

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE AGRONOMIA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA



Humus de Lombriz y *Trichoderma harzianum* como promotores de crecimiento en semillas orgánicas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill).

POR:

JUAN CRUZ FLORES

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TITULO DE:

INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO

SALTILLO, COAHUILA, MEXICO

NOVIEMBRE DE 2011

UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISION DE AGRONOMIA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGIA

Humus de lombriz y *Trichoderma harzianum* como promotores de crecimiento en  
semillas orgánicas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

POR:

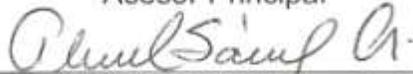
**JUAN CRUZ FLORES**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL TITULO DE:

**INGENIERO AGRONOMO PARASITOLOGO**

APROBADA POR:

Asesor Principal

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Abiel Sánchez Arizpe

Coasesor

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Alejandro Hernández Herrera

Coasesor

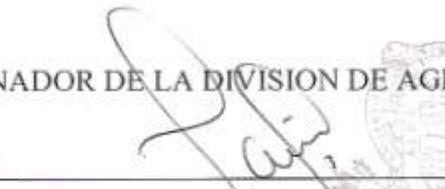
  
\_\_\_\_\_  
MC. Angélica María Berlanga Padilla

Coasesor

  
\_\_\_\_\_  
Ing. Omegar Hernández Bautista

COORDINADOR DE LA DIVISION DE AGRONOMIA

pa

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Leobardo Bañuelos Herrera

SALTILLO, COAHUILA, MÉXICO   
División de Agronomía

NOVIEMBRE DE 2011

## AGRADECIMIENTOS

Con gran cariño y respeto a la **UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO** por recibirme y brindarme una oportunidad para desarrollarme dándome conocimientos, para ser un hombre de bien.

Mi mas sincero y profundo agradecimiento al **Dr. Abiel Sánchez Arizpe** por su minuciosa revisión y sus propuestas en el desarrollo del presente trabajo.

Al **Dr. Alejandro Hernández Herrera** por su valiosa colaboración en la revisión de este trabajo y aportaciones.

Al **MC. Angélica María Berlanga Padilla** por su valiosa colaboración y en la revisión de este trabajo, en los procedimiento de y métodos de laboratorio.

A las Técnicas **Silvia Ovalle Nava y Cristina Sánchez Flores** por su valiosa colaboración y apoyo incondicional en los trabajos de laboratorio.

**A mis compañeros de la generación CX** por la amistad y el apoyo que siempre me brindaron especialmente a Epifanio Castro del Ángel, Omegar Hernández Bautista y Abraham Cruz Alonso.

## **DEDICATORIAS**

### **A DIOS**

Por darme la sabiduría y paciencia para afrontar los obstáculos que se me presentaron.

### **A MIS PADRES**

Sr. Máximo Cruz Osorio

Sra. Leonila Flores Martínez

Por haberme dado la oportunidad de seguirme preparando, con su apoyo incondicional durante mi preparación, nunca terminaré de darles las gracias.

### **A MIS HERMANOS**

Marcela

Martín

Marcos

Miguel

Roberto

Minervo

Rafaela

Por darme consejos y apoyarme en mis decisiones, en especial a Rafaela y Minervo por que en ningún momento me dejaron solo.

### **A MI ESPOSA**

Georgina Luis López

Por su grata compañía y por apoyarme en momentos difíciles, por su cariño, amor y por ser una mujer maravillosa.

## INDICE DE CONTENIDO

	Pagina
<b>INDICE DE CUADROS</b> .....	VI
<b>INDICE DE FIGURAS</b> .....	IX
<b>INTRODUCCIÓN</b> .....	1
Objetivo .....	2
Hipótesis .....	2
<b>REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	3
El cultivo del tomate .....	3
Importancia Económica y Distribución Geográfica .....	3
Importancia Mundial del Jitomate .....	4
Posición Taxonómica .....	4
Clasificación Agronómica .....	5
Origen .....	5
Clasificación Botánica .....	5
Morfología del Cultivo .....	6
Raíz .....	6
Tallo .....	6
Hojas .....	7
Flores .....	7
Fruto .....	7
Semillas .....	7
Limpieza y extracción de semillas de tomate por el Método de Flotación .....	8
Agricultura Orgánica.....	9
Vermicomposta .....	9
Enfermedades del Suelo .....	11
<i>Fusarium oxysporum</i> .....	11

Morfología -----	11
Síntomas de la enfermedad -----	12
<i>Rhizoctonia solani</i> -----	12
Morfología -----	12
Síntomas de la Enfermedad -----	12
Manejo de Enfermedades de Suelo -----	13
Variedades Resistentes -----	13
Control Químico -----	14
Control Biológico -----	14
<i>Trichoderma harzianum</i> -----	15
Cualidades del Antagonista <i>Trichoderma</i> -----	16
Micoparasitismo -----	16
Competencia -----	16
Antibiosis -----	17
Inducción de Crecimiento y Resistencia -----	17
Estudios de <i>Trichoderma</i> -----	18
Los Microencapsulados -----	19
<b>MATERIALES Y METODOS</b> -----	20
Ubicación del Experimento -----	20
Material Utilizado -----	20
Evaluación de Viabilidad de Formulado de <i>T. harzianum</i> -----	20
Cuento de Esporas de Formulado de <i>T. harzianum</i> -----	21
Esterilización del Humus de Lombriz -----	22
Obtención de Semillas Fértiles de Tomate Saladette por el Método de Flotación -----	23
Proceso de Encapsulación de las Semillas de Tomate -----	23
Prueba de Germinación de las Semillas de Tomate Encapsuladas con los Diferentes Tratamientos -----	24
Evaluación de Presencia de Crecimiento de <i>T. harzianum</i> en Semillas Encapsuladas -----	24

Siembra Preliminar a la Evaluación de los Diferentes Tratamientos-----	25
Siembra de las Semillas Encapsuladas con los diferentes Tratamientos -----	25
Evaluación de los Sustratos de los Diferentes Tratamientos -----	26
Evaluación de las Plántulas de los Diferentes Tratamientos -----	26
Análisis Estadístico -----	27
<b>RESULTADOS Y DISCUSION -----</b>	<b>28</b>
Evaluación de Viabilidad de Formulado de <i>T. harzianum</i> -----	28
Conteo de Esporas de Formulado de <i>T. harzianum</i> -----	28
Obtención de Semillas Fértiles de Tomate Saladette por el Método de Flotación-----	29
Prueba de Germinación de las Semillas de Tomate Encapsuladas con los Diferentes Tratamientos -----	30
Evaluación de Presencia de Crecimiento de <i>T. harzianum</i> en Semillas Encapsuladas-----	30
Evaluación de Sustratos de los Diferentes Tratamientos -----	31
Evaluación de las Plántulas de los Diferentes Tratamientos -----	32
Crecimiento de Raíz de la Plántula -----	32
Diámetro del Tallo de la Plántula -----	34
Altura de Planta -----	35
Peso Fresco -----	37
Peso Seco -----	38
<b>CONCLUSION -----</b>	<b>41</b>
<b>LITERATURA CITADA -----</b>	<b>42</b>
<b>APENDICE -----</b>	<b>50</b>

## INDICE DE CUADROS

### Pagina

<p><b>Cuadro 1.</b> Incremento de la producción en toneladas de jitomate en el 2007 respecto al 2002. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. -----</p>	3
<p><b>Cuadro 2.</b> Composición del humus de lombriz (González, 1999). Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. -----</p>	10
<p><b>Cuadro 3.</b> Tratamientos evaluados de encapsulación de semillas con Humus de Lombriz y <i>T. harzianum</i> para la protección fitosanitaria. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. -----</p>	25
<p><b>Cuadro 4.</b> Porcentaje de germinación de las semillas encapsuladas con los diferentes tratamientos evaluados a las 72 hrs. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. -----</p>	30
<p><b>Cuadro 5.</b> Raíz expresada en cm de plántulas de tomate evaluadas a los 50 días después de la germinación con diferentes tratamientos a base de Humus de Lombriz y <i>T. harzianum</i>. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. -----</p>	33
<p><b>Cuadro 6.</b> Diámetro expresado en mm de plántulas de tomate evaluadas a los 50 días después de la germinación con diferentes tratamientos a base de Humus de Lombriz y <i>T. harzianum</i>. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. -----</p>	34

- Cuadro 7.** Altura expresada en cm de plántulas de tomate evaluadas a los 50 días después de la germinación con diferentes tratamientos a base de Humus de Lombriz y *T. harzianum*.  
Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 36
- Cuadro 8.** Peso fresco expresado en g, de plántulas de tomate evaluadas a los 50 días después de la germinación con diferentes tratamientos a base de Humus de Lombriz y *T. harzianum*.  
Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 37
- Cuadro 9.** Peso seco expresado en g, de plántulas de tomate evaluadas a los 50 días después de la germinación con los diferentes tratamientos a base de Humus de Lombriz y *T. harzianum*.  
Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 39
- Cuadro 10. Datos del Experimento.** Plántulas tratadas con humus de lombriz y *Trichoderma harzianum*. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 51
- Cuadro 11.** Análisis de varianza para longitud de raíz de la plántula.  
Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 52
- Cuadro 12.** Análisis de varianza para diámetro de tallo de plántula.  
Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 52
- Cuadro 13.** Análisis de varianza para altura de plántula  
Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 52

**Cuadro 14.** Análisis de varianza para peso fresco de planta completa.

Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 53

**Cuadro 15.** Análisis de varianza para peso seco de plántula completa.

Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.----- 53

## INDICE DE FIGURAS

	<b>Página</b>
<p><b>Figura 1. A</b> <i>T. harzianum</i> en medios PDA. <b>B</b> Crecimiento y reproducción del <i>T. harzianum</i> vista en un microscopio convencional. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. -----</p>	28
<p><b>Figura 2. A</b> <i>T. harzianum</i> en la cámara Neubauer <math>2.375 \times 10^9</math> esporas/gr <b>B</b> Esporas de <i>T. harzianum</i> vista en microscopio convencional. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. -----</p>	29
<p><b>Figura 3. A</b> Extracción de semillas del fruto de tomate <b>B</b> Semilla de tomate para siembra de los diferentes tratamientos. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. -----</p>	29
<p><b>Figura 4.</b> Presencia de <i>T. harzianum</i> en la encapsulación de las semillas de tomate, sembradas en medios PDA. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. -----</p>	31
<p><b>Figura 5. A, B, C,</b> Presencia de <i>T. harzianum</i> en los diferentes tratamientos <b>D, E</b> Crecimiento de hongos fitopatógenos en los testigos. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. -----</p>	32

- Figura 6.** Crecimiento de raíz de la platula de tomate con los mejores tratamientos contra tesstigo.  
Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 33
- Figura 7.** Diametro de tallo, sin diferencias significativas en los tratamientos con respecto al testigo.  
Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 35
- Figura 8.** Crecimiento de las plántulas de tomate de los mejores tratamientos contra el testigo.  
Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 36
- Figura 9.** Peso fresco de los diferentes tratamientos.  
Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 38
- Figura 10.** Peso seco de los diferentes tratamientos.  
Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011. ----- 39

## INTRODUCCIÓN

El jitomate es una de las especies hortícolas más importantes de nuestro país debido al valor de su producción y a la mano de obra que genera. Es el principal producto hortícola de exportación, y que representa el 37% del valor total de las exportaciones de legumbres y hortalizas y el 16 % del valor total de las exportaciones agropecuarias, solo superada por el ganado vacuno. Existen varias clasificaciones del jitomate, de acuerdo a su crecimiento, color o forma; siendo esta lo que ha predominado para su comercialización en nuestro país. Existen notables diferencias en cuanto a los sistemas y técnicas culturales empleados por los horticultores. Esta hortaliza es muy cotizada, contiene las vitaminas más importantes para la dieta humana, además de ser una importante materia prima para la industria de la transformación (FAO, 2002).

