: 119-121.
- Elad, Y. and Y. Hadar. 1981. Biological control of *Rhizoctonia solani* by *Trichoderma harzianum* in carnation. *Plant Disease*. 65: 675-677.
- Elad, Y., R. Barak, and I. Chet. 1983b. Possible role of lectins in mycoparasitism. *J. Bacteriol.* 154: 1431-1435.
- Elad, Y., R. Barak, and I. Chet. 1984. Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biol. Biochem.* 16: 381-386.
- Elad, Y. and A. Kapat. 1999. The role of *Trichoderma* protease in the biocontrol of *Botrytis cinerea*. *Eur. J. Plant Pathol.* 105: 177-189.
- Enkereli, J., G. Felix, and T. Boller. 1999. The enzymatic acticity of fungal xylanase is not necessary for its elicitor activity. *Plant Physiol.* 121:391-397.
- Esposito, E. and M. da Silva. 1998. Systematycs and enviromental application of the genus *Trichoderma*. *Critical Reviews in Microbiology*. 24: 89-98.
- Fernández-Larrea, V.O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Avances en el fomento de productos fitosanitarios no sintéticos. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) No. 62:96-100.*
- Galante, Y. M., A. De Conti, and R. Monteverdi. 1998. Aplicacion of the *Trichoderma* enzymes in the textile industry. En: *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 2 Harman, G.E. y Kubicek, C. P. (eds) London: Taylor & Francis.
- Gams, W. and J. Bisset. 1998. Morphology and indentification of *Trichoderma* & *Gliocladium* Vol. 1 Harman, G.E. y Kubicek, C.P.(eds). London, pp. 101-127.
- Hadar, Y; I. Chet, and R. Baker. 1979. Biological control of *Rhizoctonia solani* damping off with wheat from culture of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathology*. 69: 64-68.
- Hananaia, U. and A. Avni. 1997. High-affinity binding site for ethylene-inducing xylanase elicitor on *Nicotiana tabacum* membranes. *Plant J* 12: 113-120.
- Handelsman, J. and EV. Stabb. 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. *Plant Cell* 8: 1855-1869.

- Haran, S., H. Schickler, and I. Chet. 1996a. Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology*. 142: 2321-2331.
- Haran, S., H. Schickler, A. Oppenheim, and I. Chet. 1996b. Differential expression of *Trichoderma harzianum* chitinases during mycoparasitism. *Phytopathology*. 86: 980-985.
- Harman, G. E; I. Chet, and R. Baker. 1981. *Trichoderma hamatum* effects on seeds and seedling disease induced in radish and Pea by *Phythium* spp or *Rhizoctonia solani*. *Phytopathol.* 69: 417-419.
- Harman, G.E., A.G. Taylor, and T.E. Stazs. 1989. Combining effective strains of *Trichoderma harzianum* and solid matrix priming to improve biological seed treatments. *Plant Ois* 73: 631-637.
- Hernández, H., V. 2002. Manejo integrado de enfermedades en el cultivo del algodónero. Memorias del IV curso regional de aprobación en el control de plagas del algodónero. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad Laguna. Departamento de Parasitología. Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria. Dirección General de Sanidad Vegetal. Sistema Nacional de aprobación Fitosanitaria. Torreón, Coahuila, México, 20-22 de Mayo del 2002.
- Herrera, P.T. y J. A. Samaniego, G. 2002. Enfermedades del nogal. Secretaria de Agricultura. Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícolas y pecuarias, Centro de investigación Regional Norte Centro. Campo Experimental La Laguna. Matamoros, Coahuila, México. Noviembre del 2002. pp:177-206.
- Hjeljord, L. and A. Tronsmo. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. En *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 2. Harman, G.E. y Kubicek, C.P. (eds). London, pp. 131-152.
- Howell, C.R. and R.D. Stipanovic. 1995. Mechanisms in the biocontrol of *Rhizoctonia solani* induced cotton seedlings disease by *Gliocladium virens*: antibiosis. *Phytopathology* 85: 469-472.
- Howell, C.R. 1998. The role of antibiosis in biocontrol. En: *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 2. Harman, G.E. y Kubicek, C.P. (eds). London, pp. 173-184.
- Hucthinson, S. A. and M. E. Cowan. 1982. Identification and biological effect of volatile metabolites form culture of *Trichoderma harzianum*. *Trans. Br. Soc.* 59: 71-72.
- Inbar, J. and I. Chet, 1992. Biomimics of fungal cell-cell recognition by use of lectin-coated nylon fibers. *J. Bacterio.* 174: 1055-1059.

