

**CONTROL DE *Fusarium verticillioides* EN GENOTIPOS DE MAÍZ CON
ESPECIES DE *Trichoderma* BAJO CONDICIONES DE CAMPO**

EPIFANIO CASTRO DEL ANGEL

TESIS

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

Buenavista, Saltillo, Coahuila, México.

Junio 2013

**CONTROL DE *Fusarium verticillioides* EN GENOTIPOS DE MAÍZ CON
ESPECIES DE *Trichoderma* BAJO CONDICIONES DE CAMPO**

**TESIS
presentada por:**

EPIFANIO CASTRO DEL ANGEL

ELABORADA BAJO LA SUPERVISIÓN DEL COMITÉ PARTICULAR DE
ASESORÍA Y APROBADA COMO REQUISITO PARCIAL, PARA OPTAR
AL GRADO DE

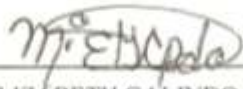
**MAESTRO EN CIENCIAS
EN PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

COMITÉ PARTICULAR



M.C. ABIEL SÁNCHEZ ARIZPE

ASESOR PRINCIPAL



Dra. Ma. ELIZABETH GALINDO CEPEDA

ASESOR



Dr. MARIO ERNESTO VÁZQUEZ BADILLO

ASESOR



Dr. FERNANDO RUÍZ ZARATE

SUBDIRECTOR DE POSTGRADO

Buenvista, Saltillo, Coahuila. Junio 2013

AGRADECIMIENTOS

A mi Dios por darme la oportunidad de vivir y permitirme lograr una meta más en mi carrera, por estar conmigo en todo momento de angustia y desesperación.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología por haber proporcionado la beca para que llevara a cabo el postgrado.

A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por permitir formarme como profesionista.

Al M.C. Abiel Sánchez Arizpe, por depositar su confianza en mí y permitir la realización de este trabajo, por las aportaciones a esta investigación, como también la revisión de la misma, por sus consejos y su amistad incondicional.

A la Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda por la revisión y aportes a este trabajo, por sus consejos y amistad brindada.

Al Dr. Mario Ernesto Vázquez Badillo por la revisión de este trabajo y apoyarme en gestiones para conseguir el genotipo UAAAN-ISP-173.

Al Grupo Hernández Montiel y Asociados S.P.R de R.L. por haber facilitado los genotipos H-520 y Mestizo Diamante.

Al Banco Nacional de Germoplasma de Maíces de México de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por proporcionar el genotipo UAAAN-ISP-173.

A la M. C. Angélica María Berlanga padilla por proporcionar las cepas de antagonistas.

Al señor Alfredo Castro Peña por haber prestado el terreno donde se estableció el experimento y por la preparación del mismo.

Al Ing. Ramsés Castro del Ángel, por ayudarme a establecer el experimento, por atenciones al cultivo hasta la cosecha, siempre dispuesto a apoyarme, nunca descuidó la atención del mismo.

Al M.C. Antonio Cárdenas Elizondo por sus sabios consejos y por brindarme su amistad.

A la T.Q.L. Sílvia Ovalle Nava por facilitar reactivos y permitir que el trabajo se llevara a cabo en el laboratorio de Fitopatología, por su amistad y sus consejos.

A la T.Q.L. María Cristina Sánchez Flores, por proporcionar algunos de los reactivos utilizados en esta investigación, por su amistad brindada.

DEDICATORIA

A mis padres:

Alfredo Castro Peña y Rafaela del Ángel Hilarario

Papá y mamá: gracias por todos los bellos momentos que hemos vivido, por sus consejos, sus regaños, los cuales me sirvieron mucho para madurar, gracias por educarme tal como lo hicieron, pero sobre todo por su amor y cariño brindado siempre, los amo.

A mis Hermanos:

Alfredo, Ramsés y Yari

Gracias hermanos por darme su amor y cariño, hemos vivido tantos momentos juntos que en realidad apreció tanto, gracias por darme su amistad, los quiero mucho.

A mi novia:

Gracias werita hermosa! por todos los bellos momentos vividos, por tu comprensión y amor, que Dios nos permita más tiempo juntos.

A los compañeros de postgrado:

A Chava, Faby, Livís, Chacón, Omegar, Rebe, Daniel, Machuca por su amistad incondicional y todos los demás que en algún momento compartimos un espacio o simplemente una plática.

COMPENDIO

**CONTROL DE *Fusarium verticillioides* EN GENOTIPOS DE MAÍZ CON
ESPECIES DE *Trichoderma* BAJO CONDICIONES DE CAMPO**

POR

EPIFANIO CASTRO DEL ANGEL

MAESTRÍA EN CIENCIAS

PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. JUNIO 2013

M.C. Abiel Sánchez Arizpe-Asesor-

Palabras clave: incidencia, severidad, efectividad biológica, tratamientos.

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo el biocontrol de *Fusarium verticillioides* con especies de *Trichoderma*, el experimento se estableció en el ejido Chapopote II, Chalma, Veracruz, bajo condiciones de temporal e infección natural de *F. verticillioides*, se sembraron cuatro genotipos de maíz inoculados (10g/kg de semilla) y sin inocular con *Trichoderma* en un diseño de bloques al azar con arreglo factorial AxBxC con cuatro repeticiones por tratamiento, al momento de la floración se aplicó en tres oportunidades la formulación líquida a una concentración de 1×10^9 esporas/ml, para confirmar la efectividad de *Trichoderma*, se tomaron 20 mazorcas al azar por cada repetición y se determinó la incidencia de pudrición y la severidad de acuerdo a la escala de Reid *et al.* (1996), para la incidencia de *F. verticillioides* se seleccionaron 100 granos asintomáticos

al azar en una muestra compuesta de un kilogramo, se sembraron en medio de cultivo verde de malaquita agar e incubaron a 28 ± 2 °C por dos semanas, la severidad se ajusto a una media ponderada y se procesó por la prueba de Friedman, la incidencia mediante un análisis de varianza, se adaptó la formula de Abbott (1925) para obtener el porcentaje de efectividad, se determinó incidencia de 58.81% en tratamiento a semilla más aplicación mediante aspersión evaluadas juntas, seguida por aplicación por aspersión con 65.32% y 77.56% en tratamiento a semilla, la severidad se comportó baja en los tres tratamientos, el tratamiento a semilla más aplicación mediante aspersión evaluadas juntas presentó la severidad más baja (2.36%) comparado con el testigo (10.89%), la cepa que controló significativamente ($P < 0.01$) al patógeno fue *T. harzianum* T1 4 presentando 47.42%, seguida por *T. longibrachiatum* T1 40 con 58.67% y *T. asperellum* T 11 66.58%, las tres especies de *Trichoderma* redujeron la incidencia y severidad del patógeno en las tres técnicas utilizadas, se obtuvo arriba de 50% de eficiencia técnica en tratamiento a semilla mas aplicación por aspersión evaluadas juntas.

COMPENDIUM

Fusarium verticillioides CONTROL IN MAIZE GENOTYPES OF *Trichoderma*
ESPECIES UNDER FIELD CONDITIONS

BY

EPIFANIO CASTRO DEL ANGEL

MASTER OF SCIENCE

AGRICULTURAL PARASITOLOGY

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

BUENAVISTA, SALTILLO, COAHUILA. JUNE 2013

M.C. ABIEL SÁNCHEZ ARIZPE-ADVISORY-

Keywords: incidence, severity, biological effectiveness, treatments

ABSTRACT

This study was designed to *Fusarium verticillioides* biocontrol with *Trichoderma* species, the experiment was established in the ejido Chapopote II, Chalma, Veracruz, under rainfed conditions and natural infection of *F. verticillioides*, four genotypes were seeded corn inoculated (10g/kg of seed) and non-inoculated with *Trichoderma* on a randomized block design with AxBxC factorial arrangement with four replicates by treatment, flowering when applied three times the liquid formulation at a concentration of 1×10^9 esporas/ml, to confirm the effectiveness of *Trichoderma*, 20 ears were taken randomly from each replication was determined rot incidence and severity according to scale Reid *et al.* (1996), for incidence of *F. verticillioides* asymptomatic 100 grains were selected randomly in a sample of one kilogram, were plated in culture medium malachite green agar and incubated at 28 ± 2 °C for two weeks, the severity was adjusted to a

weighted average was processed by the Friedman test, the incidence by analysis of variance, adapted the formula of Abbott (1925) for the effectiveness rate, 58.81% incidence found in most seed treatment application by spraying evaluated together, followed by spray application with 65.32% and 77.56% in seed treatment, behaved severity low in all treatments, seed treatment more application by spraying evaluated together presented the lower severity (2.36%) compared with the control (10.89%), which controlled strain significantly ($P < 0.01$) the pathogen was *T. harzianum* T1 4 of them 47.42%, followed by *T. longibrachiatum* T1 40 to 58.67% and *T. asperellum* T11 66.58%, the three species of *Trichoderma* reduced the incidence and severity of the pathogen in the three techniques used, was obtained above 50% efficiency technique on seed treatment more spray application evaluated together.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Página
ÍNDICE DE CUADROS.....	xi
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
INTRODUCCIÓN.....	1
REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
Descripción morfológica de <i>Trichoderma</i>	3
<i>Trichoderma</i> en el Biocontrol de fitopatógenos.....	3
Mecanismos de acción de <i>Trichoderma</i> spp.	4
Competencia.....	4
Micoparasitismo.....	4
Antibiosis.....	5
Enzimas hidrolíticas.....	5
Metabolitos secundarios.....	6
Inducción de sistemas de defensa en la planta.....	6
Descripción morfológica de <i>F. verticillioides</i>	7
Importancia económica de <i>F. verticillioides</i>	8
Infección y diseminación.....	8
Síntomas.....	9
Producción de micotoxinas.....	9
Reportes de control biológico de <i>F. verticillioides</i>	10
MATERIAL Y MÉTODOS.....	11
Localización del experimento de laboratorio.....	11
Aislamiento de <i>Fusarium verticillioides</i>	11
Identificación.....	12
Purificación.....	12
Cepas de antagonistas.....	12
Reactivación de las cepas.....	12
Bioensayo 1. Antagonismo de <i>Trichoderma</i> spp. sobre <i>F. verticillioides</i> en cultivo dual.....	13
Análisis estadístico.....	13
Producción masiva de <i>Trichoderma</i> spp. sobre granos de arroz.....	14