En México, la región de Veracruz y Puebla son considerados como el centro de domesticación más importante, esto por el gran número de evidencias históricas y lingüísticas; el nombre del jitomate proviene de la palabra náhuatl “tomatl” que significa “agua gorda” así como por otras características de tipo etnobotánica. Se considera también que nuestro país, fue el centro de domesticación más importante (Rick, 1976).

Una problemática de las enfermedades del suelo, es el alto uso de los productos químicos para su control, la ineficiencia de los pesticidas debido a la resistencia de los agentes fitopatógenos y sus costos elevados dado que cada vez se utilizan productos más específicos. La utilización de plaguicidas ha provocado serios problemas ecológicos; en efecto, es conocido que los plaguicidas saturan las tierras cultivables, se infiltran y contaminan los mantos acuíferos naturales modificando así los ecosistemas.

Actualmente la agricultura orgánica, ha tenido auge por reducir el uso de los pesticidas que ocasionan un desbalance en la naturaleza y una contaminación grave al medio ambiente. La fabricación de productos orgánicos y biológicos lleva consigo un tiempo de estudio y pruebas para encontrar las soluciones en la naturaleza misma. Actualmente existe en el mercado productos de esta naturaleza que incrementan las alternativas para combatir diversas plagas y enfermedades, lo cual es necesario continuar el estudio de estos agentes de control para hacerlos más eficientes.

Este proyecto tiene la intención aportar nueva información que sea de utilidad en el estudio agronómico usado como promotor de crecimiento en la producción de plántulas de tomate en invernadero, por lo cual se plantea el siguiente objetivo:

- Determinar el efecto promotor de crecimiento de Humus de lombriz y *Trichoderma harzianum* en plántulas de tomate, en invernadero.

Este objetivo se plantea con la siguiente Hipótesis:

Ho: La estimulación del crecimiento de raíz y follaje de las plántulas tratadas presentaron un incremento respecto a las no tratadas.

Ha: La estimulación del crecimiento de raíz y follaje de las plántulas tratadas no presentaron un incremento respecto a las no tratadas.

Palabras clave: Encapsulado, semillas, orgánicas, *Trichoderma*, *Fusarium*, biocontrol, *Rhizoctonia*, *solani*, antagonista.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### El Cultivo del Tomate

El cultivo del jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill), es originaria del Perú, Ecuador y México, e introducido a Europa en el siglo XVI; al principio, cultivado como planta de ornato; A partir de 1900 se extendió el cultivo como alimento humano y actualmente ocupa un lugar importante entre las hortalizas en el mundo; Además, es una importante materia prima para la industria de transformación (Rick, 1976).

### Importancia Económica y Distribución Geográfica

El jitomate es la hortaliza más difundida en todo el mundo y la de mayor valor económico; Su demanda aumenta continuamente y con ella su cultivo, producción y comercio; El incremento anual de la producción en los últimos años se presenta en el cuadro 1. Este se debe principalmente al aumento en el rendimiento y en menor proporción al aumento de la superficie cultivada (FAO, 2002).

**Cuadro 1.** Incremento de la producción en toneladas de jitomate en el 2007 respecto al 2002. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

País	Producción (ton) 2002	Producción (ton) 2007	Diferencia en ton.
China	25.466.211	33.596.881	8.130.670 ↑
E. Unidos	10.250.000	14.185.180	3.935.180 ↑
Turquía	9.000.000	9.945.0043	945.043 ↑
India	8.500.000	10.054.600	1.154.600 ↑
Italia	7.000.000	6.530.162	469.838 ↓
Egipto	6.328.720	8.639.024	2.310.304 ↑
España	3.600.000	3.664.100	64.100 ↑
Brasil	3.518.163	3.431.230	86.933 ↓
Rep. Islámica de	3.000.000	5.000.000	2.000.000 ↑

Irán			
México	2.100.000	3.150.353	1.050.000 ↑
	(FAO, 2002).	(FAO.STAT 2007).	

↑ Incremento de toneladas

↓ Disminución de toneladas

### Importancia Mundial del Jitomate

El jitomate tiene gran importancia mundial por su variedad de usos, consumo en fresco, como ingrediente en jugos, pastas y bebidas, por su valor nutritivo y su alto valor comercial por unidad de superficie cultivada (FAO, 2002).

La producción mundial de jitomate es, aproximadamente, de 108 millones de toneladas por año de las cultivadas, con un promedio 36 toneladas por ha. El área cultivada comprende un 30 % del total de las hortalizas; Esta situación justificada el desarrollo de grandes esfuerzos para resolver los problemas que limitan su producción (FAO, 2002).

### Posición Taxonómica

De acuerdo a Van Haeff (1995) el cultivo del jitomate ha sido clasificado taxonómicamente de la siguiente manera:

Reino..... Plantae

División..... Magnoliophyta

Clase..... Magnoliopsida

Subclase..... Asteridae

Orden..... Solanales

Familia..... Solanaceae

Género..... *Lycopersicon*

Especie..... *esculentum*

## Clasificación Agronómica

Anderlini *et al.* (1997) Menciona que, según el hábito de crecimiento se pueden distinguir dos tipos de jitomate que son: los determinados y los indeterminados; La planta de crecimiento determinado es de tipo arbustivo, de porte bajo, pequeño y de producción precoz; El jitomate tipo indeterminado crece hasta alturas de dos metros o más, el crecimiento vegetativo es continuo y la inflorescencia no es apical si no lateral.

## Origen

Algunos autores consideran que la forma primitiva de *Lycopersicon esculentum* Mill, es la variedad botánica cerasiforme “Tomate cereza”, originaria de la región de Perú-Ecuador donde se difundió a toda la América Tropical (Rick, 1976).

## Clasificación Botánica

La designación *Lycopersicon esculentum* Mill, en la publicación de revisión del genero que incluye el tomate (Miller, 1940 citado por Casseres, 1981), se considerado como correcta, ya que es la más usada y aceptada.

Dos especies fueron reconocidas: *Pimpinellifolium* y *Lycopersicon esculentum* Mill, esta ultima son las siguientes variedades botánicas; Comune, Tomate común; Grandifolium, Tomate hoja de papa; validium, Tomate Erecto o arbusto; Cerasiforme, Tomate cereza; Pyriforme, Tomate pera (Barley, 1949 citado por Cásseres, 1981).

## Morfología del Cultivo

La planta de tomate (*Lycopersicon esculentum*, Mill.) tiene las siguientes características:

### **Raíz**

La planta originaria de semilla presenta una raíz principal que crece unos 2.5 cm diarios hasta llegar a los 60 cm de profundidad (Floquer, 1976). Cuando corresponde a plantas que fueron trasplantadas, debido a las lesiones sufridas, se presenta formando un denso sistema de raíces adventicias, extendidas lateralmente (López, 1976); este caso presenta el sistema radical que se desarrolla más en anchura que en profundidad.

El 75 por ciento de las raíces se encuentran en un espacio de 25 cm de diámetro por 45 cm de profundidad (Floquer, 1976).

### **Tallo**

En el primer periodo de desarrollo se mantiene erguido hasta que el propio peso la recuesta sobre el suelo, y se vuelve recurrente. La longitud es de 50 cm en cultivares enanos y llegan a 2.5 m en los cultivos que son de crecimiento “indeterminado” (Floquer, 1976).

La superficie del tallo es angulosa, con pelos agudos y otros glandulares capitados cuya esencia confiere su aroma característico a la planta (Floquer, 1976).

Hasta la primera inflorescencia la ramificación es monopodial; En la primera inflorescencia se termina el eje primario, que es desplazado lateralmente por el brote que corresponde a la axila de la hoja siguiente que viene a ocupar la dirección de dicho eje; Esto se repite con cada nueva inflorescencia dando como resultado la ramificación “simpodial” (Floquer, 1976).

**Hojas**

Las dos primeras hojas verdaderas son simples, luego aparecen las compuestas (sectadas), hasta llegar a las típicas imparipinadas que tienen de 7 a 9 folículos, su longitud es 10 a 40 cm (Floquer, 1976).

La disposición de hojas sobre los tallos es alterna (López, 1976), Las hojas son compuestas, formadas por 7 ó 9 hojas sencillas.

**Flores**

Flor de pedúnculo corto, cáliz gamosépalo con 5 ó 10 lóbulos; El androceo presenta 5 ó más estambres unidos a la corola, con anteras conniventes; El gineceo presenta de 2 a 30 carpelos que originan los lóculos del fruto, es constituido por pistilo de ovario supero con estilo liso y estigma achatado, se desplaza a través del tubo formado por anteras (Floquer, 1976).

Las inflorescencias pueden ser en: racimos simples, racimos bifurcados o ramificados (López, 1976). La flor puede ser presentada en inflorescencias de 1 a 50 flores (Floquer, 1976).

**Fruto**

El fruto es una baya carnosa y pubescente cuando joven, pero glabra y brillante cuando madura de un color rojo ó amarillo, globoso ó deprimido en cada extremo, liso surcado, de 2 a 15 cm de diámetro (Floquer, 1976). El fruto se desarrolla lento al principio, después rápidamente para alcanzar el volumen máximo (López, 1976).

**Semillas**

Las semillas son: pequeñas, pubescentes, numerosas, reniformes de germinación superficial, coloración café de 3 a 5 mm de largo y de 2 a 4 mm de ancho (Cásseres, 1981). En condiciones normales conserva su capacidad de germinación durante más de 4 años, no tiene período de dormición por lo que puede germinar poco después de ser cosechada (Floquer, 1976).

## **Limpieza y Extracción de Semillas de Tomate por el Método de Flotación**

Arriaga *et al.* (1994) propone una metodología que sirve para descartar un determinado porcentaje de semillas vanas además de impurezas que posean, por ello la separación de las semillas vanas de las semillas llenas es aconsejable; Por ejemplo, esta separación resulta muy importante ya que, la proporción de semillas vanas puede ser en algunos casos de poblaciones muy altas (hasta 98 %); Para ello, la semilla se coloca en baldes con agua durante 24 horas, procurando no excederse en el número de semillas a colocar ya que de lo contrario las que flotan podrían impedir que caigan las que deberían hundirse. La semilla vana o vacía corresponde a la porción que queda flotando en superficie.

Un ensayo de germinación con esta porción de semilla sobrenadante confirmó que el método es efectivo para la separación ya que solo se encontró una semilla viable en 700 de las posibles vanas vacías; De esta manera, sólo se someten a tratamiento pre-germinativo aquellas que se hundieron que corresponden a las semillas llenas y por lo tanto, potencialmente viables, reduciéndose así los volúmenes a tratar posteriormente (Arriaga *et al.*, 1994).