- Inbar, J., M. Abramsky, D. Cohen, I. Chet. 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. *European Journal of plant pathology* 100: 337-346.
- Inbar, J., A. Menéndez, and I. Chet. 1996. Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in biological control. *Soil Bio. & Biochem.* 28: 757-763.
- Jonson, F. L. and E. A. Curl. 1972. Methods for research on the ecology of soil-borne plant pathogens. United States of America. pp 195,196.
- Krupa S.A. and Y.R. Dommergues. 1981. Ecology of root pathogens; 2nd. edition; Elsevier Scientific publishing company; USA.
- Kuhls, K., E. Lieckfeldt, G.J. Samuels, W. Kovacs, O. Petrini, W., Gams, T. Borner, and C.P. Kubicek. 1996. Molecular evidence that the asexual industrial fungus *Trichoderma reesei* is a clonal derivative of the ascomycete *Hypocrea jecorina*. *Proc Natl. Acad. Sci. USA.* 93: 7755-7760.
- Lewis, J.A. and G. Papavizas. 1984a. A new approach to stimulate population proliferation of *Trichoderma* species and other potential biocontrol fungus introduced into natural soil. *Phytopathology.* 71: 268-290.
- Lewis, J. A. and G. Papavizas. 1984b. Chlamyospore formation by *Trichoderma* spp. In natural substrates. *Can. J. Microbiol.* 30: 1-7.
- Lewis, J.A. and G. Papavizas. 1987. Application of *Trichoderma* and *Gliocladium* in alginate pellets for control of *Rhizoctonia* damping-off plant. *Phytopathology.* 36:438-446.
- Lieckfeldt, E., K. Kuhls, and S. Muthumeenakshi. 1998. Molecular Taxonomy of *Trichoderma* and *Gliocladium* and their teleomorphs. En: *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 1 Harman, G.E. y Kubicek C. P. (eds). London, pp. 101-127.
- Lindsey, D. L. and R. Backer. 1967. Effects of certain fungi on dwarf tomatoes grown under gnotobiotic conditions. *Phytopathology.* 57: 1262-1263.
- Lorito, M., S. L. Woo, M. D. D'Ambrosio, G. E. Harman, C. K. Hayes, C. P. Kubicek, and F. Scala. 1996. Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. *Molec. Plant-Microbe Interact.* 9:206-213.
- Lumsden, R. D., J. C. Locke, S. T. Adkins, J. F. Walter, and C. J. Ridout. 1992. Isolation and localization of the antibiotic gliotoxin produced by *Gliocladium virens* from alginate prill in soil and soilless media. *Phytopathology* 82: 230-235.
- Martinez, C., F. Blanc, E. Le Claire, O. Besnard, M. Nicole, and J. C. Baccou. 2001. Salicylic acid and ethylene pathways are differentially activated in melon