Tratamiento de semilla.....	15
Preparación de la solución líquida.....	15
Bioensayo 2. Evaluación de incidencia de <i>F. verticillioides</i>	15
Análisis estadístico.....	16
Localización del experimento de campo.....	16
Material genético.....	17
Establecimiento del experimento.....	17
Preparación del terreno.....	17
Barbecho.....	17
La rastra.....	17
El surcado.....	17
Siembra de los genotipos.....	18
Control de maleza y aporque.....	18
Cosecha.....	19
Bioensayo 3. Evaluación de incidencia de pudrición de mazorca.....	19
Análisis estadístico.....	19
Bioensayo 4. Evaluación de severidad de pudrición de mazorca.....	20
Análisis estadístico.....	20
RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	21
Identificación de <i>F. verticillioides</i>	21
Bioensayo 1. Antagonismo de <i>Trichoderma</i> spp. sobre <i>F. verticillioides</i> en cultivo dual.....	21
Bioensayo 2. Evaluación de incidencia de <i>F. verticillioides</i>	23
Efecto de <i>Trichoderma</i> spp. en la incidencia de <i>F. verticillioides</i> en cuatro genotipos de maíz mediante tres tratamientos diferentes.....	23
Comportamiento de cuatro genotipos de maíz mediante biocontrol de <i>F. verticillioides</i> con especies de <i>Trichoderma</i> en tres tratamientos diferentes....	24
Comparación de tres tratamientos diferentes en la incidencia de <i>F. verticillioides</i> con <i>Trichoderma</i> spp.....	25
Eficiencia de <i>Trichoderma</i> spp. en la incidencia de <i>F. verticillioides</i> mediante tres tratamientos diferentes en cuatro genotipos diferentes.....	29
Bioensayo 3. Evaluación de incidencia de pudrición de mazorca.....	30
Eficiencia de <i>Trichoderma</i> spp. en la incidencia de pudrición de mazorca mediante tres tratamientos diferentes en cuatro genotipos de maíz.....	31

Bioensayo 4. Evaluación de severidad de pudrición de mazorca.....	32
Eficiencia de <i>Trichoderma</i> spp. en la severidad de pudrición de mazorca mediante tres tratamientos diferentes en cuatro genotipos de maíz.....	34
CONCLUSIONES.....	36
LITERATURA CITADA.....	37
APÉNDICE.....	43
ARTICULO CIENTÍFICO.....	47

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Descripción	Página
1	Formula para calcular el porcentaje de inhibición de crecimiento radial.....	13
2	Escala de Bell <i>et al.</i> (1982).....	14
3	Formula para determinar el porcentaje de efectividad (Abbott, 1925).....	16
4	Escala para evaluar severidad de <i>F. verticillioides</i> con valores de 0 hasta valores > a 75% de daño.....	20
5	Incidencia promedio de <i>F. verticillioides</i> con tres tratamientos y tres cepas de <i>Trichoderma</i> spp. en cuatro genotipos de maíz. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013.....	26
6	Eficiencia técnica de tratamientos con tres cepas de <i>Trichoderma</i> spp. en cuatro genotipos de maíz sobre incidencia de <i>F. verticillioides</i> . (Abbott 1925). Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013.....	29
7	Eficiencia técnica de tratamientos con tres cepas de <i>Trichoderma</i> spp. en cuatro genotipos de maíz sobre incidencia de pudrición (Abbott 1925). Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013.....	32
8	Medias ponderadas de severidad.....	33
9	Eficiencia técnica de tratamientos con tres cepas de <i>Trichoderma</i> spp. en cuatro genotipos de maíz sobre severidad de pudrición (Abbott 1925). Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013.....	34

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Descripción	Página
1	Escala de clasificación de Bell <i>et al.</i> (1982), clase 1: <i>T. longibrachiatum</i> T1 40, (derecha); clase 2: <i>T. harzianum</i> T1 4 (izquierda) <i>T. asperellum</i> T11 (centro). Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013.....	22
2	Efecto de <i>Trichoderma</i> spp. en la incidencia de <i>F. verticillioides</i> . Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013.....	23
3	Efecto de <i>Trichoderma</i> spp. en la incidencia de <i>F. verticillioides</i> en cuatro genotipos de maíz. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013.....	24
4	Efecto de <i>Trichoderma</i> spp. en la incidencia de <i>F. verticillioides</i> con tres tratamientos diferentes. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013.....	25
5	Efecto de <i>Trichoderma</i> spp. en la incidencia de pudrición de mazorca con tres tratamientos diferentes. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013.....	30
6	Efecto de <i>Trichoderma</i> spp en la incidencia de pudrición de mazorca. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013.....	31

INTRODUCCIÓN

Fusarium verticillioides (Sin. *F. moniliforme*) es el hongo más importante que limita en gran medida la producción de maíz, causando considerables pérdidas económicas; así como cambios en su contenido nutritivo, sabor en los productos y contaminación de los granos con micotoxinas (Damarys *et al.*, 1976). Se puede encontrar en todo el globo terráqueo y sobre todo en zonas templadas, húmedas y semihúmedas, así como en las regiones tropicales y subtropicales (Kucharer and Kommendahl (1966) y Naik *et al.*, 1982). Diversos autores señalan que el hongo tiene una amplia distribución geográfica y un rango de hospederos importante, ataca cultivos como: sorgo, maíz, higo, espárrago, pino y caña de azúcar entre otros (Boot, 1971; Gilbertson *et al.*, 1981). La entrada del patógeno a la mazorca de maíz puede ocurrir a través de heridas causadas por insectos o aves (Attwater and Busch, 1983; Sutton *et al.*, 1980) o por crecimiento de micelio sobre los vellos del jilote y de esporas que germinan sobre ellos (Hesseltine *et al.*, 1977; Koehler, 1942; Sutton, 1982). La infección inicia con la formación de micelio blanco, que va descendiendo desde la punta de la mazorca y da una coloración rojiza a rosada a los granos infectados (Levin *et al.*, 2003). Algunas cepas de *F. verticillioides* producen infecciones asintomáticas de la semilla, la cual se transmite a la plántula afectando su emergencia (Yates *et al.* 1997). Para el control del patógeno se emplean diferentes técnicas de control, siendo el control químico una de las más utilizadas, pero tienen desventajas ya que aumenta significativamente la residualidad de los productos en los granos, debido a esta necesidad de control de *F. verticillioides*, el emplear antagonistas como bacterias y especies de *Trichoderma* podría ser una alternativa de control biológico, por tal motivo se propone la siguiente investigación que tiene como:

OBJETIVOS

Objetivo general

Biocontrol de *Fusarium verticillioides* con especies de *Trichoderma*

Objetivos específicos

- ❖ Control biológico de *F. verticillioides* mediante tratamiento de semilla con esporas de *Trichoderma* spp.
- ❖ Control biológico de *F. verticillioides* con esporas de *Trichoderma* spp. mediante aspersión al momento de la floración
- ❖ Control biológico de *F. verticillioides* mediante tratamiento de semilla y aplicación mediante aspersión con esporas de *Trichoderma* spp. evaluadas de manera conjunta
- ❖ Determinar incidencia y severidad para confirmar el efecto de *Trichoderma* de la técnicas antes mencionadas

HIPÓTESIS

Al menos una de las especies de *Trichoderma* controlará eficientemente a *Fusarium verticillioides* en alguna de las técnicas utilizadas y reducirá la incidencia y severidad del patógeno

REVISIÓN DE LITERATURA

Descripción morfológica de *Trichoderma*

Se caracteriza por la producción de conidióforos hialinos, muy ramificados, no verticilados; fiálides individuales o en grupos; conidios (fialosporas) hialinas, unicelulares, ovoides, en racimos terminales pequeños, generalmente fáciles de reconocer por su rápido crecimiento y manchas verdes o cojines de los conidios; saprófitos del suelo o de madera, muy común, algunas especies reportadas como parásitos de otros hongos (Barnett and Hunter, 1998).

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

***Trichoderma* en el Biocontrol de fitopatógenos**

El género *Trichoderma* ha sido reportado como biocontrolador de hongos fitopatógenos como: *Mycosphaerella fijiensis* (Arzate *et al.*, 2006), *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* (Agamez *et al.*, 2009, González *et al.*, 2010, Hoyos *et al.*, 2008), *Sclerotium rolfsii* (Corrêa *et al.*, 2007), *Thielaviopsis paradoxa* (Sánchez y Rebolledo 2010), *Botrytis cinerea* (Calvo *et al.*, 2012), *Ustilago avenae*, *Uncinula necator* (Lorito *et al.*, 1992) entre otros.

Mecanismos de acción de *Trichoderma* spp.

Entender los mecanismos de acción por los cuales los agentes de biocontrol actúan es crítico para mejorar su efectividad, no son mutuamente excluyentes, mientras uno parece ser el principal, a veces actúan en conjunto (Jensen and Wolffhechel, 1995), entre estos mecanismos se encuentran: competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, resistencia inducida, entre otros (Benítez *et al.*, 2004). Mientras mayor sea la probabilidad de que un aislamiento de *Trichoderma*, manifieste varios modos de acción; más eficiente y duradero será el control sobre el patógeno (Infante *et al.*, 2009).

Competencia

Puede definirse como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización del mismo por uno de los organismos reduzca la cantidad disponible para los demás. Un factor esencial para que exista competencia es la escasez o limitación de un elemento porque si hay exceso no hay competencia (Fernández, 2001).

La competencia por nutrientes puede ser por nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros) (Stefanova *et al.*, 1999).

Micoparasitismo

El micoparasitismo es el principal mecanismo de acción de *Trichoderma* sp. Éste agente antagonista envuelve el hongo patógeno y penetra sus células causando un daño extensivo a nivel celular (pared, membrana y desorden citoplasmático), principalmente en los géneros *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, y *Fusarium*, entre otros (Harman *et al.*, 1981, Chet and Inbar, 1994).

Antibiosis

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).