Después de la colecta de semilla o del almacenamiento, las semillas pueden someterse a una prueba de fertilidad, esta prueba consiste en colocar las semillas en un balde con agua; Las semillas que se precipiten son semillas fértiles y las que floten son semillas infértiles, estas últimas deben desecharse, debido a que después de la polinización algunas semillas no logran fertilizarse, por lo que no llegan a desarrollar un embrión, formando bolsas de aire, provocando que estas floten. Así también cuando las semillas han sido almacenado por mucho tiempo, el gametófito se seca, debido a la deshidratación, resultando en el encogimiento del gametófito femenino y separación subsecuente de la esclerotesta, formando bolsa de aire, el cual hace que estas floten; A diferencia de muchas otras semillas, la viabilidad no se restablece por rehidratación (Dehgan y Yuen, 1983; Dehgan y Schutzman, 1989).

## **Agricultura Orgánica**

Una nueva forma de hacer agricultura, vinculada con la producción es mediante la agricultura orgánica ó ecológica, esta agricultura ha adquirido gran importancia en las últimas décadas, ya que se basa en la producción de alimentos libres de residuos tóxicos que ponen en riesgo a la salud humana, así como a la mayor concientización que ahora se tiene de la necesidad de proteger al medio ambiente; Por ello, la producción orgánica se caracteriza no solo por la no utilización de productos de síntesis química en los sistemas agrícolas, sino la aplicación de prácticas agroecológicas, así como el empleo de insumos naturales (Vázquez, 2009).

El empleo de abonos orgánicos ha tenido gran auge para reducir el desequilibrio ecológico provocado por el uso intensivo de químicos, los insumos comúnmente empleados son: gallinaza, abonos verdes y la vermicomposta (Sandoval, 2004).

### **Vermicomposta**

Recibe este nombre al producto obtenido mediante el procedimiento biológico de composición de elementos orgánicos, a través de la lombriz roja (*Eisenia foetida*); Es el mejor abono orgánico, existente, equilibrado y de fácil manejo, ideal para la agricultura en general (Pimienta, 2004).

Composición del humus de lombriz según González (1999), cita lo siguiente:

**Cuadro 2.** Composición del humus de lombriz (González, 1999). Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

Componentes del humus	Cantidad
Nitrógeno total	1.95 a 2.2%
Fosforo	0.23 a 1.8%
Potasio	1.07 a 1.5%
Calcio	2.70 a 4.8%
Magnesio	0.3 a 0.81%
Hierro disponible	75 mg/l
Cobre	89 mg/kg
Zinc	125 mg/kg
Manganeso	455 mg/kg
Boro	57.8 mg/kg
Carbonato orgánico	22.53%
C/N	11.55
Ácidos húmicos	2.57 g Eq/100 g
Hongos	1500 c/g
Levaduras	10 c/g
Actinomicetos totales	170, 000, 000 c/g
Actinomiceto quitinasa	100 c/g
Bacterias aeróbicas	460, 000, 000 c/g
Bacterias anaeróbicas	450, 000 c/g
Relación Aeróbicas/Anaeróbicas	1:1000

## Enfermedades del Suelo

Estudios del suelo demuestran que en la última década, los microorganismos patógenos del suelo que eran secundarios, hoy son considerados primarios porque afectan seriamente la producción y calidad del producto; Desde hace algunos años se ha dedicado esfuerzos para desarrollar componentes de Manejo Integrado con el fin de dar alternativas tecnológicas que permitan reducir el efecto de estos microorganismos (INIAP, 2011).

La producción de tomate en México es seriamente afectada por diversos organismos causantes de enfermedades tales como *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, que ocasionan cuantiosas pérdidas por que afectan los rendimientos y la calidad de la producción (Guigon y González, 2001), Como consecuencia algunas regiones productoras importantes han disminuido la superficie de siembra o la producción se ha desplazado a nuevas áreas.

### *Fusarium oxysporum*

Es la especie del genero *Fusarium* más ampliamente distribuida y perjudicial a la agricultura. El jitomate, la papa, el chile, la cebolla, el tabaco, la col, el plátano, la sandia, el café, el clavel, el algodón son solo algunos de los numerosos cultivos susceptibles a este hongo (Romero, 1993).

### **Morfología**

Este hongo se caracteriza por producir tres tipos de esporas: las microconidias, macroconidias y clamidiosporas, estas últimas tienen paredes muy gruesas la cual las hace muy resistentes a condiciones ambientales desfavorables y a la ausencia del hospedante; Existen distintas formas especiales de *Fusarium oxysporum* pueden sobrevivir en un estado de reposo en el suelo viables después de 40 años (Agrios, 2005).

### **Síntomas de la enfermedad**

Las plantas enfermas muestran clorosis, achaparramiento, coloración café del xilema y lo más común marchitez, *F. oxysporum* es un excelente habitante del suelo, por lo que una vez establecido permanece ahí indefinidamente (Agrios, 2005).

### ***Rhizoctonia solani***

Como típico hongo del suelo sobrevive de distintas formas: como saprofito sobre restos orgánicos, como parásito en las raíces y otros órganos de plantas y en forma pasiva, como esclerocios (Agrios, 2005).

### **Morfología**

Este hongo posee micelio septado, ramificado aproximadamente en ángulo recto y una septa cerca de la unión, uniformemente distribuido sobre la superficie del sustrato y algunas veces agregado en cordones miceliales productores de esclerocios; Es un habitante del suelo con capacidad patogénica tan extraordinaria que se encuentra en plantas de todo tipo: malezas, ornamentales, arboles forestales y casi cualquier cultivo hortícola con síntomas de ahogamiento, canchros, pudrición de la corona, anidamiento, etc. (Agrios, 2005).

### **Síntomas de la Enfermedad**

Las plantas pueden ser muertas por *Rhizoctonia* antes de emerger del suelo (ahogamiento preemergente) debido a la destrucción del meristemo apical; Si las plántulas logran emerger, entonces el ataque es a la base del tallo, donde tiene lugar una pudrición húmeda que provoca que las plántulas caigan y mueran; la lesión siempre es hundida y muestra varios tonos de color, café o más comúnmente café rojizo (ahogamiento postemergente) (Agrios, 2005).

La cancrrosis del tallo y pudrición de la raíz se presentan en plantas adultas, se forman lesiones hundidas, justamente debajo de la superficie del suelo, de color café rojizo, que si las condiciones del suelo y clima son favorables, llegan abarcar toda la base del tallo y las raíces; Como resultado, las plantas experimentan un debilitamiento general, amarillamiento del follaje y algunas veces hasta la muerte. Los cultivos que con mayor frecuencia sufren cancrrosis del tallo y la muerte de la raíz son el frijol, la soya, el chícharo, el chile, la espinaca, el camote y el tomate (Romero, 1993).

### **Manejo de Enfermedades de Suelo**

Las enfermedades de las plantas deben ser controladas para mantener la calidad y abundancia de los alimentos, fibras y todos los derivados producida por los agricultores de todo el mundo (Krishna y McSpadden, 2006).

Durante las últimas décadas, el enfoque del control de enfermedades ha cambiado tomando importancia el concepto de manejo integrado cuyas estrategias son tendientes a reducir el inoculo o evitar condiciones predisponentes para el desarrollo de la enfermedad (Sandoval, 2004).

Para el control de la marchitez se han implementado estrategias de prácticas culturales como inundación y solarización consiguiendo un buen éxito (Apodaca *et al.*, 2002). Aparte de las técnicas culturales existen diversas alternativas tales como: genéticas, químicas y más recientemente empleando agentes biológicos (Sid *et al.*, 2000).

### **Variedades Resistentes**

Los estudios han sido orientados hacia la obtención de genotipos de los chiles más comunes con mayor potencial de rendimiento, pero solo de manera muy tangencial se ha tratado de obtener variedades resistentes a la enfermedad, tal y

como se refleja en los resultados de una evaluación de líneas avanzadas de Chile Ancho y Mirasol llevada a cabo en Aguascalientes, y donde el área bajo la curva de desarrollo de enfermedades como pudrición de raíz es similar entre los materiales mejorados y sus testigos (Velásquez *et al.*, 2003).

### **Control Químico**

El manejo de la enfermedad a través de medios químicos ha proporcionado resultados poco consistentes (Rincón y Velásquez, 1999), Actualmente, la tendencia entre los productores de Chile se orienta hacia la aplicación de fumigantes mediante el riego por goteo en condiciones de acolchado previo al trasplante, como una medida destinada a abatir la población de patógenos en el suelo, y de esta manera evitar o reducir el daño por esta enfermedad.

El principal control de estos fitopatógenos se realiza con la aplicación de agroquímicos entre ellos, etridiazol, fosetil aluminio, tiabendazol y benomil entre otros (Pérez *et al.*, 2004). Estos productos solo abaten temporalmente la población, ya sea porque muchas esporas son capaces de evadir la acción fúngica, o porque los mismos fungicidas pueden actuar como agentes mutagénicos que dan como resultados varias esporas resistentes (Romero, 1993).

### **Control Biológico**

Se representa como una alternativa eficaz, económica y libre de riesgos frente a los numerosos y crecientes problemas derivados del uso indiscriminado de agroquímicos (Pérez *et al.*, 2004). En el control biológico de enfermedades se utilizan microorganismos antagonistas en el sitio de infección (Agrios, 2005), antes o después de que se presenten los fitopatógenos. Se busca además del control, lograr la seguridad alimentaria al ingerir alimentos libres de tóxicos y llevar una vida sana; Para esto, es necesario conocer a los organismos benéficos, aprender de sus hábitos e identificar la función que tienen para regular las poblaciones dañinas y reducir así el uso de plaguicidas (Michel *et al.*, 2009).

En el mundo existen más de 80 productos de biocontrol de patógenos, los que han sido formulados a base de hongos, tales como *Gliocladium* y *Trichoderma*, o bacterias como *Pseudomonas* y *Bacillus* (Paulitz y Belanger, 2001).

El Biocontrol de hongos fitopatógenos y la biofertilización empleando *Trichoderma* es un método utilizado en diversos cultivos en diferentes partes del mundo, sin embargo, el uso de cepas comerciales presentan dificultades con su persistencia en el suelo, debido a factores como la genética de los aislamientos, las condiciones del medio ambiente y otros propios de las especies fitopatógenas (González *et al.*, 1999).

Es posible aislar antagonistas en forma simple, pero al introducirlo en ambientes complejos, como la rizósfera (la capa de interacción entre el tejido vegetal de las raíces y la solución suelo) o el filoplano (relación entre la superficie foliar y la microflora), es casi inexistente la información sobre características que debe tener el ecosistema para que el organismo logre sobrevivir y ser activo como agente controlador (Campbell y Macdonald, 1989)

### ***Trichoderma harzianum***

Alexopoulos *et al.* (1996), ubica el género *Trichoderma* de la siguiente manera:

Reino.....Fungi

Phylum.....Ascomycota

Orden.....Hypocreales

Familia.....Hypocreaceae

Género.....A = *Hypocrea*; T= *Trichoderma*

*Especie.....harzianum*

A= fase anamorfica T= fase telomorfa

### **Cualidades del Antagonista *Trichoderma***

Los factores clave que contribuyen al efecto antagónico de estos organismos son su rápido crecimiento, la producción de metabolitos antimicrobianos y sus características fisiológicas; Por otra parte, los modos de acción más reportados, comúnmente para *Trichoderma* spp. son: Micoparasitismo, competencia por nutrientes y espacio, antibiosis por medio de enzimas o la producción de metabolitos secundarios, e inducción de los sistemas de defensa en la planta (Howell, 2003; Harman, 2006).