- cotyledons by active or heat-denatured cellulose from *Trichoderma longibrachiatum*. *Plant Physiol.* 127: 334-344.
- Meera, M. S., M. B. Shivanna, K. Kageyama, and M. Hyakumachi. 1994. Plant growth promoting fungi from zoysiagrass rhizosphere as potential inducers of systemic resistance in cucumbers. *Phitopathology* 84: 1399-1406.
- Mont Koc, R.M. 1993. *Principios del control de enfermedades de las plantas*. Edit. Lima. Perú: Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Neethling, D. and H. Nevalainen. 1996. Mycoparasitic species of *Trichoderma* produce lectins. *Can. J. Microbiol* 42: 141-146.
- Nelson, E. E., M. H. Pearce, and N. Malajczuk. 1995. Effects of *Trichoderma* spp. and ammonium sulphamate on establishment of *Armillaria luteobubalina* on stumps of *Eucalyptus diversicolor*. *Mycol Res* 99: 957-962.
- Papavizas, G. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 23: 23-54.
- Rehner, S. A. and G. J. Samuels. 1994. Taxonomy and phylogeny of *Gliocladium* analyzed from nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Mycol. Res.* 98: 625-634.
- Ridout, C. J., J. R. Coley-Smith, and J. M. Lynch. 1986. Enzyme activity and electrophoretic profile of extracellular protein induced in *Trichoderma* spp. by cell walls of *Rhizoctonia solani*. *J. Gen. Microbiol.* 132: 2345-2352.
- Rifai, M. A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Mycol.* Pp. 116:1.
- Rodríguez, F., J. Almandoz, and J. Parra. 1997. Efectividad de *Trichoderma harzianum* (Hordi) en la reducción de la incidencia de *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. and Curt.) Rostov en el cultivo del pepino. Resumen. Libro de Conferencias y Resúmenes cortos del V Encuentro Nacional Científico Técnico de Bioplaguicidas. P. 58. Ciudad de la Habana, Cuba.
- Rosen, D., M., Edelman, E. Galun, and D. Danon. 1974. Biogenesis of mitochondria in *Trichoderma viride*. Structural changes in mitochondria and other spores constituents during conidium maturation and germination. *J. Gen. Microbiol* 83: 31-49.
- Strashnov, Y., Y. Elad, A. Sivan, and I. Chet. (1985). Integrated control of *Rhizoctonia solani* by methyl bromide and *Trichoderma harzianum*. *Plant Pathology* 34:146-151.
- Sandoval, I., M. López, D. García, I. Mendoza. 1995. *Trichoderma harzianum* (cepa A-34). Un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento. *Boletín Técnico* N° 3.p. 7-14.

- Schirmbock, M., M. Lorito, Y. L. Wang, C. K. Hayes, I. Arisan-Atac, F. Scala, G. E. Harman, and C. P. Kubicek. 1994. Parallel formation and synergism of hydrolytic enzymes and peptaibol antibiotics, molecular mechanisms involved in the antagonistic action of *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi. *Appl. Environ. Microbiol.* 60: 4364-4370.
- Shanmugam, V., S. Sriram, S. Babu, R. Nandakumar, T. Raguchander, P. Balasubramanian, and R. Samiyappan. 2001. Purification and characterization of an extracellular alpha glucosidase protein from *Trichoderma viride* which degrades a phytotoxin associated with sheath blight disease in rice. *J. Appl. Microbiol.* 90: 320-329.
- Sivasithamparan, K. and E. L. Guisalberti. 1998. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. En *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 2 Harman, G. E. y Kubicek, C. P. (eds). London, pp. 139-192.
- Sneh, B., L. Burpee, A. Ogoshi. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.
- Thrane, C., A. Tronsmo, and D. F. Jensen. 1997. Endo 1,3- β -glucanasa y cellulase from *Trichoderma harzianum*: purification and partial characterization, induction of and biological activity against plant pathogenic *Pythium* spp. *Eur. J. Plant. Pathol.* 103: 331-344.
- Villegas, M. A. 2005, [21 de Julio del 2006]. *Trichoderma* pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. <http://www.oriusbiotecnologia.com/site/index.php?id=20.66.0.0.1.0>
- Weindling, R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other fungi. *Phytopathology* 22: 837
- Whipps, J.M. and R.D. Lumsden. 2001. Commercial Use of Fungi as Plant Disease Biological Control Agents: Status and Prospects. En: *Fungi as Biocontrol Agents. Progress, problems and potential*. Butt, T.M., Jackson, C.W. y Magan, N. (eds). Wallingford, UK.: CABI Publishing .
- Wilhite, S.E., R.D. Lumsden, and D.C. Straney. 1994. Mutational analysis of gliotoxin production by the biocontrol fungus *Gliocladium virens* in relation to supression of *Pythium* damping-off. *Phytopathology*. 84: 816-821.
- Wilson, C.L., M.E. Wisniewski, C.L. Biles, R. Mclaughlin, E. Chalutz, and S. Droby. 1991. Biological control of post-harvest diseases of fruits and vegetables: alternatives to synthetic fungicides. *Crop Protection* 10: 172.
- Windham, M.T., Y. Elad, and R. Baker. 1986 A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76: 518-521.
- Yedidia, I., N. Benhamou, and I. Chet. 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Appl. Environ. Microbiol.* 65: 1061-1070.