Enzimas hidrolíticas

Trichoderma produce numerosas enzimas: (β -1,3- glucanasa, quitinasas, pectinasas, xilasas, glucosidasas, proteasas y celulasas) degradadores de la pared celular que juegan un importante papel en el micoparasitismo, produciendo alteraciones en las hifas del parásito. Inicialmente realiza un reconocimiento y adherencia sobre la pared del patógeno, posteriormente promueve la hidrólisis de las hifas por medio de las enzimas producidas (Benítez *et al.*, 2004).

Varios autores han relacionado la degradación de la pared celular de fitopatógenos con la producción de enzimas quitinolíticas de *Trichoderma* spp. Viterbo *et al.* (2002); Harman (2006), β 1,3-glucanasa y β 1,6-glucanasa Bara *et al.* (2003); Marcello *et al.* (2010) celulasas y proteasas (Sanz *et al.*, 2004). Shores *et al.* (2005) reportan que *T. asperellum* puede producir enzimas como β 1,3-glucanasa y quitinasas. Mientras que Stefanova *et al.* (1999) constataron en filtrados de *Trichoderma* spp. la producción de enzimas líticas, carboximetilcelulosa, quitinasa y β 1,3-glucanasa, las cuales causan a nivel celular, vacuolación, coagulación, granulación, desintegración y lisis. *Trichoderma* reconoce y ataca al hongo patógeno y comienza a excretar extracelularmente enzimas líticas, como son β 1,3-glucanasa, quitinasa y lipasas (Chet and Inbar, 1994). Para romper estructuras de los hongos fitopatógenos *Trichoderma* emplea enzimas extracelulares tales como β 1,3-glucanasa, quitinasa, celulasa y proteasa (Fernández, 2001).

Metabolitos secundarios

Trichoderma spp. produce principalmente tres tipos de compuestos: peptaibols, poliketidos y terpenos. Los cuales pueden ser volátiles o solubles, tales como: ácido harziánico, alameticina, tricolina, peptaiboles, antibióticos, 6-pentil- α -pirona, massoilactona, viridina, gliovirina, gliotoxina, glisopreninas, ácido heptelidico, entre otros (Vinale *et al.*, 2008).

El 6PAP (6-pentil- α -pirona) es uno de los metabolitos más conocidos y estudiado, debido a su potente actividad antifúngica. La habilidad de las cepas de *Trichoderma* para producirlo es muy variada entre las diferentes especies, aún entre cepas de la misma especie; además, una cepa en particular puede producir diferentes metabolitos a diferentes estados de desarrollo según las condiciones de cultivo (Cooney and Lauren, 1999). Mientras que Stefanova *et al.* (1999) reportan haber caracterizado un metabolito con olor a coco, probablemente 6-pentil- α -pirona, que logró inhibir el crecimiento de *P. nicotinae*.

Inducción de sistemas de defensa en la planta

Velázquez *et al.* (2011) reportan que *Trichoderma* sp. induce la acumulación de ácido jasmonico, ácido salicílico y camalexina en plántulas de *Arabidopsis thaliana*.

Trichoderma spp. aumentó significativamente la producción de terpenoides y la actividad de peroxidasas en plántulas de algodón (Hanson and Howel 2004).

Los avances han demostrado el efecto de *Trichoderma* en plantas, incluyendo inducción sistémica o resistencia localizada, en adición para la inducción de rutas de resistencia en la planta, incrementa el crecimiento y disponibilidad de nutrientes, en maíz incrementa la respuesta al crecimiento en genotipos específicos (Harman, 2006). En tanto Shores *et al.* (2005) reportan que *Trichoderma asperellum* induce resistencia sistémica en plantas de pepino mediante elevado nivel de etileno y ácido jasmonico, teniendo efecto protector contra *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*.

Descripción morfológica de *F. verticillioides*

Los macroconidios son en forma de hoz a casi rectos con la superficie dorsal y ventral casi paralelos. Los macroconidios son de pared delgada con una célula basal en forma de pie y una célula apical alargada. Macro-conidióforos no están ramificados y presentan monofiálides ramificados como es el caso de todas las especies de la sección Liseola. Los microconidios son principalmente unicelulares y de forma ovoide a obovoide con una base truncada. Microconidios nacen en largas cadenas y cabezas falsas y tienen una base truncada (Nelson 1992).

Los microconidios son abundantes, generalmente hialinos unicelulares, pero en ocasiones bicelulares, tienen forma oval o de garrote y están generalmente aplanados en cada extremo. Los macroconidios se presentan en forma infrecuente, son hialinos, delicados, con paredes delgadas y su forma varía de curvos a casi rectos; tienen de 3-7 septos y la célula basal tiene forma de pie. Nunca hay clamidosporas en el micelio (Warham *et al.*, 1996).

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

F. verticillioides presenta de 0-5 septos, las conidias con célula basal en forma de pie en micelio aéreo, no produce clamidosporas con 14 días en la obscuridad, las conidias están adheridas en forma de cadena o falsas cabezuelas, los conidios solo nacen en monofiálides, o nacen en conidióforos que terminan verticilados con 3 fiálides, es cosmopolita de un gran número de plantas hospedantes, especialmente cereales (Nirenberg and O'donnell, 1998).

Importancia económica de *F. verticillioides*

Es el hongo más importante que limita en gran medida la producción de maíz, causando considerables pérdidas económicas; así como cambios en su contenido nutritivo, sabor en los productos y contaminación de los granos con micotoxinas; además se sabe que este hongo es encontrado con mayor frecuencia en mazorca (Damarys *et al.*, 1976). Ataca en todos los estados de crecimiento de la planta de maíz y a diferentes partes de la misma induciendo enfermedades de pre y postcosecha que causan reducción del rendimiento y afectan la calidad de la semilla (Schulthess *et al.*, 2002).

Infección y diseminación

La entrada de *Fusarium* spp. a la mazorca de maíz puede ocurrir a través de heridas causadas por insectos o aves (Attwater and Busch, 1983 y Sutton *et al.*, 1980) o por crecimiento de micelio sobre los vellos del jilote y de conidios que germinan sobre ellos (Hesseltine *et al.*, 1977, Koehler 1942 y Sutton, 1982). El hongo *Fusarium* infecta todas las partes de la planta de maíz, tiene varios puntos de entrada a la planta y puede infectar durante estado temprano del cultivo (Munkvold *et al.*, 1997). Ooka and Kommendahl (1977) observaron que el aire, era el más efectivo diseminador del patógeno y al hacer monitoreo de diseminación por aire encontraron muestras de las estructuras del hongo hasta distancia que se calcularon entre 300 y 400 km de distancia. Así mismo Gilbertson *et al.* (1981), reportaron que entre mayor incidencia de diabroticas, aumentaban las posibilidades de tener niveles altos del hongo *F. verticillioides* causante de la pudrición del tallo. En tanto Koehler (1936) señaló que el patógeno penetra por la región de los vellos del jilote, se disemina a las brácteas y pedicelos a través del xilema y finalmente se disemina hasta la raíz. La infección interna del grano no se establece hasta que la mazorca se aproxima a la madurez.

Síntomas

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

Producción de micotoxinas

F. verticillioides es conocido por ser una de las especies altamente toxígenica por la producción de fumonisina B1 (FB1), una toxina asociada con el cáncer esofágico, FB2, y moniliformina (MON), una toxina asociada con daño al miocardio (Marasas, 2001). Agrios (2005) reporta tres grupos de toxinas como son: zearalenonas, tricotecenos y fumonisinas las cuales son producidas por varias especies de *Fusarium*, principalmente en maíz.

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

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

Las fumonisinas son producidas por *F. verticillioides*, las cuales causan pudrición de la mazorca de maíz que afecta tanto como el 90% de los campos de maíz, además son la causa de mal de parálisis (leucoencefalomalacia equina) en caballos, burros y mulas, edema pulmonar en cerdos y posiblemente cáncer en humanos.

Reportes de control biológico de *F. verticillioides*

Pereira *et al.* (2009) reportan a *Bacillus amyloliquefaciens* y *Microbacterium oleovorans* como agentes de control biológico para *F. verticillioides*, mediante tratamiento a semilla en maíz DK684RR2, los dos microorganismos redujeron la colonización del patógeno en raíz, tanto en evaluación *in vitro* como bajo condiciones de invernadero.

B. subtilis puede inhibir la colonización de las raíces por *F. verticillioides* y también prevenir la infección endófitas y reducir la contaminación de los granos de maíz por fumonisinas, mediante el tratamiento de semilla con éste agente de biocontrol, (Cavaglieri *et al.*, 2005).

Azotobacter armeniacus RC2 mostró alta inhibición con un nivel de 80% en condiciones *in vitro* y redujo la infección sistémica y la colonización de las raíces de maíz por *F. verticillioides* bajo condiciones de invernadero con tratamiento a semilla (Cavaglieri *et al.* 2004).

Esporas de *Trichoderma harzianum* aplicadas como tratamiento a semilla y en aplicación foliar mediante aspersión, redujo la incidencia de *F. verticillioides* y la producción de fumonisinas en maíz en evaluación de invernadero y de campo (Chandra *et al.*, 2008). Los mismos autores en 2009 reportan que mediante tratamiento de semilla y aplicación foliar en maíz con la bacteria *Pseudomonas fluorescens*, mejoró la emergencia en campo e incrementó el crecimiento y vigor en la planta, además redujo la incidencia de *F. verticillioides* y la producción de fumonisinas.

MATERIAL Y MÉTODOS

Localización del experimento de laboratorio

El presente trabajo se llevó a cabo en el laboratorio de fitopatología, perteneciente al Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coahuila.

Aislamiento de *Fusarium verticillioides*

Se hicieron muestreos en la zona donde se planeaba establecer el experimento, se recolectaron tallos y mazorcas de maíz criollo sintomáticas (os) y asintomáticas (os), para poder determinar la presencia del patógeno a controlar.

El rastrojo y las mazorcas se trasladaron al departamento de parasitología y en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), se sembraron fracciones de tejido con síntomas característicos del hongo y sin síntomas, lo mismo se realizó con los granos de maíz, para la desinfección se sumergieron en hipoclorito de sodio al 3 % por 1 min y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril, se colocaron en papel de estraza para el secado.

La siembra consistió en colocar los granos de maíz y trozos de tejido con síntomas y asintomáticos equidistantemente uno de otro, con una pinza de disección previamente esterilizada, en medio de cultivo PDA, las cajas se sellaron con cinta parafilm y se incubaron a 28 ± 2 °C por una semana.