La aplicación de *Trichoderma*, en forma directa al suelo ofrece incluso una protección mayor a los cultivos, cuando *Trichoderma* es utilizado para el control de hongos del suelo, puede mezclarse con materia orgánica (estiércol) u otras enmiendas utilizadas como biofertilizantes, tal como se hace con inoculantes bacterianos usados como fertilizantes ecológicos (Minchala y Moreira, 2007), aumentando así la flora microbiana benéfica.

### **Micoparasitismo**

El Micoparasitismo es el fenómeno por el cual un hongo coloniza a otro, cubriendo una gran cantidad de eventos en este tipo de interacción (Minchala y Moreira, 2007). *Trichoderma* excreta muchos metabolitos dentro de ellos enzimas (celulasas, glucanasas, lipasas, proteasas y quitinasas) que participan en la lisis de la pared celular de las hifas del hospedante, facilitando la inserción de estructuras especializadas y de hifas del antagonista, que absorben nutrientes del interior del hongo fitopatógeno (Eveleigh *et al.*, 1986).

### **Competencia**

La competencia constituye un mecanismo de antagonismo muy importante. Se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando la utilización de este por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás (Ahmad y Baker 1987).

Hjeljord y Tronsmo (1998) comentan que *Trichoderma* está biológicamente adaptado para una colonización agresiva de los sustratos y en condiciones adversas para sobrevivir, fundamentalmente, en forma de clamidosporas; La alta velocidad de crecimiento, abundante esporulación y la amplia gama de sustratos sobre los que puede crecer, debido a la riqueza de enzimas que posee, hacen que sea muy eficiente como saprófito y aún más como agente de control biológico.

### **Antibiosis**

Muchas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico, tales sustancias inhibitoras son consideradas “antibióticos” (Hjeljord y Tronsmo, 1998).

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos; Algunos autores opinan que la antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción de un antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistentes al antibiótico (Vero y Mondino, 1999).

Los antibióticos volátiles tienen un efecto esencialmente fungistático, debilitando al patógeno y lo hacen más sensible a los antibióticos no volátiles, lo que se conoce como un "hiperparasitismo" de origen enzimático (Martínez *et al.*, 1994).

### **Inducción de Crecimiento y Resistencia**

Se ha comprobado que el género *Trichoderma* produce sustancias estimuladoras del crecimiento y desarrollo de las plantas. Estas sustancias actúan como catalizadores o aceleradores de los tejidos meristemáticos primarios ( los que tienen potencial de formar nuevas raíces) en las partes jóvenes de éstas, acelerando su reproducción celular, logrando que las plantas alcancen un desarrollo más rápido que aquellas plantas que no hayan sido tratadas con dicho microorganismos.

Además se conoce que *Trichoderma* presenta otros mecanismos, cuya acción biorreguladora es de forma indirecta; Entre estos se pueden mencionar los que elicitán o inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos como es la activación en la planta de compuestos relacionados con la resistencia (Inducción de Resistencia) (Harman, 2004), con la detoxificación de toxinas excretadas por patógenos y la desactivación de enzimas de estos durante el proceso de infección. La solubilización de elementos nutritivos, que en su forma original no son asimilables para las plantas, tienen la capacidad además, de crear un ambiente favorable al desarrollo radical lo que aumenta la tolerancia de la planta al estrés (Harman, 2003).

### **Estudios de *Trichoderma***

En trabajos realizados *in vitro* *Trichoderma* tiene una buena actividad inhibitoria tal como lo demuestra Hernández *et al.* (2008) en un estudio con compuestos volátiles con cuatro cepas de *Trichoderma* que inhiben el crecimiento micelial de *Rhizoctonia solani* en un 50 % y concluye que el uso del antagonista es útil para el manejo de este patógeno resistente a fungicidas.

En un estudio hidropónico con plantas tratadas de tomate con un producto a base de *Trichoderma*, demuestra un sistema radical y formación foliar mayores a las plantas no tratadas al momento del trasplante, logrando así un mayor número de frutos por planta, concluyendo que *Trichoderma* nos proporciona una herramienta para mejorar la cosecha del cultivo tanto en calidad como en cantidad (Galeano *et al.*, 2008).

## Los Microencapsulados

Durante la década pasada se ha impulsado en la agricultura el uso de polímeros naturales como agentes inoculantes de bacterias promotoras de crecimiento, en el desarrollo de las técnicas de encapsulación, existe mucha demanda para el control y liberación de ingredientes en alimentos, fármacos y microorganismos (Yáñez *et al.*, 2002). La micro-encapsulación con biopolímeros protege a los microorganismos de diferentes factores ambientales como el estrés y permite a la célula continuar con su desarrollo y metabolismo, ya que son microorganismos cuya actividad y eficiencia de control de los patógenos están sujetas a las condiciones físicas, químicas y biológicas del suelo (Aquino, 2008). Estos microorganismos son liberados gradualmente cuando el biopolímero es degradado por la humedad y el pH del suelo (Yabur *et al.*, 2006, citado por Hernández, 2008).

El alginato es el término genérico usado para nombrar las sales y derivados del ácido algínico, este biopolímero se presenta como una mezcla de sales insolubles de calcio, sodio, potasio y magnesio que se encuentra en las algas caféas (Phaeophyceae) (Arvizu *et al.*, 2001, citado por Hernández, 2008). Por lo anteriormente señalado, la microencapsulación de microorganismos ha demostrado su efectividad en el control de fitopatógenos de algunos cultivos; representan un alternativa viable para ser evaluados como control biológico para reducir la utilización de productos químicos y disminuir la incidencia y severidad de las enfermedades (Hernández, 2008).

## **MATERIALES Y METODOS**

### **Ubicación del Experimento**

El presente trabajo se realizó en invernadero como en laboratorio, las evaluaciones se realizaron en el Departamento de Parasitología en el laboratorio de fitopatología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN). Ubicada en Buenavista a 7 Km al sur de la Ciudad de Saltillo, Coahuila.

### **Material Utilizado**

El material biológico empleado para la encapsulación de las semillas de tomate, como promotor de crecimiento y desarrollo de las plántulas en este experimento fue el hongo *Trichoderma harzianum* el cual fue proporcionado por El Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Coahuila A.C. (CESAVECO A.C.). El producto para la encapsulación de semillas de tomate estaba formulado a una concentración de  $2.375 \times 10^9$  esporas/gr de *T. harzianum*.

El Humus de lombriz fue proporcionado por el Departamento de las Ciencias del Suelo de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN).

### **Evaluación de Viabilidad de Formulado de *T. harzianum***

Se empleó el siguiente material: tubos de ensayo, agua destilada, tween 20 (como dispersante), pipetas Pasteur, varilla de vidrio en forma de L. posteriormente se esterilizaron en la olla de presión a una temperatura alrededor de 121 °C, una vez que el manómetro indicó 15 libras/pulgada<sup>2</sup> (15 PSI) equivalente a 1.05 Kg/cm<sup>2</sup>, después de transcurrido 15 a 20 minutos, se dejó que la presión baje completamente para poder abrir la tapa y se sacó el material.

Para estimar el porcentaje de germinación se realizó una suspensión de conidios de *T. harzianum* en tubos de ensayo para lo cual se tomó una pequeña cantidad (1 gota) del formulado con la punta de una pipeta Pasteur estéril y se depositó en el tubo que contenía 10 ml de agua estéril, se agregaron 2 gotas de dispersante, posteriormente se agitó vigorosamente.

En seguida se tomó tres gotas de la suspensión y se depositaron en cajas Petri con medio de cultivo (papa dextrosa agar PDA) previamente esterilizadas, con ayuda de una varilla de vidrio las gotas depositadas se extendieron; por ultimo, las cajas fueron selladas con cinta transparente (Kleen pack).

Se realizaron cuatro repeticiones por cada muestra para ser analizada. El material se mantuvo a 26 °C por 16 horas y se determinó el porcentaje de viabilidad. En seguida se dividió la caja en cuatro partes marcando la caja por la parte inferior con un marcador permanente; con ayuda del microscopio compuesto, con el objetivo 40X se contaron 100 conidios incluyendo los germinados y no germinados en cada porción de la caja dando un total de 400 conidios por caja por cuatro repeticiones. El criterio para considerar un conidio como germinado es que su tubo germinativo sea igual o mayor al tamaño del conidio (Elósegui *et al.*, 2003).

### **Conteo de Esporas de Formulado de *T. harzianum***

Con la ayuda de una balanza PIONEER marca OHAUS se pesó 1 gr de *T. harzianum* extraído con diatomita, el cual se introdujo en un matraz con 500 ml de agua destilada, con un gotero se agregaron 4 gotas de dispersante Tween 20 y se agitó hasta que las esporas estén completamente homogenizadas.

Se limpiaron individualmente la cámara Neubauer y el cubreobjetos, ya limpios se colocó el cubreobjetos sobre en el área de conteo de la cámara; con una pipeta Pasteur se tomó una alícuota y se colocó en una ranura de la cámara procurando llenar solamente el área del cubreobjetos y se dejó reposar la solución por 1 minuto para que las esporas se asienten o estabilicen su movimiento; posteriormente se colocó la cámara en el microscopio compuesto enfocado con el objetivo 4x, una vez ubicada la cuadrícula central de la cámara se cambió el objetivo 40x y se inició el conteo de esporas.

De los 25 cuadros de la parte central de la cámara se contaron las esporas que estuvieron dentro de los 4 cuadros de las esquinas y el cuadro central, cuidando de no hacer dobles conteos basándose en las tres líneas blancas que delimitan a cada cuadro, con esto se pudo definir cuáles son los conidios que se deben de contar, se contaron los conidios que estuvieron en la primera línea de arriba y de la línea derecha, no se contaron los de la líneas de abajo y de la izquierda.

Una vez contados los 5 cuadros, se procedió hacer la suma y se obtuvo la media por cuadro, se multiplicó por 25 que es el total de cuadros en la cámara Neubauer, esto nos dio una estimación del total de esporas en toda la cámara; El resultado se multiplicó por el factor de dilución (la cantidad de agua en que fue suspendido el hongo formulado) que es igual a 500 ml de agua, en seguida se multiplica por 10000 que es constante (el volumen de agua en la cámara de Neubauer es una diezmilésima parte de un mililitro) (Cañedo *et al.*, 2004).

### **Esterilización del Humus de Lombriz**

El Humus de lombriz se molió en un motero con pistilo de porcelana para su manejo durante la encapsulación de las semillas de tomate, el cual se esterilizó 500 g en una olla de presión a 120 °C por 15 a 20 min, y por separado se mantuvieron 500 g sin esterilizar para utilizar en otro tratamiento.