8. APENDICE A

Cuadro A.2. Análisis de varianza del diámetro de la colonia de *R. solani* a las 96 horas en el enfrentamiento con diferentes cepas de *Trichoderma*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	13	139.577148	10.736704	**265.2674	0.000
ERROR	42	1.699951	0.040475		
TOTAL	55	141.277100			

C.V. = 4.78 %

** = Altamente significativo.

Cuadro A.2. Análisis de varianza del efecto de *Trichoderma* sobre las plantas sobrevivientes de frijol sembradas en medio infestado con *R. solani*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	13	45.714294	3.516484	**3.6923	0.000
ERROR	42	40.000000	0.952381		
TOTAL	55	85.714294			

C.V.= 28.46 %

** = Altamente significativo.

Cuadro A.3. Análisis de varianza de longitud de tallo de plántulas de frijol a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	13	1650.1035	126.9310	**9.0681	0.000
ERROR	42	587.8984	13.99758		
TOTAL	55	2238.0019			

C.V.= 16.18 %

** = Altamente significativo.

Cuadro A.4. Análisis de varianza de Longitud de raíz de plántulas de frijol a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	13	164.00244	12.615572	**2.8584	0.005
ERROR	42	185.37011	4.413574		
TOTAL	55	349.37255			

C.V. = 17.54 %

** = Altamente significativo.

Cuadro A.5. Análisis de varianza del peso fresco de las plántulas de frijol en medio inoculado con *R. solani* y *Trichoderma* spp a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón Coah. 2006.

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	13	27.752289	2.134791	**5.8759	0.000
ERROR	42	15.259125	0.363312		
TOTAL	55	43.011414			