Identificación

Macroscópica: en un microscopio estereoscópico se observaron todos los granos que habían sido colonizados por el patógeno, también el micelio que había crecido en el tejido en medio PDA.

Microscópica: con una aguja de disección se tomó una pequeña porción del hongo y se colocó en un portaobjetos con lactofenol, se observó en el microscopio compuesto en aumento de 40X para definir con mayor exactitud que era el microorganismo deseado para la investigación, se utilizaron los manuales de Barnett and Hunter (1998), Warham *et al.* (1996) y Nirenberg and O'donnell (1998), para la identificación del patógeno.

Purificación

Se purificó mediante cultivos monoconidiales, se cortaron dos discos de 8mm de diámetro del margen de las colonias donde había crecido *F. verticillioides* y se depositaron en tubos de ensaye con 9ml de agua destilada estéril y se sembraron por dispersión con una varilla de vidrio en medio PDA, a las 24h se extrajo un solo conidio germinado y se colocó en cajas con el medio de cultivo antes mencionado, las siembras fueron incubadas a 28 ± 2 °C por 10 días.

Cepas de antagonistas

Las cepas utilizadas en este trabajo fueron *Trichoderma longibrachiatum* T1 40, *T. asperellum* T11, *T. harzianum* T1 4 fueron proporcionadas por la M.C. Angélica María Berlanga Padilla.

Reactivación de las cepas

Se reactivaron en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), se esperó el crecimiento micelial y posteriormente se evaluó la capacidad de antagonismo mediante cultivos duales, una vez evaluada la actividad antagónica, se procedió a resembrar los

antagonistas en medio PDA, los cuales fueron utilizados para el control de *F. verticillioides* en campo.

Bioensayo 1. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *F. verticillioides* en cultivo dual

Se utilizaron tres cepas de *Trichoderma*, se evaluó el antagonismo en cultivo dual en medio de cultivo PDA, el experimento se estableció en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento y un testigo para el patógeno, se colocó en el extremo de la caja petri un disco de PDA con micelio de *F. verticillioides* de 8 mm de diámetro y en el extremo opuesto un disco de *Trichoderma* spp., las siembras fueron incubadas a 25 ± 2 °C por diez días. Diariamente se midió el crecimiento micelial, los resultados se expresaron como porcentaje de inhibición, el cual se avaluó a las 120h Corrêa *et al.* (2007) y días a contacto mediante observaciones de la formación de una zona de demarcación entre los inóculos. Los valores medios de porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) se calcularon por la fórmula de Samaniego *et al.* (1989) citada por Ezziyyani *et al.*, (2004), tal como se observa en el Cuadro 1.

Cuadro 1. Formula para calcular el porcentaje de inhibición de crecimiento radial.

$PICR = \frac{R1 - R2}{R1} * (100)$	R1 es el radio mayor (radio del patógeno testigo).
	R2 es el radio menor (radio del patógeno en enfrentamiento con el antagonista).

Análisis estadístico

Las medias de PICR (Porcentaje de Inhibición de Crecimiento Radial) se procesaron por un análisis de varianza, la separación de medias fue por la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.01, con el programa de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FAUANL) versión 2.5.

La comparación de las cepas con respecto a la capacidad antagonista, se realizó mediante la escala de Bell *et al.* (1982), ver Cuadro 2.

Cuadro 2. Escala de Bell *et al.* (1982).

Clase	Características
Clase 1	Sobrecrecimiento de <i>Trichoderma</i> , que colonizó toda la superficie del medio y redujo la colonia del patógeno.
Clase 2	Sobrecrecimiento de <i>Trichoderma</i> , que colonizó al menos 2/3 de la superficie del medio.
Clase 3	<i>Trichoderma</i> y el patógeno colonizaron medio a medio (más que 1/3 y menor que 2/3). Uno se sobrepuso al otro.
Clase 4	Hongo patógeno colonizó al menos 2/3 de la superficie del medio y resistió la invasión por <i>Trichoderma</i> .
Clase 5	Sobrecrecimiento del hongo patógeno que colonizó toda la superficie del medio.

Producción masiva de *Trichoderma spp.* sobre granos de arroz

Se utilizaron granos de arroz de segunda, se lavó tres veces con agua corriente de la llave, se dejó por lo menos 30 minutos remojando en agua para su hidratación, posteriormente se extrajo el exceso de agua, se secó por lo menos 20 min. Una vez que se eliminó el exceso de agua, se depositaron 300gr en bolsas de polipapel, la abertura de la bolsa se amarró con una liga, una vez listas todas las bolsas se esterilizaron durante 20min a 18 psi (120 Kg/cm²), después de 24h las bolsas se inocularon con 10ml de suspensión conidial con una concentración de 1x10⁹conidios/ml, se utilizó una micropipeta de 1000µL y el orificio que dejó la puntilla de inoculación se selló con cinta masking tape, finalmente se homogenizó el arroz con los conidios de los antagonistas y se incubó a 28 ± 2 °C por dos semanas, moviendo las bolsas cada tres días, para alcanzar una buena esporulación.

Al observar esporulación homogénea, las bolsas fueron abiertas y se dejaron en un cuarto oscuro para el secado. Los conidios que se produjeron fueron cosechados con la

ayuda de un tamiz y guardados en bolsas de papel estériles, bajo refrigeración a 4°C, quedando listas para hacer los tratamientos.

Tratamiento de semilla

La dosis de esporas que se aplicó fue equivalente a 10g/kg de semilla (Chandra *et al.*, 2008), primeramente la semilla se hidrató con agua durante 12h, para la adherencia de las esporas, se utilizó resina de sábila, se frotó vigorosamente dentro de una bolsa de plástico para homogenizar, finalmente se etiquetaron con sus datos correspondientes y se trasladaron al lugar de evaluación.

Preparación de la solución líquida

Las esporas de los granos de arroz se utilizaron para preparar la solución, para aprovechar los conidios crecidos en el arroz, se lavaron bien y el agua resultante del lavado se utilizó para hacer el formulado, la concentración a la cual se ajustó la suspensión fue de 1×10^9 esporas/ml, esto se logró mediante conteo en una cámara hemocitométrica (cámara Neubauer).

Bioensayo 2. Evaluación de incidencia de *F. verticillioides*

La infección de *F. verticillioides* fue confirmada por el método de la placa agar, se tomaron 100 granos de maíz al azar en una muestra compuesta de un kilogramo de semilla procedente de campo del lugar de evaluación, primeramente se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% durante dos minutos, posteriormente se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril para eliminar los residuos de la solución, se secaron durante 20min en papel sanitas a temperatura ambiente, la siembra se llevó a cabo en una cámara de flujo laminar, se colocaron diez semillas por cada caja petri en medio de cultivo verde de malaquita agar, el periodo de incubación fue de dos semanas a 28 2

°C, el experimento se estableció en un diseño completamente al azar, con 10 repeticiones por tratamiento (10 semillas por repetición).

En un microscopio estereoscópico se contaron los granos que habían sido colonizados por *F. verticillioides*, los resultados se expresaron en términos de porcentaje. Se determinó la eficiencia técnica de tratamientos de acuerdo a la fórmula de Abbott (1925). Ver Cuadro 3.

Cuadro 3. Fórmula para determinar el porcentaje de efectividad (Abbott, 1925)

$%E = IT - It / IT * (100)$	<i>IT</i> es la infección en el testigo
	<i>it</i> es la infección en el tratamiento

Análisis estadístico

La incidencia se procesó mediante un análisis de varianza con arreglo factorial de tres factores (A x B x C), con cuatro niveles en el factor A, tres niveles en B y cuatro en C, en el factor A se ubicaron los genotipos, B fueron los tratamientos usados en la investigación y C correspondió a las cepas usadas en el experimento, su uso utilizó el programa de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FAUANL) versión 2.

Localización del experimento de campo

El experimento se estableció en el ejido Chapopote II, Veracruz, en la parcela del Sr. Alfredo Castro Peña, ubicada a una altitud de 81 msnm, con coordenadas de 21° 10' 13.68" latitud Norte y 98° 13' 36.09" longitud Oeste, el ejido colinda al Norte con el pueblo de Chamizal, Chalma al Este con La Lima San José municipio de Tantoyuca, al Oeste con el pueblo de Chapopote, Chalma y al Sur con el pueblo de Ixcanelco, Tantoyuca.

Material genético

Los genotipos utilizados en la investigación fueron cuatro, con adaptación a zonas tropicales, de los cuales dos criollos y dos híbridos, los híbridos H-520 f1 y Mestizo Diamante, fueron proporcionados por el Grupo Hernández Montiel y Asociados S.P.R de R.L., un criollo se adquirió con productores de la zona de estudio los tres de la cosecha 2012 y el otro corresponde al material UAAAN-ISP-173, proporcionado por el Banco Nacional de Germoplasma de Maíces de México de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro de la cosecha de 2008, recolectado en Tenampulco, Puebla.

Establecimiento del experimento

Preparación del terreno

Barbecho

Se realizó con 40 días de anticipación, para exponer plagas y enfermedades e incorporar restos de cosecha y malezas, se hizo con un arado de tres discos, con enganche de tres puntos, aproximadamente a 0.35m de profundidad.

La rastra

Se llevó a cabo a los 15 días después del barbecho con una rastra integral de 18 discos, con enganche de tres puntos con sección delantera de discos dentados y con sección trasera de discos lisos, para desmoronar los terrones que dejó el arado y eliminar malezas que emergieron después del barbecho.

El surcado

Se abrieron surcos con una surcadora de tres rejas, espaciadas a 0.90m entre rejas, se efectuó al día siguiente del pase de rastra.

Siembra de los genotipos. Se realizó en forma manual en el ciclo Otoño-Invierno el 09 de Octubre de 2012, bajo condiciones de temporal e infección natural de *F. verticillioides*, en surcos de 5m de longitud, con 0.90m entre surcos y 0.40m entre plantas. Se utilizó un diseño de bloques al azar con arreglo factorial AxBxC, con cuatro repeticiones por tratamiento (5 surcos/repeticion) más un testigo. En cada surco se sembraron 25 semillas inoculadas y sin inocular con *Trichoderma* spp., depositando dos semillas por golpe. La densidad de población fue de aproximadamente 55,555 plantas/hectárea.