## **Obtención de Semillas Fértiles de Tomate Saladette por el Método de Flotación**

Para la selección de las semillas para encapsular se utilizó el método descrito por Arriaga *et al.* (1994) cortamos tomates por la mitad para extraer las semillas, estas se depositaron en un recipiente, las semillas obtenidas se lavaron con agua corriente para eliminar la pulpa, después se pasó por un colador para quitar el resto de pulpa, posteriormente se colocaron en un recipiente con agua agitándolo para dispersar la semillas, se dejó reposar 24 hrs, las que flotaron se desecharon, las semillas que precipitaron se pusieron a secar a temperatura ambiente por 24 hrs, una vez secas se volvieron a colocar en un recipiente con agua agitándose para dispersar las semillas, se dejó por 24 hrs, se desecharon las que flotaron y las semillas que precipitaron se seco a temperatura ambiente por 24 hrs es la que se recolecta como semilla viable, procuramos que el tamaño de semilla fuese uniforme.

### **Proceso de Encapsulación de Semillas de Tomate**

Basándonos en el método de peletizado para un kilogramo de semilla, empleado por Redenbaugh (1993) Se utilizó una balanza analítica en la cual se pesaron 48 semillas de tomate para cada tratamiento, pesando así: 0.000591 g de *T. harzianum*, 0.1 gr de fécula de de maíz (para un 1 % de espesor), 0.3182 g de Humus de Lombriz, y 0.033 de azúcar morena para un total de 5 tratamientos, posteriormente se hicieron las mezclas correspondientes.

Se midió 10 ml de agua con una probeta graduada, en un vaso de precipitado se calentó el agua a fuego lento, se agregó 0.1 g de fécula de maíz y 0.033 g de azúcar morena poco a poco, agitando durante 10 a 15 min hasta que quedó con una consistencia adecuada, se dejó enfriar para solidificarse en gel.

Se colocaron las 48 semillas de tomate en caja petri, posteriormente fueron recubiertas agregando 2.5 ml de gel de fécula de maíz, estas se pasaron en las cajas petri que contenían la mezcla de Humus de Lombriz (0.3182 g) y *T. harzianum* (0.000591 g) según los tratamientos descritos en el cuadro 3.

### **Prueba de Germinación de las Semillas de Tomate Encapsuladas con los Diferentes Tratamientos**

Se utilizaron cajas petri, algodón, sellador (kleen pack) y plumón, en cada caja petri se colocó algodón y sobre el, 15 semillas para cada tratamiento con cuatro repeticiones, y se agregó, con una probeta graduada, 10 ml de agua destilada; se incubaron a la cámara de germinación a 25 °C. Las observaciones se realizaron a las 24, 48 y a las 72 hrs; se evaluó el porcentaje de germinación de cada uno de los tratamientos, se tomó como criterio: plantas sanas, sin deformaciones, de buen vigor y germinación rápida según (Copeland y McDonald, 2001).

### **Evaluación de Presencia de Crecimiento de *T. harzianum* en Semillas Encapsuladas**

Se utilizó Papa Dextrosa Agar (PDA) como medio de cultivo; se suspendieron 39 g de PDA en un litro de agua purificada, se calentó con agitación suave hasta que quedó disuelto el polvo; se esterilizó en una olla de presión a 120°C (15 libras de presión) durante 15 min. Se dejó enfriar a una temperatura de 45 a 50°C y se vació en placas de petri estériles (Waller *et al* 2001).

La siembra se realizó con tres semillas encapsuladas de cada tratamiento arrastrando de un extremo a otro de la caja; se selló con cinta adherible (kleen pack) y con un plumón se anotaron los datos correspondientes y se metió a la cámara de incubación a 26 °C y se realizó la observación y la evaluación a las 72 hrs.

### Siembra Preliminar a la Evaluación de los Diferentes Tratamientos

Se realizó la siembra de semillas en charolas de unicel con doce cavidades con sustrato de peat moss, con riegos periódicamente para mantener una buena humedad para favorecer la germinación de las semillas. Estas se sembraron sin darle ningún control preventivo para enfermedades de suelo. Se tomó suelo de plantaciones de tomate, la cual fue disuelta en agua, se filtró y con el agua obtenida se estuvo regando durante 48 días con el fin de inocular los patógenos.

### Siembra de Semillas Encapsuladas con los Diferentes Tratamientos

La siembra se realizó en las charolas y con el mismo sustrato que fue utilizado en la siembra preliminar a la evaluación.

**Cuadro 3.** Tratamientos evaluados de encapsulación de semillas con Humus de Lombriz y *T. harzianum* para la protección fitosanitaria quedó de la siguiente manera. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

Tratamiento		Repeticiones			
1	Humus de Lombriz sin esterilizar + <i>T. harzianum</i>	1	2	3	4
2	Humus de Lombriz estéril a 120° C + <i>T. harzianum</i>	1	2	3	4
3	<i>Trichoderma harzianum</i>	1	2	3	4
4	Humus de lombriz sin esterilizar	1	2	3	4
5	Testigo	1	2	3	4

Dosis: 0.3182 g de humus de lombriz/0.00015919 g de *T. harzianum*

Dosis: fécula de maíz para encapsular 0.1 g/0.033 g azúcar morena /10 ml de agua.

### **Evaluación de Sustratos de los Diferentes Tratamientos**

Se obtuvieron muestras de sustrato de cada uno de los tratamientos, estos se colocaron en cajas petri estériles con humedad suficiente en un lugar fresco; En diferentes recipientes con agua estéril, se sumergió el sustrato de los diferentes tratamientos por 24 hrs y se recolectó la materia orgánica flotante, la cual se desinfectó con una solución de cloro al 3 % en matraces de 100 ml por 5 minutos. Se escurrió con diferentes coladores, estos se pusieron en matraces con agua esterilizada por 5 min para quitar el exceso de cloro, y se repite el proceso, finalmente se colocaron en papel estéril para su secado por 48 hrs a temperatura ambiente.

Se trituró el sustrato seco de los tratamientos, la siembra se realizó en cajas petri con PDA en una cámara bioclimática, se sembraron cuatro repeticiones para cada tratamiento, espolvoreando el sustrato en cada uno de las cajas petri con PDA; se sellaron con (kleen pack) con sus respectivos datos procurando evitar la contaminación con un mechero de alcohol, se metieron a incubar a 26 °C. La observación de crecimiento de hongos fitopatógenos y *T. harzianum* se realizó a las 72 hrs mediante un microscopio compuesto (Mueller *et al.*, 2004).

### **Evaluación de las Plántulas de los Diferentes Tratamientos**

La evaluación se realizó a los 50 días de su desarrollo de la plántula, para ello, se lavaron las plántulas con agua corriente de la llave quitando el sustrato dejando limpios la raíz y la plántula. Se tomaron medidas utilizando regla y vernier para medir: crecimiento de raíz, grosor de tallo, crecimiento de plántula de cada uno de los tratamientos. Utilizando una balanza analítica se pesó la masa fresca de las repeticiones de cada uno de los tratamientos.

La deshidratación de las plántulas se realizó en un horno de secado 50 °C durante 72 hrs, en la cual se pusieron las plántulas en sobres de papel estraza. Se realizó el peso seco de la plántula completa en una balanza analítica de las repeticiones de cada uno de los tratamientos. Registrando la información en el cuaderno de datos.

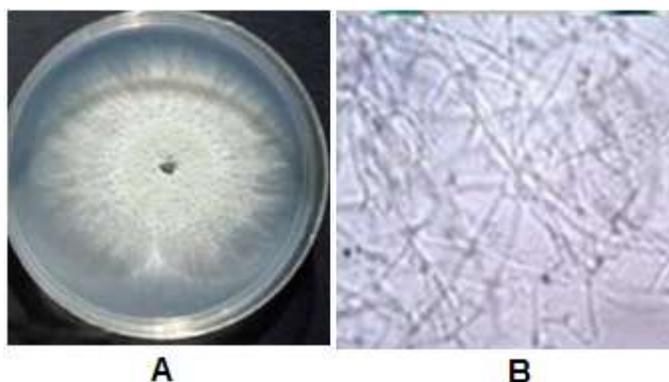
### **Análisis Estadístico**

A los 50 días se midieron las variables de altura, longitud de raíz, peso fresco y peso seco de las plantas. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza con un diseño completamente al azar, utilizando el programa estadístico FAUANL versión 2.5, la comparación de medias con la prueba de Tukey al 0.05 % de significancia.

## RESULTADOS Y DISCUSION

### Evaluación de Viabilidad de Formulado de *T. harzianum*

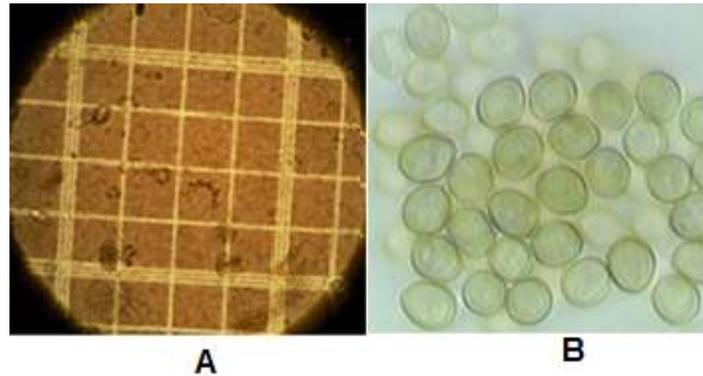
El conteo de los conidios germinados de *T. harzianum* de las cuatro repeticiones fueron: 398, 399, 400 y 399 equivalente a 99.5 %, 99.75 %, 100 % y 99.75 % respectivamente, con una media de germinación de 399 dando un porcentaje final de 99.75 % de viabilidad (Figura 1). Estos resultados son similares a lo reportado por Rodríguez y Gato (2010), con un 95 % de germinación de conidios de *Trichoderma* de un producto comercial.



**Figura 1.** **A** *T. harzianum* en medios PDA. **B** Crecimiento y reproducción del *T. harzianum* vista en un microscopio compuesto. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

### Conteo de Esporas de Formulado de *T. harzianum*

El conteo de esporas de cada uno de los cuadros de la cámara Neubauer fueron de: 18, 20, 21, 19 y 17, dando una suma de total de 95 esporas y un promedio de 19 esporas por cuadro, el resultado final del formulado es de  $2.375 \times 10^9$  esporas/gr (Figura 2). En un trabajo de Microencapsulados de *Trichoderma* realizado por Díaz (2011) utilizada en plantas de Chile a una concentración  $1 \times 10^8$  esporas/ml, donde las plantas inoculadas resultaron con mayor incremento que las no tratadas.



**Figura 2.** **A** *T. harzianum* en la cámara Neubauer  $2.375 \times 10^9$  esporas/gr. **B** Esporas de *T. harzianum* vista en microscopio convencional. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

### **Obtención de Semillas Fértiles de Tomate Saladette por el Método de Flotación**

Con tres kg de tomate se obtuvo 1300 semillas para realizar todas las pruebas de laboratorios y para la encapsulación con los diferentes tratamientos (Figura 3). Similares las que obtuvo Luna (2006), en el proceso de extracción de semillas fértiles de tomate, la cual en un gramo equivalente a un promedio de 400 semillas viables.



**Figura 3.** **A** Extracción de semillas del fruto de tomate **B** Semilla de tomate para siembra de los diferentes tratamientos. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

### Prueba de Germinación de las Semillas de Tomate Encapsuladas con los Diferentes Tratamientos

El porcentaje de germinación de las semillas encapsuladas de tomate vario de 90% en el testigo a un 98% en los tratamientos tratados con Humus de Lombriz y *T. harzianum* (Cuadro 4). Los datos son similares a los reportados Cupull *et al.* (2003), en la germinación de semillas de cafeto peletizado con *Trichoderma virede* ( $3 \times 10^9$  UFC/mL) que aceleran y aumenta la germinación de las semillas de 90 a 95 %.