C.V. = 21.68 %

** = Altamente significativo

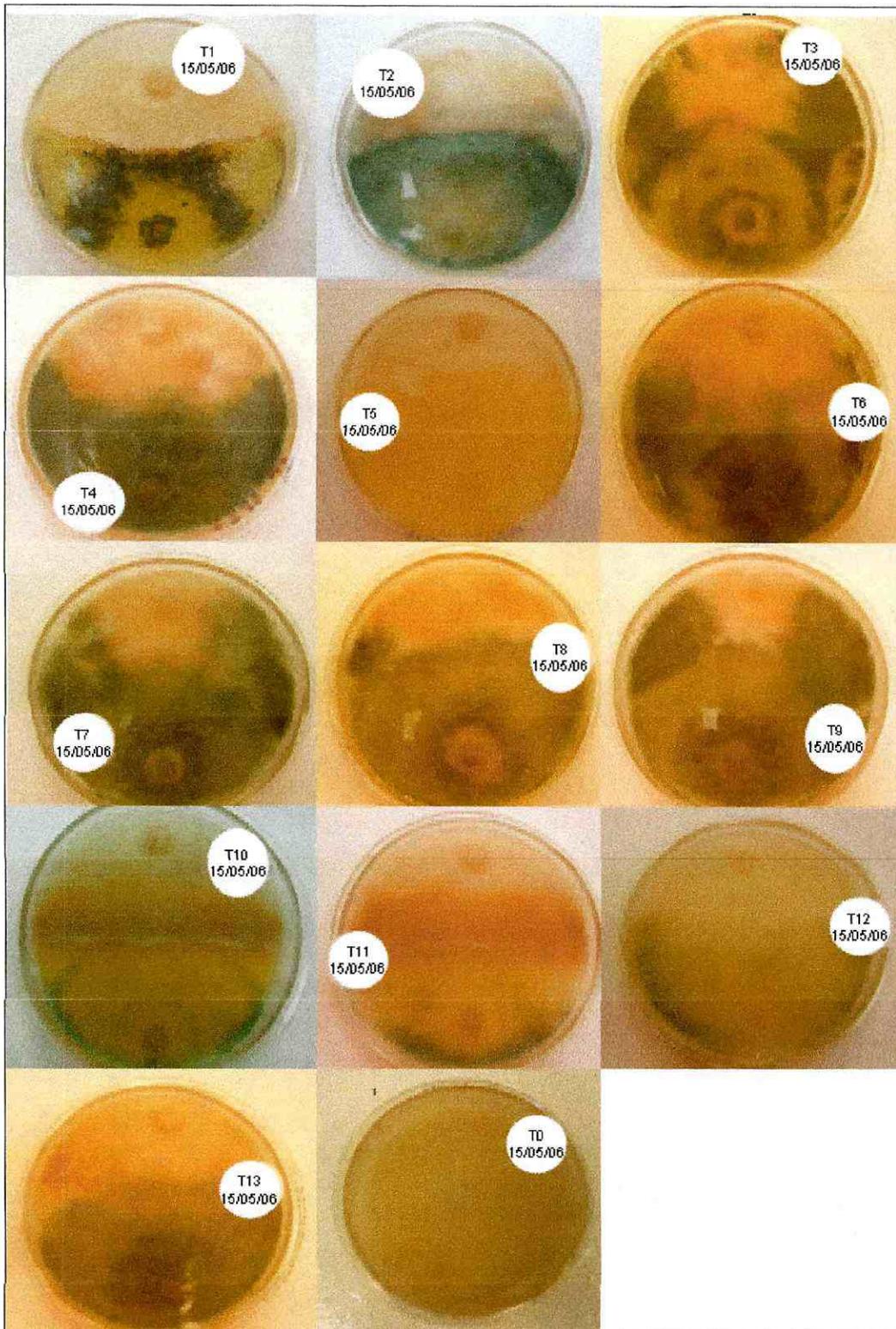


Figura A.1. Enfrentamiento de *Trichoderma* spp. Contra *Rhizoctonia solani*.



Figura A.2. Conservación de *Trichoderma* spp.

Figura A.3. Inoculo de *Trichoderma* spp



Figura A.4. Inoculo de *Rhizoctonia solani*.

Figura A.5. Mezcla de los inóculos de *Rhizoctonia solani* y *Trichoderma* spp en arena.



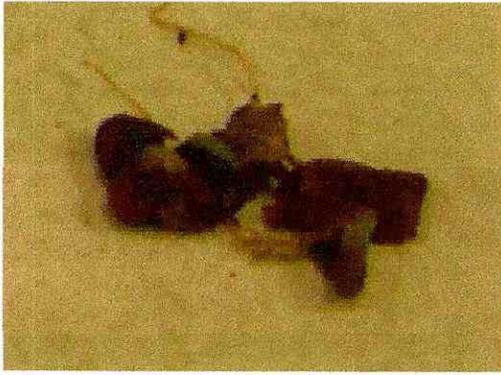


Figura A.6. Semilla podrida por *Rhizoctonia solani*

Figura A.7. Plantas infectadas por *Rhizoctonia solani*.



Figura A.8. Macetas con los tratamientos de *Trichoderma* contra *Rhizoctonia solani*.

Figura A.9. Plantas sanas.