Para la aplicación mediante aspersión se llevó a cabo cuando habían emergido más del 50% de flores femeninas, las aplicaciones se realizaron en tres oportunidades en las fechas de 13 al 17 de Enero de 2013, con una bomba de mochila de 15L, a una concentración de 1×10^9 esporas/ml repitiendo la aplicación cada tercer día, la aplicación se dirigió a los vellos del jilote.

Control de maleza y aporque

Se llevó a cabo un control cultural, con la realización de dos escardas con azadón, para eliminar las hierbas que competían con el cultivo, a su vez se amontonó la tierra a la base del tallo de las plantas, esto se llevó a cabo a los 35 y 90 días. También se practicó el control mecánico donde se efectuó a los 60 días con cultivadora de tiro animal, con la finalidad de realizar el segundo aporque y al mismo tiempo remover las malezas que habían emergido. Para el control de plagas se hicieron aplicaciones de Cipermetrina y Paratión metílico, para el control de *Spodoptera frugiperda* y *Heliothis zea*, se realizaron al menos dos aplicaciones de cada producto, uno en etapa vegetativa y el otro en embuche, respectivamente.

Cosecha

Se realizó a los 150 días después de emergencia el 10 de Marzo de 2013, se cosecharon 20 mazorcas al azar de los tres surcos centrales de cada repetición por cada genotipo, eliminando un surco en cada orilla por efecto de competencia, se evaluó la incidencia de pudrición de mazorca y la severidad de la misma, las mazorcas se desgranaron manualmente, los granos se secaron dos días al sol, para evitar problemas con humedad, se depositaron en bolsas de papel con sus datos correspondientes y se trasladaron al departamento de Parasitología, para determinar la incidencia de *F. verticillioides*.

Bioensayo 3. Evaluación de incidencia de pudrición de mazorca

20 plantas seleccionadas al azar se cosecharon sus mazorcas para la evaluación de incidencia de pudrición, se contaron las mazorcas que presentaban síntomas de pudrición en las parcelas de tratamiento a semilla, aplicación foliar mediante aspersión y tratamiento a semilla más aplicación foliar mediante aspersión evaluadas juntas, los resultados se expresaron en términos de porcentaje.

Se determinó la eficiencia técnica de tratamientos de acuerdo a la fórmula de Abbott (1925). Ver Cuadro 3.

Análisis estadístico

La incidencia se procesó mediante un análisis de varianza con arreglo factorial de tres factores (A x B x C), con cuatro niveles en el factor A, tres niveles en B y cuatro en C, el factor A se ubicaron a los genotipos, B fueron los tratamientos usados en la investigación y C correspondió a las cepas usadas en el experimento, su uso el programa de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FAUANL) versión 2.

Bioensayo 4. Evaluación de severidad de pudrición de mazorca

20 plantas se seleccionaron al azar y se cosecharon sus mazorcas, para poder determinar el porcentaje de daño se utilizó la escala de Reid *et al.* (1996). Ver Cuadro 4.

Cuadro 4. Escala para evaluar severidad de *F. verticillioides* con valores de 0 hasta valores > a 75% de daño.

Clase	Porcentaje de daño (%)
1	0
2	1 - 3
3	4 - 10
4	11 - 25
5	26 - 50
6	51 - 75
7	> 75

Se determinó la eficiencia técnica de tratamientos de acuerdo a la formula de Abbott (1925). Ver Cuadro 3.

Análisis estadístico

Los datos primeramente se ajustaron a una media ponderada y posteriormente se analizaron mediante la prueba de Friedman, con el programa de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FAUANL) versión 2.5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación de *F. verticillioides*

Se observó micelio extenso algodonoso en medio de cultivo, frecuentemente con algo de tinte rosa, púrpura o amarillo en el medio. Se encontraron microconidios abundantes simples y en cadenas, generalmente hialinos unicelulares, bicelulares, con forma oval y de garrote y estaban generalmente aplanados en cada extremo. Los macroconidios, con paredes delgadas y su forma de curvos en forma de canoa a casi rectos; con 3-7 septos y la célula basal en forma de pie. No hubo formación de clamidosporas en el micelio, las características coincidieron con los diferentes autores (Warham *et al.*, 1996; Barnett and Hunter 1998; Nirenberg and O'donnell, 1998).

Bioensayo 1. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *F. verticillioides* en cultivo dual

Los resultados de la actividad antagónica de *Trichoderma* spp. por el método de cultivo dual resultaron ser favorables para el control *in vitro* de *F. verticillioides*. Las tres cepas inhibieron el crecimiento de *F. verticillioides* y lograron detener al patógeno al hacer contacto a los dos y tres días, el antagonismo se mostró en valores de 32.61 hasta 35.69%, no hubo diferencia significativa entre cepas al nivel de $P > 0.01$, las tres se comportaron de manera muy similar en cuanto al antagonismo. Guigón *et al.* (2010) reportan que en evaluación de *T. Asperellum* y *T. longibrachiatum* contra *Fusarium* sp. el antagonismo no fue significativo en comparación con demás patógenos, estas cepas no fueron capaces de detener el crecimiento del patógeno tal como sucedió en esta investigación, pareciera ser que las especies de *Fusarium* resisten la invasión de los antagonistas.

T. longibrachiatum T1 40 fue el que presentó actividad antagonica más elevada (35.69%) sobre *F. verticillioides* a las 120h, haciendo contacto a los dos días, por lo que recibe calificación de 1 en la escala de Bell *et al.* (1982). *T. asperellum* T11 inhibió 32.68%, mientras que *T. harzianum* T1 4 32.61%, ambos mostraron buenas potencialidades como antagonistas contra el patógeno ensayado y recibieron calificación de 2 en la misma escala, haciendo contacto hasta el día tres. Se logró observar enrollamiento, lisis de micelio, las cepas no fueron capaces de colonizar sobre *F. verticillioides* tal como se muestra en la Figura 1.

Castro (2011) reporta que en evaluación de *T. longibrachiatum* y *T. asperellum* en cultivos duales contra *F. verticillioides*, observó que las cepas reducen el crecimiento del patógeno en 57.23 y 42.64% de inhibición, los datos reportados por este autor a los encontrados en esta investigación están un poco alejados, esto puede deberse a las cepas de los antagonistas como también a la del patógeno, también ubicó a *T. longibrachiatum* en la clase 1 y a *T. asperellum* en la clase 2 de la escala de clasificación de Bell *et al.* (1988). En tanto Basurto *et al.* (2010) reportan que en evaluaciones bajo condiciones de laboratorio con *Bacillus subtilis* cepa 21 redujo significativamente el crecimiento de *F. verticillioides* provocando lisis de micelio en la primer semana de enfrentamiento con el antagonista.



Figura 1. Escala de clasificación de Bell *et al.* (1982), clase 1: *T. longibrachiatum* T1 40, (derecha); clase 2: *T. harzianum* T1 4 (izquierda) *T. asperellum* T11 (centro). Departamento de de parasitología, UAAAN, 2013

Bioensayo 2. Evaluación de incidencia de *F. verticillioides*

Efecto de *Trichoderma* spp. en la incidencia de *F. verticillioides* en cuatro genotipos de maíz mediante tres tratamientos diferentes

El análisis estadístico para las cepas muestra alta diferencia significativa ($P < 0.01$), la cepa que redujo significativamente la incidencia de *F. verticillioides* fue *T. harzianum* T1 4 con 47.42%, 58.67% para *T. longibrachiatum* T1 40 y *T. asperellum* T11 66.58% respecto al testigo. Las tres especies controlaron eficientemente a *F. verticillioides* en los cuatro genotipos y los tres tratamientos, tal como se muestra en la figura 2.

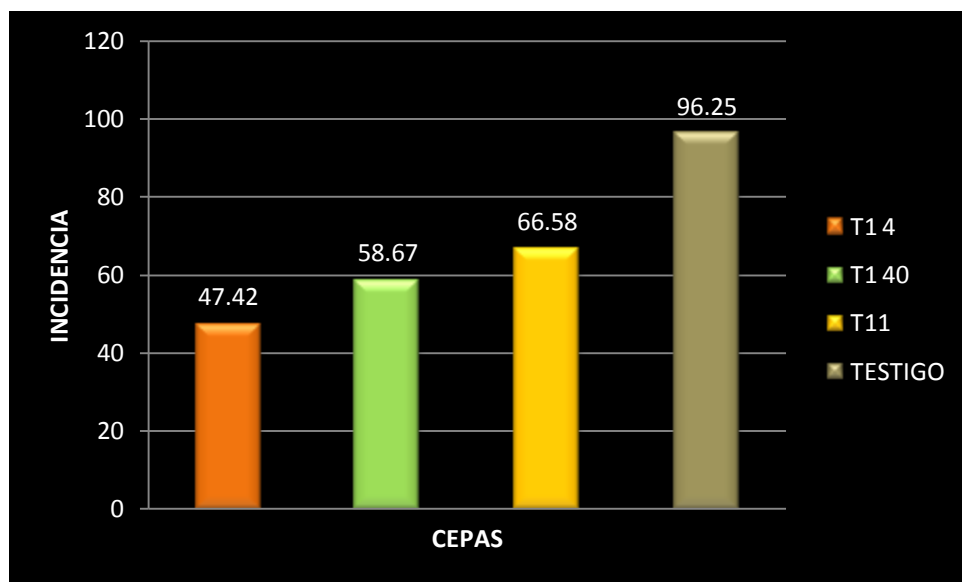


Figura 2. Efecto de *Trichoderma* spp. en la incidencia de *F. verticillioides*. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013

Comportamiento de cuatro genotipos de maíz mediante biocontrol de *F. verticillioides* con especies de *Trichoderma* en tres diferentes tratamientos

Empleando los tres métodos de control y las tres cepas, el genotipo donde se controló significativamente *F. verticillioides* ($P < 0.01$), fue el material Mestizo, mostrando incidencia de 63.25% respecto a los demás genotipos, debido a la actividad de *T. longibrachiatum* cepa T1 40 y *T. asperellum* T11 en dos de los tratamientos, seguido por UAAAN-ISP-173 con 65.92%, debido que *T. harzianum* T1 4 controló eficientemente en cada uno de los tratamientos, el híbrido H-520 presentó incidencia de 69.33%, muy cercano al criollo con 70.42%, como se puede observar en la figura 3. Se muestran los valores de incidencia de *F. verticillioides* en los cuatro genotipos mediante la acción de las cepas en los tres tratamientos.