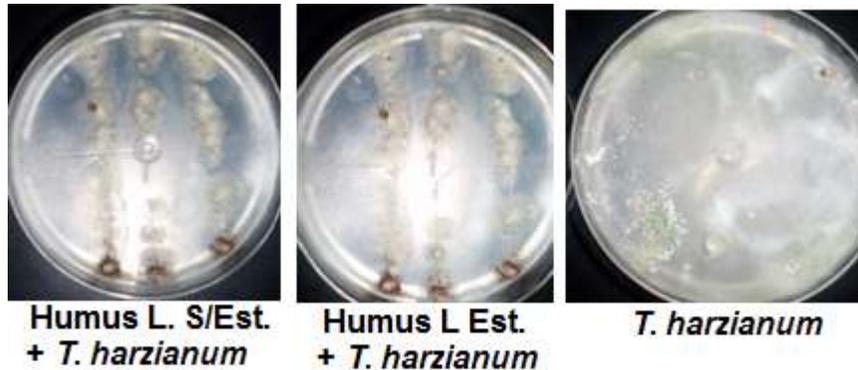
**Cuadro 4.** Porcentaje de germinación de las semillas encapsuladas con los diferentes tratamientos evaluados a las 72 hrs. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

Tratamientos	Repeticiones					
	1	2	3	4	Promedio	%
Humus Lomb. S/Est+ <i>T. harzianum</i>	15	14	15	15	14.75	98.33
Humus Lomb. Est+ <i>T. harzianum</i>	14	15	15	14	14.50	96.67
<i>T. harzianum</i>	15	14	15	15	14.75	98.33
Humus de Lombriz	15	13	14	15	14.25	95.00
Testigo	13	14	13	14	13.50	90.00

### Evaluación de Presencia de Crecimiento de *T. harzianum* en las Semillas Encapsuladas

Las semillas encapsuladas que fueron sembradas en cajas petri con medio PDA presentó crecimiento de *T. harzianum* después de 72 hrs y el hongo se caracterizó por el rápido crecimiento y su estructura de esporulación son conidios de color verde que es típico del genero citado por (Howell, 2003). Que describe a *T.*

*harzianum* como un hongo antagónico por la producción de metabolitos antimicrobianos (Figura 4).



**Figura 4.** Presencia de *T. harzianum* en la encapsulación de las semillas de tomate, sembradas en medios PDA. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

### **Evaluación de Sustratos de los Diferentes Tratamientos**

La evaluación que se realizó a las 72 hrs de los sustratos de los diferentes tratamientos, en la cual se sembraron semillas encapsuladas con Humus de Lombriz y con *T. harzianum* sembrados en medio PDA creció *T. harzianum* muy rápido según con las característica del genero son conidióforo hialino muy ramificado no verticiliado, fiáldades o en grupos, conidios hialinos citado por (Barnett y Hunter, 1972). En cuanto al sustrato en donde fue sembrada semillas encapsuladas solo con Humus de Lombriz y el sustrato donde sembró semillas testigo crecieron dos hongos fitopatógenos: *Fusarium* que se caracteriza por producir tres tipos de esporas: las microconidias, macroconidias y clamidiosporas y sus colonias de color rosa, *Rhizoctonia* este hongo posee micelio septado, ramificado aproximadamente en ángulo recto y una septa cerca de la unión, uniformemente distribuido sobre la superficie del sustrato y algunas veces agregado en cordones miceliales productores de esclerocios (Figura 5) citado por (Agrios, 2005).



**Figura 5.** A, B, C, Presencia de *T. harzianum* en los sustratos de los diferentes tratamientos. D, E Crecimiento de hongos fitopatógenos en los testigos. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

## Evaluación de las Plántulas de los Diferentes Tratamientos

### Crecimiento de Raíz de la Plántula

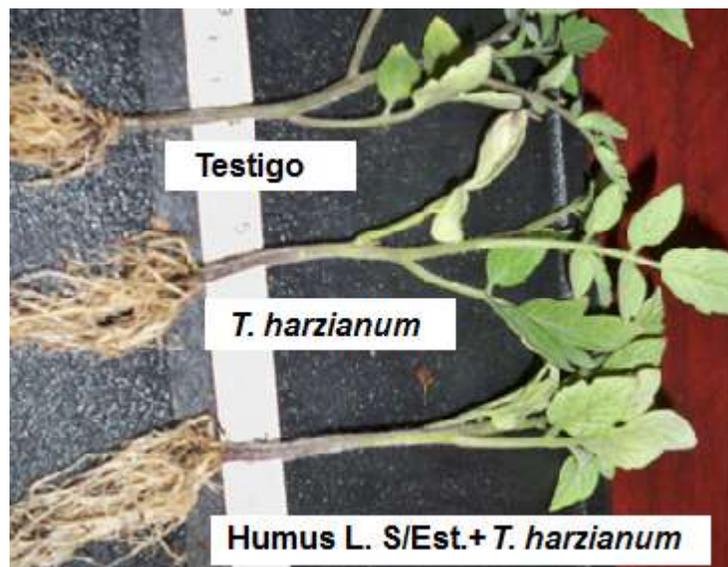
El crecimiento de raíz de la plántula varió de 12.97 cm, en plántulas del testigo (sin tratamiento alguno), a 16.72 cm en plántulas tratadas con Humus de Lombriz sin esterilizar+*T. harzianum*. El análisis de varianza detectó diferencias significativas entre los tratamientos. La prueba de Tukey indica que los tratamientos Humus de Lombriz Sin Esterilizar+*T. harzianum* y *T. harzianum* son los mejores tratamientos ya que son, estadísticamente, superiores al Testigo y a los otros tratamientos (Cuadro 5). También se observa un incremento de raíz con *T. harzianum* fue de 27.75 %, y Humus de Lombriz Sin Esterilizar+*T. harzianum* incremento en un 28.91 % con respecto al testigo (Figura 6). La mezcla que se hicieron de los tratamiento no hubo sinergismo debido a que por si solo produce un crecimiento favorable y la mezcla de las dos debería ser mayor a la suma total de los dos. Los resultados obtenidos son similares a los reportados por Díaz (2011), con Micro-encapsulados de *Trichoderma*

*asperellum* ( $1 \times 10^8$  esporas/ml) en plantas de chile, con una longitud de raíz de 174 % con respecto al testigo, debido a que se realizó en macetas.

**Cuadro 5.** Raíz expresado en cm de plántulas de tomate evaluadas a los 50 días después de la germinación con diferentes tratamientos a base de Humus de Lombriz y *T. harzianum*. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

Tratamientos	Media en cm <sup>1</sup>	
Humus Lomb. S/Est+ <i>T. harzianum</i>	16.72	A
<i>T. harzianum</i>	16.57	A
Humus Lomb. Est+ <i>T. harzianum</i>	13.37	B
Humus de Lombriz	13.22	B
Testigo	12.97	B

Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre si (Tukey  $p=0.05$ )



**Figura 6.** Crecimiento de raíz de la plántula de tomate con los mejores tratamientos contra testigo. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

### Diámetro del Tallo de la Plántula

El grosor de tallo de la plántula varió de 1.42 mm, en plántulas del testigo (sin tratamiento alguno), a 1.85 mm en plántulas tratadas con Humus de Lombriz sin esterilizar+*T. harzianum*. El análisis de varianza no detectó diferencias significativas entre los tratamientos. La prueba de Tukey indica que los tratamientos y el testigo no hay resultados significativos ya que son, estadísticamente iguales (Cuadro 6). Se observó un incremento de tallo 0.38 mm (26.76 %) con *T. harzianum*, y Humus de Lombriz Sin Esterilizar incremento en un 0.43 mm (30.28 %) con respecto al testigo (Figura 7). Similares a lo reportado por Cupull *et al.* (2003), en plantas de cafeto que fue mayor a 25 % de grosor con respecto al testigo.

**Cuadro 6.** Diámetro expresado en mm de plántulas de tomate evaluadas a los 50 días después del la germinación con diferentes tratamientos a base de Humus de Lombriz y *T. harzianum*. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

Tratamientos	Media en mm <sup>1</sup>
Humus Lomb. S/Est+ <i>T. harzianum</i>	1.85
<i>T. harzianum</i>	1.80
Humus Lomb. Est+ <i>T. harzianum</i>	1.75
Humus de Lombriz	1.75
Testigo	1.42

No se hace comparación de medias por que no hay diferencias significativas



**Figura 7.** Diámetro de tallo, sin diferencias significativas en los tratamientos con respecto al testigo. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

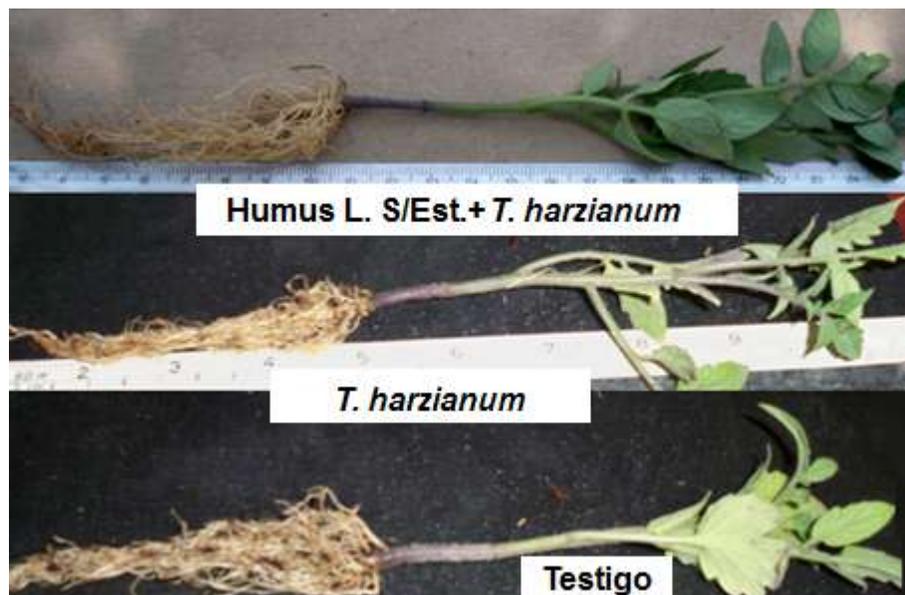
### **Altura de Plántula**

La altura de planta varió de 11.25 cm, en plántulas sin algún tratamiento, a 13.47 cm en plántulas tratadas Humus de Lombriz Sin Esterilizar+*T. harzianum*. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre los tratamientos. La prueba de Tukey indica que el Humus de Lombriz Sin Esterilizar+ *T. harzianum*, y *T. harzianum* son los mejores tratamientos ya que son, estadísticamente, superiores al testigo y a los demás tratamientos (cuadro 7). También se observó un incremento en altura de planta de *T. harzianum* de un 17.06 %, Humus de Lombriz Sin Esterilizar+ *T. harzianum* de 19.73 % con respecto al Testigo (Figura 8). Similares al reportado por Díaz (2011), con Microencapsulados de *Trichoderma asperellum* ( $1 \times 10^8$  esporas/mL) en plantas de chile con una altura de 27.6 % superior al testigo esta evaluación se realizaron en macetas con 500 g de sustrato.