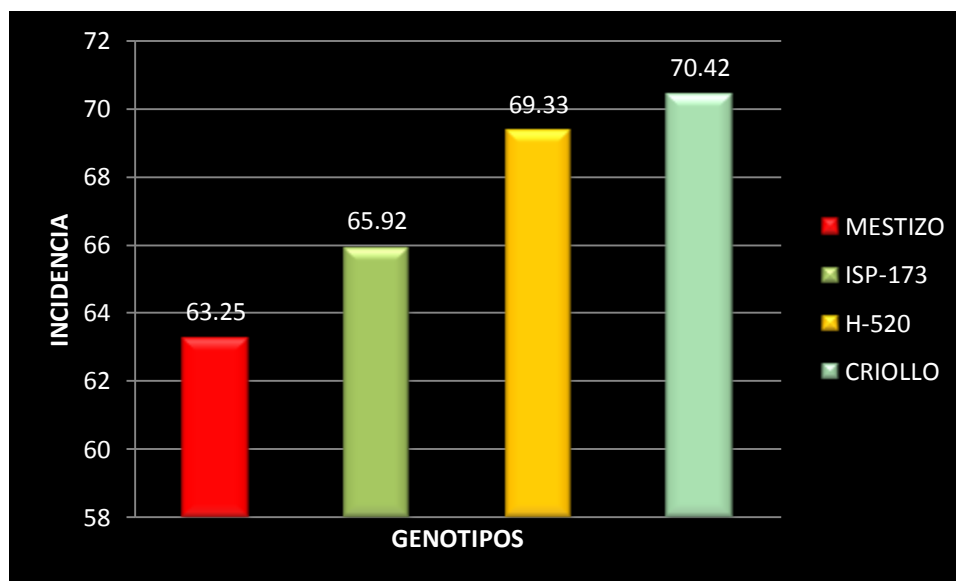


Figura 3. Efecto de *Trichoderma* spp. en la incidencia de *F. verticillioides* en cuatro genotipos de maíz. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013

Comparación de tres tratamientos diferentes en la incidencia de *F. verticillioides* con *Trichoderma* spp.

El análisis de varianza manifiesta alta significancia ($P < 0.01$), se encontró que el tratamiento a semilla más tratamiento por aspersión (TS+TA), aumentó significativamente la eficiencia en el control de *F. verticillioides*, mostrando incidencia de 58.81%, seguido por el tratamiento por aspersión (TA) al momento de la floración con 65.32%, el tratamiento de semilla (TS) mostró 77.56%, como se muestran los resultados se podría presumir que *F. verticillioides* puede entrar por los vellos del jilote y también por conductos vasculares, por la vía de meristemos, siendo el más efectivo por los vellos del jilote tal como se muestra con tratamiento a semilla, mostrando mayor incidencia que el tratamiento por aspersión.

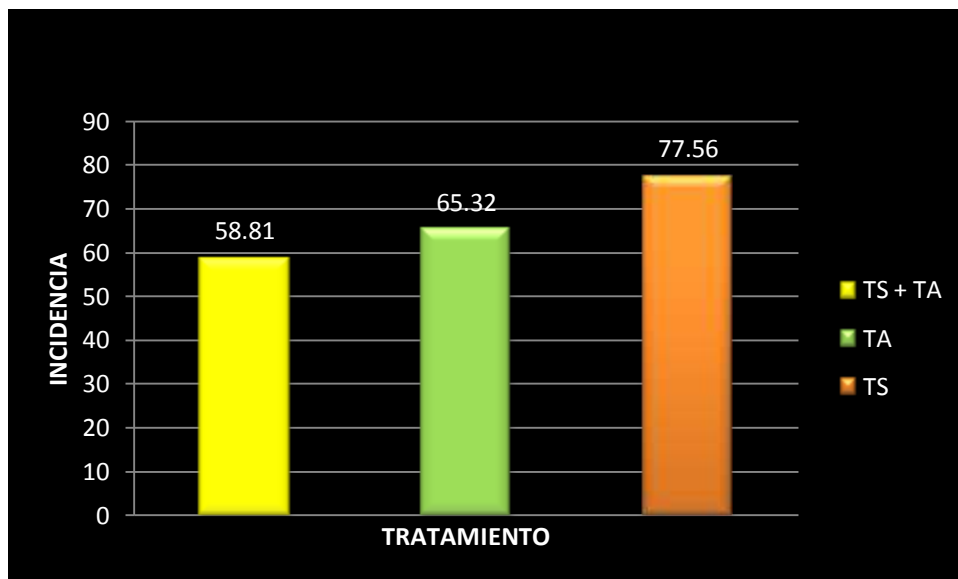


Figura 4. Efecto de *Trichoderma* spp. en la incidencia de *F. verticillioides* con tres tratamientos diferentes. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013

De acuerdo al Cuadro 5 se muestra cada uno de los tratamientos con cuatro materiales por cada cepa, primeramente tenemos que mediante tratamiento a semilla en los genotipos UAAAN-ISP-173 y criollo, *T. harzianum* T1 4 muestra incidencia 59 y 68%, en comparación con los testigos que fueron de 90 y 99% respectivamente, las otras dos cepas solo muestran una reducción de un 72% en los mismos materiales.

Para el tratamiento de aplicación al momento de la floración mediante aspersión, *T. harzianum* T1 4 reduce 20% la incidencia con respecto al testigo de 98% en el genotipo H-520, mientras que *T. longibrachiatum* cepa T1 40 y *T. asperellum* cepa T11 disminuyen en 63 y 89% respectivamente en el mismo genotipo, para Mestizo las cepas que sobresalen son *T. asperellum* cepa T11 y *T. longibrachiatum* cepa T1 40 con 39 y 41% respectivamente en comparación con el testigo 97%, dejando en último lugar a *T. harzianum* T1 4 con 61%, pero sobresaliendo en los materiales UAAAN-ISP-173 y criollo con 31 y 56% muy cercano a *T. longibrachiatum* cepa T1 40 con 57%, respectivamente en comparación con el testigo de 98 y 96%.

Cuadro 5. Incidencia promedio de *F. verticillioides* con tres tratamientos y tres cepas de *Trichoderma* spp. en cuatro genotipos de maíz. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013

GENOTIPOS	TRATAMIENTOS	CEPAS			
		T1 40	T11	T1 4	TESTIGO
H-520	TS	76.0	81.0	74.0	97.0
H-520	TA	63.0	89.0	20.0	98.0
H-520	TS+TA	50.0	81.0	8.0	95.0
MESTIZO	TS	73.0	70.0	72.0	95.0
MESTIZO	TA	41.0	39.0	61.0	97.0
MESTIZO	TS+TA	33.0	26.0	55.0	97.0
CRIOLLO	TS	72.0	71.0	68.0	99.0
CRIOLLO	TA	57.0	66.0	56.0	96.0
CRIOLLO	TS+TA	52.0	62.0	48.0	98.0
UAAAN-ISP-173	TS	72.0	72.0	59.0	90.0
UAAAN-ISP-173	TA	61.0	72.0	31.0	98.0
UAAAN-ISP-173	TS+TA	54.0	70.0	17.0	95.0

De igual manera en la evaluación de TS+TA, *T. harzianum* T1 4 muestra menor incidencia que *T. longibrachiatum* T1 40 y *T. asperellum* T11 con tan solo 8% en H-520 comparado con el testigo de 95% y valores de 50 y 81% respecto a los dos antagonistas, pero para Mestizo *T. harzianum* T1 4 no muestra ser eficiente en el control y sobresalen *T. longibrachiatum* y *T. asperellum* con 33 y 26% respectivamente comparado con 97% del testigo, mientras que para UAAAN-ISP-173 y criollo, vuelve a figurar *T. harzianum* T1 4 con 17 y 48% a comparación de los testigos con valores de 95 y 98%.

Como se observa, *T. harzianum* T1 4 aparece en al menos un 66.67% de veces en la mayoría de los genotipos y en los tres tratamientos.

La aplicación a semilla más aplicación mediante aspersion en combinación reducen significativamente la incidencia de *F. verticillioides*, seguido por tratamiento foliar y tratamiento a semilla, Chandra *et al.* (2009) en evaluación de *Pseudomonas fluorescens* en diferentes genotipos de maíz encontraron que mediante la aplicación a semilla más aplicación mediante aspersion se reduce la infección del patógeno, además disminuye la contaminación por fumonisinas al emplear este método. Al igual estos mismos autores en 2008 probaron en India *T. harzianum* en aplicación a semilla, aplicación por aspersion y las dos técnicas evaluadas juntas en tres genotipos de maíz y concluyeron que la mejor técnica es el tratamiento a semilla más la aplicación por aspersion evaluadas en conjunto, reduciendo la incidencia y bajando los niveles de fumonisinas.

Bacillus amyloliquefaciens y *Microbacterium oleovorans* evaluados como agentes de control biológico para *F. verticillioides*, mediante tratamiento a semilla en maíz DK684RR2, los dos microorganismos redujeron la colonización del patógeno en raíz en condiciones de invernadero (Pereira *et al.*, 2009). También *B. subtilis* puede inhibir la colonización de las raíces por *F. verticillioides* y también prevenir la infección endófitas y reducir la contaminación de los granos de maíz por fumonisinas, mediante el tratamiento de semilla de acuerdo a lo reportado por Cavaglieri *et al.* (2005).

El control biológico de *F. verticillioides* solo se propone como un método más de manejo, intercalándolo con otros que puedan ser compatibles con el, se puede mencionar que uno de ellos podría ser el control cultural, removiendo los restos de cosecha, para bajar el nivel de la fuente de inóculo tal como reportan Cotten and Munkvold (1998), que en residuos de tallo de maíz incorporados al suelo, *F. verticillioides* puede sobrevivir por lo menos por 630 días; esto demuestra que los residuos son una importante fuente de inóculo a largo plazo.