**Cuadro 7.** Altura expresada en cm de plántulas de tomate evaluadas a los 50 días después de la germinación con diferentes tratamientos a base de Humus de Lombriz y *T. harzianum*. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

Tratamientos	Media en cm <sup>1</sup>	
Humus Lomb. S/Est+ <i>T. harzianum</i>	13.47	A
<i>T. harzianum</i>	13.17	A
Humus Lomb. Est+ <i>T. harzianum</i>	12.15	B
Humus de Lombriz	11.95	BC
Testigo	11.25	C

Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre si (Tukey  $p=0.05$ )



**Figura 8.** Crecimiento de las plántulas de tomate de los mejores tratamientos contra el testigo. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

## Peso Fresco

Los resultados obtenidos indican que el peso fresco de las plantas variaron de 14.99 g en el testigo absoluto, a 18.11 g utilizando las semillas encapsulada con Humus de Lombriz y *T. harzianum*. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey indica en primera y segunda instancia se encuentran el Humus Lombriz. Sin Esterilizar+*T. harzianum* y *Trichoderma harzianum* (Cuadro 8), ya que son estadísticamente superiores al testigo. Numéricamente se observó un incremento de biomasa de 17.21 % con *T. harzianum* y 20.81 % con el Humus Lombriz Sin Esterilizar+*T. harzianum*. El resultado reportado por Díaz (2011), aplicando solución de *Trichoderma asperellum* ( $1 \times 10^8$  esporas/ml) en plantas de chile el peso fresco obtuvo un incremento de 181.08 % superior al testigo, esta evaluación se realizó en macetas con 500 g de sustrato, además con un tiempo de 45 días después del trasplante.

**Cuadro 8.** Peso fresco expresado en g, de plántulas de tomate evaluadas a los 50 días después de la germinación con diferentes tratamientos a base de Humus de Lombriz y *T. harzianum*. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

Tratamientos	Media en g <sup>1</sup>	
Humus Lomb. S/Est+ <i>T. harzianum</i>	18.11	A
<i>Trichoderma harzianum</i>	17.57	B
Humus Lomb. Est+ <i>T. harzianum</i>	15.72	C
Humus de Lombriz	15.56	CD
Testigo	14.99	D

Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre si (Tukey  $p=0.05$ )



**Figura 9.** Peso fresco de los diferentes tratamientos. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

### **Peso Seco**

Los resultados obtenidos indican que el peso seco de las plantas variaron de 4.13 g en el testigo absoluto, a 5.21 g utilizando las semillas encapsulada con Humus de Lombriz y *T. harzianum*. El análisis de varianza detecto diferencias significativas entre tratamientos. La prueba de Tukey indica que el Humus Lombriz. Sin Esterilizar+*T. harzianum* es el mejor (Cuadro 9), y que es estadísticamente superior al testigo y a los demás tratamientos. Numéricamente se observó un incremento de 26.15 % de materia seca con el Humus Lombriz Sin Esterilizar+*T. harzianum*. El resultado reportado por Díaz (2011), aplicando solución de *Trichoderma asperellum* ( $1 \times 10^8$  esporas/ml) en plantas de chile el peso seco obtuvo un incremento de 128.57 % superior al testigo, esta evaluación se realizó en macetas con 500 g de sustrato, además con un tiempo de 45 días después del trasplante.

**Cuadro 9.** Peso seco expresado en g, de plántulas de tomate evaluadas a los 50 días después de la germinación con los diferentes tratamientos a base de Humus de Lombriz y *T. harzianum*. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

Tratamientos	Media en g <sup>1</sup>	
Humus Lomb. S/Est+ <i>T. harzianum</i>	5.21	A
<i>T. harzianum</i>	4.40	B
Humus Lomb. Est+ <i>T. harzianum</i>	4.28	B
Humus de Lombriz	4.24	B
Testigo	4.13	B

Medias con diferente letra son estadísticamente diferentes entre si (Tukey  $p=0.05$ )



**Figura 10.** Peso seco de los diferentes tratamientos. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

Los resultados obtenidos con las plántulas de tomate evaluadas a los 50 días después de la germinación, la cual las semillas fueron encapsuladas con *T. harzianum* mostraron un incremento radicular, foliar, peso fresco y seco fueron superiores con respecto a los demás tratamientos y al testigo absoluto resultados similares encontró Fernández *et al* (2007) utilizando un producto comercial a base de *Trichoderma* en plantas de tomate, donde las plantas inoculadas resultaron con mayor incremento que las no tratadas. Galeano *et al.* (2008), reporta, en plantas de tomate tratadas con un producto comercial a base de *Trichoderma* un mejor desarrollo radical y foliar de las plantas, en donde al final estas plantas siempre proporcionan un mayor número de frutos y por ende un mayor producción.

En un trabajo de microencapsulados de *Bacillus* y *Trichoderma* con semillas de cebolla realizado por Fernández (2008), comprueba la viabilidad de los microorganismos y de la semilla en el proceso de microencapsulación y concluye que existe un efecto de promoción de crecimiento en el cultivo por parte de los microorganismos.

La aplicación de microcápsulas tiene como resultado una liberación controlada, a través de la degradación del polímero por los microorganismos, humedad y pH del suelo (Yabur *et al.*, 2006, citado por Hernández, 2008), pero también proporciona una mayor vida de anaquel en comparación con las presentaciones líquidas, tal como lo reporta Gómez *et al.* (2008), comparando presentaciones sólidas, como polvo mojable y gránulos dispersables, en donde almacenando estos productos a 18 °C, duraron viables 18 y cinco meses respectivamente, mientras que los conidios sin formular mantuvieron su germinación aceptable hasta los tres meses, en las mismas condiciones.

## CONCLUSION

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

*T. harzianum* encapsulado en semillas de tomate es eficiente como promotor de crecimiento en la plántulas de tomate, superando al efecto promotor dado por la encapsulación de Humus de Lombriz en dicha semillas.

## LITERATURA CITADA

Agrios, N.G. 2005. Plant. Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. San Diego Cal. U.S.A. Pags. 922.

Ahmad J.S., Baker R. 1987. Rhizosphere Competence of *Trichoderma harzianum*. Phytopathol.77: 182-189.

Alexopoulos, C. J., Mims, C. W. and Blackwell, H. 1996. Introductory mycology. 4<sup>th</sup> Edition. Ed. John Wiley and Sons. Inc. New Cork. pp 632 y 869.

Anderlini, R. y López, P.J 1997 El Cultivo del Tomate. Variedades, hortalizas de fruto, cultivos, daño. 3<sup>a</sup> Edición. Editorial Mundi-prensa Madrid España. 211 p.

Apodaca, S. M. A., Zavaleta, M. E., García, E. R., Osada, K. S. y Valenzuela, U. J. G. 2002. Frecuencia de campos infestados con *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en Sinaloa, México y su control. Revista Mexicana de Fitopatología 20:1-7.

Aquino, M. J. G; Vázquez, G. L. M., Reyes, R. B. G. 2008. Biocontrol *in vitro* e *in vivo* de *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi* Snyder y Hans., con hongos antagonistas nativos de la zona florícola de Villa Guerrero, Estado de México. Revista Mexicana de Fitopatología, 26:127-137.

Arriaga, V.; Cervantes, V.; Vargas-Mena, A. 1994. Manual de reforestación con especies nativas. Secretaria de Desarrollo Social, Instituto Nacional de Ecología. Universidad Nacional Autónoma de México. 186 pp.

Barnett, H.L., y Hunter, B.B. (1972). Illustred genera of imperfect fungi 3<sup>a</sup> Ed. Minneapolis: Burgess Publishing Company.

Campbell, R. y Macdonald, R. 1989. Microbial inoculation of crops plants. Society for General Microbiology. Vol 25. Oxford University. New York, USA. 118 - 140 p.

Cañedo V., Ames T. 2004. Manual de Laboratorio para el Manejo de Hongos Entomopatógenos. Lima, Perú; Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú, 62 p. Consultado el 23 de julio de 2011. Disponible en:

<http://www.cipotato.orglibrarypdfdocsAN65216.pdf>

Casseres, E. (1981). Producción de Hortalizas. 3<sup>a</sup> Edición. 1<sup>a</sup> Reimpresión. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica, C.A.

Copeland, L. O., and M. B. McDonald. 2001. Principles of seed science and technology. 4th ed. Kluwer Academic Publishers, U.S.A. 467 pp.

Cupull, S. R., C. C. Sánchez., C. Andreu., María del C. Cupull y Pérez, N. C. (2003). Efecto de *Trichoderma* y *Azotobacter* en el control de *Rhizoctonia solani* y la estimulación del crecimiento de posturas de cafetos. Rev. De Fitopatología y Entomología XVII (66): 203-206.

Dehgan B. and C.K.K.H Yuen (1983) Seed morphology in relation to dispersal, evolution and propagation of *Cycas* L. Botanical Gazette 144:412-418

Dehgan, B. and B. Schutzman (1989) Embryo development and germination of *Cyca* seeds. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 114(1):125-129.

Díaz, G. J. D. 2011. Micro-encapsulación de *Trichoderma asperellum* y su efecto antagónico sobre *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, en plantas de chile (*Capsicum annum*). Tesis de Licenciatura, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Depto. De Parasitología. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 42 p.

Elósegui, O., A. Carr. (2003). Hongos entomopatógenos y antagonistas. Principales grupos. Características. Aislamiento, identificación y caracterización de hongos entomopatógenos y antagonistas. Métodos de conservación. En: Memorias del Curso Internacional "Producción y uso de Bioplaguicidas en Diferentes Agroecosistemas, INISAV, La Habana, Nov. 2003.

Eveleigh D.E., Demain A.L., Solomon, N. 1986. *Trichoderma*. Biology of industrial microorganisms. Biotech Ser. (Ed). Cap.16: 489-500.

FAO. 2002. Agroinformación – El cultivo del tomate. 3ª parte. El origen del tomate. Taxonomía y morfología. Países y producción. Factores climáticos y suelo. Consultado el 19 de junio 2011. Disponible en:  
<http://www.infoagro.com/hortalizas/tomate3.htm>

Fernández, H. E., Acosta, R. M., Ponce, G. F. y Manuel, P. V. 2007. Manejo biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum* Schlechtend y *Rhizoctonia solani* Kühn en Jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista Mexicana de Fitopatología 25:35-42.

Fernández, A. O. 2008. Microencapsulación de *Bacillus* y *Trichoderma* en semilla de Cebolla y Su Efecto en el Desarrollo y Producción del cultivo. Departamento de Parasitología. División de Agronomía. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila, México. Tesis de Licenciatura 48 p.

Floquer, F. (1976). El tomate. 1ª Edición. Editorial Hemisferio sur. Buenos Aires, Argentina. pp. 1- 53.

Galeano, M., Fernández, P., Lorente, M. J., Téllez, M. M., y Belda, J. E. 2008. Efectos de la aplicación de la T-22 de *Trichoderma harzianum* (TRIANUM) en cultivos hortícolas en España. Memoria del X Congreso Mundial de *Trichoderma* y *Gliocladium*. Universidad Nacional de Costa Rica. Resumen p. 33.

Gómez, M.I., Villamizar, L. F., Díaz, A., Garzon, C., Moreno, C. A., y Cotes, A. M. 2008. Centro de Biotecnología y Bioindustria, Cundinamarca. Colombia. Memorias del X congreso Mundial de *Trichoderma* y *Gliocladium*. Resumen p. 16.

González, A. 1999. Proyecto de Lombricultura Programa Nacional Agricultura Orgánica. San José, Costa Rica.

González, S.C.H., Rodríguez, L.L., Arjona, C., Puertas, A., y Fonseca, M. 1999. Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* R. sobre la composición cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizosfera de Solanáceas y su influencia en el crecimiento vegetativo. Investigación Agraria Producción y Protección Vegetales 14:297-306.

Guigon, L.C. y González, G. P. 2001. Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. Revista Mexicana de Fitopatología 19:49-56.

Harman G. 2003. *Trichoderma harzianum*, *T. viridis*, *T. koningii*, *T. hamatum* (Deuteromycetes: Moniliales). Consultado: 23 julio 2011. Disponible en: <http://www.javeriana.edu.co/biblos/tesis/ciencias/tesis98.pdf>

Harman G. E. 2004. Mythos and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derive from research on *Trichoderma harzianum* T22. Plant Dis. 84:377-393.

Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology 96:190-194.

Hernández, F. D., Osorio, E., Lara, F., Morales, G., Rodríguez, R. 2008. Estudios *in vitro* de *Trichoderma* como agente de control biológico de la costra negra de la papa (*Rhizoctonia solani*). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro,

Departamento de Parasitología, Coahuila, México. Memoria del X Congreso Mundial de *Trichoderma* y *Gliocladium*, Universidad Nacional de Costa Rica. Resumen p 24.

Hernández, S. M. 2008. Biocontrol de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* con microencapsulados de *Bacillus subtilis* y su efecto en el crecimiento y rendimiento de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill). Tesis de Maestría, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Depto. De Parasitología. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. 64 p.

Hjeljord L., Tronsmo A. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In: *Trichoderma & Gliocladium: Enzymes, biological control and commercial applications*. Harman G.E., Kubice CP. (Eds). 2:131-151.

Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Dis* 87, 4-10.

INIAP, 2011. Alternativas para el manejo de las enfermedades del suelo en el cultivo de la papa. Boletín de prensa No. 002. Quito. Ecuador. Consultado el 20 julio 2011. Disponible en:

[http://www.elciudadano.gov.ec/index.php?option=com\\_content&view=article&id=20125:magap-presenta-alternativas-para-el-manejo-de-las-enfermedades-del-suelo-en-el-cultivo-de-la-papa&catid=1:archivo&Itemid=29](http://www.elciudadano.gov.ec/index.php?option=com_content&view=article&id=20125:magap-presenta-alternativas-para-el-manejo-de-las-enfermedades-del-suelo-en-el-cultivo-de-la-papa&catid=1:archivo&Itemid=29)

Krishna-Pal, K., y McSpadden, B. 2006. Biological control the plant diseases. Department of Plant Pathology, Ohio State University. Consultado el 18 de Julio del 2011. Disponible en:

<http://www.apsnet.org/education/AdvancedPlantPath/Topics/biolcontrol/default.htm>

López, P.J. (1976). El Cultivo del Tomate. Ediciones Mundi-Prensa. Tercera Edición. Madrid, España. pp. 1-36.

Luna, C. F. E. 2006. Proceso de extracción y beneficiado de semillas híbridas de tomate (*Lycopersicon esculentum* Miller). Tesis de Licenciatura, Universidad de San Carlos de Guatemala, Facultad de Agronomía, Instituto de Investigaciones Agronómicas. San Pedro Pinula, Jalapa, Guatemala. 44 p.

Martínez, B., Fernández, L., Solano, T. 1994. Antagonismo de cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. *Cultivos Tropicales*. 15(3):54.

Michel, A. C., Otero, S. M. A., Solano, P. L.Y., Ariza, F. R., Barrios, A. A. y Rebolledo, M. A. 2009. Biocontrol *in vitro* con *Trichoderma* spp. de *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *F. oxysporum* Schlecht., agentes causales de la “escoba de bruja” del mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 27:18-26.

Minchala, V. T. P., Moreira, B. V. A. 2007. Proyecto de Inversión para la Elaboración de Productos con Microorganismos para el Control de las Enfermedades de las Plantas. Facultad de Ciencias Humanísticas y Económicas. Escuela Superior Politécnica del Litoral. Guayaquil-Ecuador. Tesis de Grado, 150 p.

Mueller, G., Bills, G., Foster, M. 2004. Biodiversity of fungi: Inventory and monitoring methods. Elsevier Academic. Press. Londres. 777 pg.

Pauliitz, T. y Belanger, R. 2001. Biological control in greenhouse systems. *Annual Review of Phytopathology (USA)* 39: 103 – 133.

Pérez M., L., Duran, O, L. J., Ramírez M. R., Sánchez, P., J, R., Olalde, P. V. 2004. Sensibilidad *in Vitro* de aislados del hongo *Phytophthora capsici* a fungicidas. Memorias primera convención mundial del chile. León Guanajuato, México. pp. 144-150.

Pimienta, A. R. 2004. Ácidos Húmicos y Fúlvicos de Origen Orgánico en el Crecimiento de Plántula de Tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en invernadero. Tesis de Licenciatura en Producción. UAAAN. Buenavista Saltillo Coahuila. México.

Redenbaugh, K. 1993. Synseeds: application of synthetic seeds to crop improvement. Primera ed. CRC Press, Inc. (Ed). Corportate Blvd., Boca Raton, Florida, Estados Unidos de Norteamérica. 129 p.

Rick M., Ch. 1976. Tomato In: Evolution of Crop Plants. Edited by N. W. Simmonds. Longman. London y New York.

Rincón, V.F.J. y Velásquez, V.R. 1999. Combate químico de pudriciones radicales de chile (*Capsicum annuum* L.) en Zacatecas. Programa y Notas Científicas. VIII Congreso de Horticultura. Manzanillo, Colima, México. 137 p.

Rodríguez, B. D y Gato, C. Y. 2010. Métodos alternativos en la conservación de *Trichoderma harzianum* Rifai. Vol. 14, núm. 4, Diciembre. pp. 241-246.

Romero, C. S. 1993. Hongos fitopatógenos. Primera reimpresión en español, Dirección del patronato, Universidad Autónoma de Chapingo. Ed. UACH. México. P 347

Sandoval, B. C., 2004. Manejo Integrado de Enfermedades en Cultivos Hidropónicos. Manual Técnico. Universidad de Talca, Chile. 53 p.

Sid Ahmed A., Perez - S. c, y Candela M.E. 2000. Evaluation of induction of systemic resistance in pepper plants (*Capsicum annum* L,) to *Phytophthora capsici* using *Trichoderma harzianum* and its relation with capsidiol accumulation. European J. of plant pathology, 106: 817-824.

Van Haeff, J. N. 1995. Manuales de Tomates para educación agropecuaria. Área: Producción Vegetal. 2ª Edición. Editorial Trillas México, D.F. pp. 16.

Vázquez, V. J. J. 2009, Determinación in vitro de las Propiedades Fungicidas de los Ácidos Fúlvicos en *Fusarium moniliforme* (Sheldon) y *Trichoderma harzianum* (Rifai). Tesis de Licenciatura, Departamento de Agrobiología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. 88 p.

Velázquez, V. R., Medina, A. M. M. y Macías, V. L. M. 2003. Reacción de líneas avanzadas de chile (*Capsicum annuum* L.) provenientes de Zacatecas a enfermedades comunes en Aguascalientes, México. Revista Mexicana de Fitopatología 21:71-74.

Vero, S. M., Mondino, P. 1999. Control biológico de postcosecha en Uruguay. Horticultura Internacional 7:1-10.

Waller, J.M., Lenne, J.M. y Waller, S.J. 2001. Plant Pathologist's Pocketbook. Tercera edición. CABI Publishing, Wallingford, Reino Unido. 516 p.

Yáñez, F. J., Salazar, M. J. A., Chaires, M. L., Jiménez, H. J., Márquez, R. M., y Ramos, R. E. G. 2002. Aplicaciones biotecnológicas de la microencapsulación. Departamento de Biotecnología del Cinvestav. 313-319 pp.

## **APÉNDICE**

**Cuadro 10. Datos del Experimento.** Plántulas tratadas con humus de lombriz y *Trichoderma harzianum*. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

Tratamientos	Repeticiones	Raíz (cm)	Tallo (mm )	Altura (cm)	Peso Fresco (g)	Peso seco (g)
1	r1	18.0	1.8	14.0	17.72	4.84
1	r2	16.4	1.9	13.1	18.61	5.56
1	r3	17.2	1.9	13.5	18.30	5.45
1	r4	15.3	1.8	13.3	17.83	4.99
2	r1	13.8	1.8	12.1	15.12	4.65
2	r2	13.2	2.0	12.0	15.71	4.04
2	r3	13.1	1.9	12.2	15.66	3.80
2	r4	13.4	1.3	12.3	15.75	4.47
3	r1	14.3	1.8	13.1	16.68	4.22
3	r2	20.7	1.9	13.5	17.37	4.57
3	r3	14.2	1.5	12.3	17.13	4.42
3	r4	17.1	2.0	13.8	16.85	4.42
4	r1	13.9	2.0	12.5	15.50	4.78
4	r2	13.5	1.8	11.6	16.52	4.92
4	r3	12.7	1.6	11.7	15.55	3.29
4	r4	12.8	1.6	12.0	15.32	4.14
5	r1	12.3	1.8	10.0	15.50	4.34
5	r2	12.6	1.3	10.9	15.42	4.02
5	r3	13.8	1.2	12.0	14.65	4.21
5	r4	13.2	1.4	12.1	14.41	3.97

**Cuadro 11.** Análisis de varianza para longitud de raíz de la plántula. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

---

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr&gt; F</b>
Tratamiento	4	57.780273	14.445068	6.2447	0.004
Error	15	34.697754	2.313184		
Total	19	92.478027			

---

C.V. = 10.44 %

**Cuadro 12.** Análisis de varianza para diámetro de tallo de plántula. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

---

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr&gt; F</b>
Tratamiento	4	0.448002	0.112000	2.2178	0.116
Error	15	0.757504	0.050500		
Total	19	1.205505			

---

C.V. = 13.10 %

**Cuadro 13.** Análisis de varianza para altura de plántula. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

---

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr&gt; F</b>
Tratamiento	4	13.374512	3.343628	9.5988	0.001
Error	15	5.225098	0.348340		
Total	19	18.599609			

---

C.V. = 4.76 %

**Cuadro 14.** Análisis de varianza para peso fresco de planta completa. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr&gt; F</b>
Tratamiento	4	25.506348	6.376587	33.7797	0.000
Error	15	2.831543	0.188770		
Total	19	28.337891			

C.V. = 2.67 %

**Cuadro 15.** Análisis de varianza para peso seco de plántula completa. Departamento de Parasitología. UAAAN. 2011.

<b>F.V.</b>	<b>G.L.</b>	<b>S.C.</b>	<b>C. M.</b>	<b>F Value</b>	<b>Pr&gt; F</b>
Tratamiento	4	3.002747	0.750687	4.2828	0.016
Error	15	2.629181	0.175279		
Total	19	5.631927			

C.V. = 9.40 %