También podría combinarse con la resistencia genética y el control cultural, estas serían unas de las técnicas mas recomendables tal como se pudo observar con el genotipo Mestizo diamante el cual se comportó significativamente potencial a la invasión de *F. verticillioides* y el criollo; al ser material susceptible no mostró buenas potencialidades a la invasión del patógeno, esto concuerda con lo propuesto por Cisneros *et al.* (2007) quienes mencionan que la mayoría de las especies de *Fusarium* son parásitos facultativos y pueden permanecer en forma saprofita en el suelo o rastrojo, pero cuando las condiciones ambientales son favorables se constituyen en fuente de inóculo, iniciándose una interacción con el hospedero durante el ciclo de cultivo y causar enfermedades severas en genotipos susceptibles.

Además en zonas donde el patógeno ha estado conviviendo con el hospedero, resulta más complicado el manejo del mismo tal como reporta Trujillo (1996), que el control con *Trichoderma* en campos con antecedentes a favor del patógeno no resulta ser favorable. Esto fue claramente demostrado en el cultivo de tabaco, cuando se realizaron aplicaciones biológicas a suelos con infección media y alta por *Phytophthora. nicotianae* donde solamente reducen el índice de infección a un 30 % y a un 60 % respectivamente, de igual manera se observa algo similar al presente estudio, los niveles de incidencia oscilaron entre 46 y 55% empleando los tres tratamientos.

Eficiencia de *Trichoderma* spp. en la incidencia de *F. verticillioides* mediante tres tratamientos diferentes en cuatro genotipos diferentes.

TS + TA controla significativamente al patógeno con 51.87% de efectividad, seguido por tratamiento por aspersión con 43.78%, y 24.74% para TS. Las tres cepas controlaron a *F. verticillioides* pero *T. harzianum* T1 4 mostró mayor efectividad con 50.70%

Cuadro 6. Eficiencia técnica de tratamientos con tres cepas de *Trichoderma* spp. en cuatro genotipos de maíz sobre incidencia de *F. verticillioides*. (Abbott 1925). Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013

GENOTIPOS	TRATAMIENTOS	CEPAS		
		T1 40	T11	T1 4
H-520	TS	21.65	16.49	23.71
H-520	TA	35.71	9.18	79.59
H-520	TS+TA	47.37	14.74	91.58
MESTIZO	TS	23.16	26.32	24.21
MESTIZO	TA	57.73	59.79	37.11
MESTIZO	TS+TA	65.98	73.20	43.30
CRIOLLO	TS	27.27	28.28	31.31
CRIOLLO	TA	40.63	31.25	41.67
CRIOLLO	TS+TA	46.94	36.73	51.02
UAAAN-ISP-173	TS	20.0	20.0	34.44
UAAAN-ISP-173	TA	37.76	26.53	68.37
UAAAN-ISP-173	TS+TA	43.16	26.32	83.11

Bioensayo 3. Evaluación de incidencia de pudrición de mazorca

De acuerdo a la incidencia de pudrición de mazorca, el tratamiento a semilla más la aplicación foliar juntas muestran incidencia 46.87%, seguida por el tratamiento de aplicación foliar con 54.22% y 55.31% para el tratamiento a semilla, los tres tratamientos reducen la incidencia de pudrición de mazorca significativamente ($P < 0.01$).

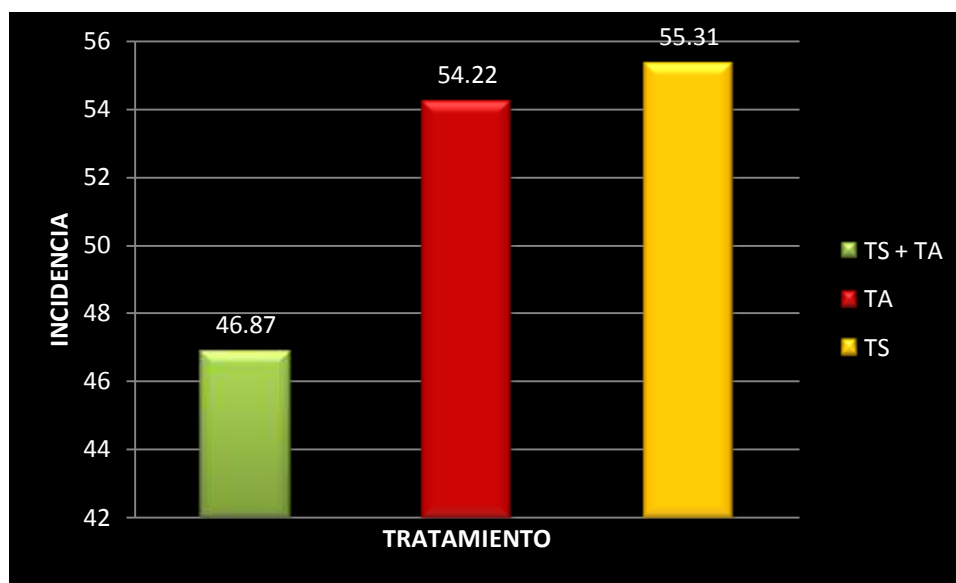


Figura 5. Efecto de *Trichoderma* spp en la incidencia de pudrición de mazorca con tres tratamientos diferentes. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013

Chandra *et al.* (2008) reportan que en aplicación a semilla, aplicación por aspersión y las dos técnicas evaluadas juntas en tres genotipos de maíz se reduce la incidencia de *F. verticillioides* dando mejor resultado el emplear el tratamiento a semilla más la aplicación por aspersión evaluadas en conjunto, que además baja los niveles de fumonisinas. *T. harzianum* T1 4 reduce la incidencia de pudrición en 38.33%, *T. longibrachiatum* T1 40 se ubicó en segundo lugar con 41.45% y en el ultimo lugar se encuentra *T. asperellum* T11 con 50.0%, las tres cepas controlaron significativamente la incidencia de pudrición de mazorca ($P < 0.01$) en los cuatro genotipos con los tres tratamientos diferentes, respecto al testigo que muestra 78.75%.

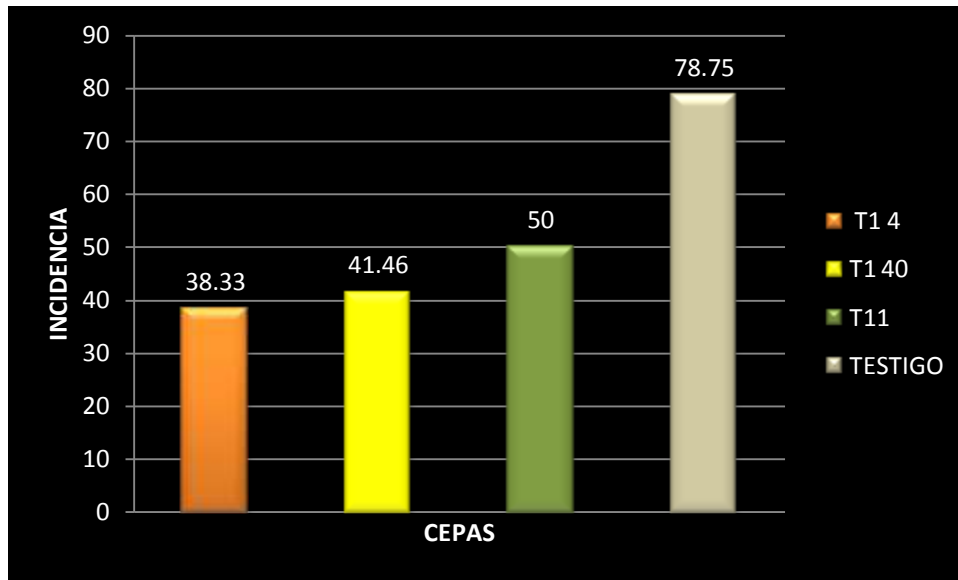


Figura 6. Efecto de *Trichoderma* spp en la incidencia de pudrición de mazorca. Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013

Eficiencia de *Trichoderma* spp. en la incidencia de pudrición de mazorca mediante tres tratamientos diferentes en cuatro genotipos de maíz.

TS + TA controló significativamente la incidencia de pudrición con 54.19% de efectividad, seguido por tratamiento por aspersión con 38.92%, y 39.80% para TS. Las tres cepas controlaron a *F. verticillioides* pero *T. harzianum* T1 4 presentó 51.04% de eficacia, mientras que *T. longibrachiatum* T1 40 y *T. asperellum* T11, 46.04 y 35.83% respectivamente.

Cuadro 7. Eficiencia técnica de tratamientos con tres cepas de *Trichoderma* spp. en cuatro genotipos de maíz sobre incidencia de pudrición. (Abbott 1925). Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013

GENOTIPOS	TRATAMIENTOS	CEPAS		
		T1 40	T11	T1 4
H-520	TS	30.00	16.67	53.33
H-520	TA	43.33	16.67	43.33
H-520	TS+TA	63.33	26.67	53.33
MESTIZO	TS	33.33	30.00	43.33
MESTIZO	TA	30.00	36.67	53.33
MESTIZO	TS+TA	63.33	56.67	76.67
CRIOLLO	TS	48.39	70.97	51.61
CRIOLLO	TA	45.16	38.71	48.39
CRIOLLO	TS+TA	61.29	48.39	54.84
UAAAN-ISP-173	TS	51.43	0.0	48.57
UAAAN-ISP-173	TA	37.14	34.29	40.00
UAAAN-ISP-173	TS+TA	45.71	54.29	45.71

Bioensayo 4. Evaluación de severidad de pudrición de mazorca

Para la severidad se encontraron niveles relativamente bajos en los tres tratamientos, el TS + TA fue el que presentó 2.36 de severidad, seguido por TA con 2.41% y severidad de 2.45 para TS, los tres tratamientos se ubicaron en la clase dos de la escala de Reid *et al.* (1996) respecto al testigo el cual presentó niveles de daño de 10.89% y se ubicó en la clase 3 de la misma escala con relación a la media ponderada.

La prueba de Friedman confirmó que al menos dos tratamientos son diferentes al nivel de significancia de 0.05 mostrando diferencia significativa.

Cuadro 8. Medias ponderadas de severidad

GENOTIPOS	TRATAMIENTOS	CEPAS			
		T1 40	T11	T1 4	TESTIGO
H-520	TS	2.00	2.63	2.18	10.55
H-520	TA	2.19	2.19	2.35	10.55
H-520	TS+TA	2.23	2.19	2.33	10.55
MESTIZO	TS	2.18	2.25	2.70	10.22
MESTIZO	TA	2.36	2.71	2.18	10.22
MESTIZO	TS+TA	2.36	2.00	2.48	10.22
CRIOLLO	TS	2.82	2.80	2.56	11.12
CRIOLLO	TA	2.38	2.58	2.25	11.12
CRIOLLO	TS+TA	2.62	2.19	2.00	11.12
UAAAN-ISP-173	TS	2.22	2.58	2.28	11.68
UAAAN-ISP-173	TA	2.60	2.82	2.25	11.68
UAAAN-ISP-173	TS+TA	2.71	2.58	2.71	11.68

Las tres cepas controlaron la pudrición de mazorca con diferentes niveles de severidad, *T. harzianum* mostró 2.36 de severidad y 2.40, 2.46 para *T. longibrachiatum* T1 40 y *T. asperellum* T11 respectivamente.

Eficiencia de *Trichoderma* spp. en la severidad de pudrición de mazorca mediante tres tratamientos diferentes en cuatro genotipos de maíz.

Cuadro 9. Eficiencia técnica de tratamientos con tres cepas de *Trichoderma* spp. en cuatro genotipos de maíz sobre severidad de pudrición. (Abbott 1925). Departamento de Parasitología, UAAAN, 2013

GENOTIPOS	TRATAMIENTOS	CEPAS		
		T1 40	T11	T1 4
H-520	TS	81.04	75.07	79.34
H-520	TA	79.24	79.24	77.73
H-520	TS+TA	78.86	79.24	77.91
MESTIZO	TS	78.67	77.98	73.58
MESTIZO	TA	76.91	73.48	78.67
MESTIZO	TS+TA	76.91	80.43	75.73
CRIOLLO	TS	74.64	74.82	76.98
CRIOLLO	TA	78.60	76.80	79.77
CRIOLLO	TS+TA	76.44	80.31	82.01
UAAAN-ISP-173	TS	80.99	77.91	80.48
UAAAN-ISP-173	TA	77.74	75.86	80.74
UAAAN-ISP-173	TS+TA	76.80	77.91	76.80

La aplicación de TS + TA controló significativamente la severidad de pudrición de mazorca con 78.28% de efectividad, seguido por tratamiento por aspersión con 77.90%, y 77.63% para TS. Las tres cepas controlaron la severidad, *T. harzianum* T1 4 presentó 78.31% de efectividad, mientras que *T. longibrachiatum* T1 40 y *T. asperellum* T11, 78.07 y 77.42% respectivamente. Además se pudo observar que al hacer cortes longitudinales de tallo, las tres cepas reducían la colonización del patógeno, mostrándose síntomas característicos en el testigo, los genotipos tratados con las tres especies de *Trichoderma* presentaron síntomas escasos, el testigo presentó sintomatología más elevada. Algunas cepas de *Trichoderma* están reportadas que además de controlar eficientemente a fitopatógenos, también inducen la respuesta de sistemas de defensa en la planta.

Los avances han demostrado el efecto de *Trichoderma* en plantas, incluyendo inducción sistémica o resistencia localizada, en adición para la inducción de rutas de resistencia en la planta, incrementa el crecimiento y disponibilidad de nutrientes, en maíz incrementa la respuesta al crecimiento en genotipos específicos (Harman, 2006). Otra observación que se pudo hacer, es que los tres antagonistas promovieron el desarrollo del cultivo, acelerando la floración en los tres tratamientos y aumentando la altura de planta, además se observó mejor vigor vegetativo presentando un color verde intenso en comparación con el testigo.

CONCLUSIONES

Las tres especies de *Trichoderma* redujeron significativamente la incidencia y severidad de *F. verticillioides*

Los tres métodos de aplicación de *Trichoderma* spp. fueron eficientes en el control de *F. verticillioides*.

El tratamiento a semilla más aplicación por aspersión al momento de la floración evaluadas de manera conjunta, controlaron significativamente a *F. verticillioides*

El genotipo Mestizo Diamante resistió la invasión de *F. verticillioides* en los tres métodos de control empleados, con aditividad de las tres cepas.

LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of the insecticide. *Journal of Economic Entomology*. 18:257-267.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Ed. Elsevier Academic Press. San Diego, California. 922 p.
- Agamez, R. E., Barrera, V. J. and Oviedo, Z. L. 2009. Evaluation of Antagonism and Multiplication The *Trichoderma* sp. In The Middle Static Liquid Banana Substrate. *Acta biológica Colombiana*. 14(3):61-70.
- Attwater, W. A. and Busch, L. V. 1983. Role of the sap beetle *Glischrochilus quadrisignatus* in the epidemiology of *Gibberella* corn ear rot. *Journal of Plant Pathology*. 5:158-163.
- Arzate, V. J., Michel, A. A. C., Domínguez, M. V. M. y Santos, E. O. A. 2006. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de sigatoka negra del plátano (*Musa* spp.) *in vitro* e invernadero. *Revista Mexicana de fitopatología*. 24(2):98-104.
- Bara, M. T. F., Lima, A. L., and Ulhoa, C. J. 2003. Purification and characterization of an exo- α -1, 3-glucanase produced by *Trichoderma asperellum*. *FEMS Microbiology Letters*. 219:81-85.
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. 1998. *Illustrated Genera Imperfect Fungy*. Fourth Edition. Editorial Prentice Hall Inc. 241p.
- Basurto, C. M.G., Font San, A. M. I., García, J. J., Vázquez, A. M. 2010. Cambios en la estructura celular durante la actividad antagónica de *Bacillus subtilis* contra *Rhizoctonia solani* y *Fusarium verticillioides*. *Acta Microscópica*. 19(2):138-144.
- Bell, D. K., Well, H. D., and Markham, C. R. 1982. “*in vitro*” antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*. 72: 379-382.
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M. C., Codón, A. C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International. Microbiology*. Department of Genetics, University of Sevilla, Spain. 7:249-260.

- Boot, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 237p.
- Calvo, A. J. A., Rivera, C. G., Orozco, C. S., Orozco, R. R. 2012. Aislamiento y evaluación *in vitro* de antagonistas de *Botrytis cinerea* en mora. *Agronomía Mesoamericana*. 23(2):225-231.
- Castro, del A. E. 2011. Interacción de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Nirenberg (Sin. *F. moniliforme* Sheld.) en diferentes materiales de maíz y evaluación *in vitro* con *Trichoderma* spp. como biocontrol. Tesis profesional UAAAN. Saltillo, Coahuila, México. 61p.
- Cavaglieri, L., Passone, A. and Etcheverry, M. G. 2004. Correlation between screening procedures to select root endophytes for biological control of *Fusarium verticillioides* in *Zea mays* L. *Biological Control*. 31:259–267.
- Cavaglieri, L., Orlando, J., Rodríguez, M. I., Chulze, S. and Etcheverry, M. 2005. Biocontrol of *Bacillus subtilis* against *Fusarium verticillioides in vitro* and at the maize root level. *Research in Microbiology*. 156:748–754.
- Cisneros, L. Ma. E., Mendoza, O. L. E., Mora, A. G. 2007. Cold tolerant sorghum hybrids and parental lines. III: Quality of seeds harvested from plants infected with *Fusarium verticillioides* (sacc.) Nirenberg. *Agrociencia*. 41:405-415.
- Cooney, J. M. and Lauren, D. R. 1999. Biotransformation of the *Trichoderma* metabolite 6-n-pentyl-2h-pyran-2-one (6PAP) by selected fungal isolates. *Journal of Natural Products*. 62:681-683.
- Cotten, T. K. and Munkvold, G. P. 1998. Survival of *Fusarium moniliforme*, *F. proliferatum*, and *F. subglutinans* in maize stalk residue. *Phytopathology*. 88(6): 550-555.
- Cobos, C. G. M. 2010. Evaluación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. para el control de sigatoka negra (*Paracercospora fijiensis* m.) en el cultivo de banano (*Musa paradisiaca*) en fase de laboratorio. Tesis profesional. Escuela politécnica del ejército. Santo domingo, Ecuador. 84p.
- Corrêa, M. M. S., Ávila, Z., Minaré, B. L., Pádua, R. R. y Gomes, D. 2007. Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Fitosanidad*. 11(1):3-9.
- Chandra, N. S., Udaya, S. A. C., Reddy, M. S., Niranjana, S. R., Prakash, H. S. Shetty, H. S. and Paulino, M. C. A. N. 2009. Control of *Fusarium verticillioides*, cause of ear rot of maize, by *Pseudomonas fluorescens*. *Pest Manag Sci*. 65:769-775.
- Chandra, N. S., Udaya, S. A. C., Reddy, M. S., Niranjana, S. R., Prakash, H. S. Shetty, H. S. and Paulino, M. C. A. N. 2008. Seed biopriming with novel strain of *Trichoderma harzianum* for the control of toxigenic *Fusarium verticillioides* and fumonisins in maize. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*. 43(3): 264-282.

- Chet, I and Inbar, J. 1994. Biological Control of Fungal Pathogens. Applied Biochemistry and Biotechnology. 48:37-43.
- Damarys M., Medina, C. y Zenteno, Z.. 1976. Morfología de mazorcas de maíz. México. II boletín de la Sociedad de Microbiología. 10:71-72.
- Ezziymani, M., Pérez, S. C., Ahmed, S. A., Requena M. E. y Candela M. E. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales de Biología. 26:35-45.
- Fernández, L. V. O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas. 62:96-100.
- Guigón, L. C., Guerrero, P. V., Vargas, A. F., Carvajal, M. E., Ávila, Q. G. D., Bravo, L. L., Ruocco, M., Lanzuise, S., Woo, S. y Lorito, M. 2010. Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento *in vitro* y antagonismo contra hongos fitopatógenos. Revista Mexicana de Fitopatología. 28:87-96.
- Gilbertson R. L., Damicone J. P., and Manning, W. J. 1981. *Fusarium* crown rot of asparagus: sources of inoculums. Phytopathology. 71:218.
- González, I., Infante, D., Peteira, B., Martínez, B., Arias, Y., González, N. y Miranda, I. 2010. Caracterización bioquímica de aislamientos de *Trichoderma* spp. promisorios como agentes de control biológico. I. expresión de actividad quitinasa. Revista Protección Vegetal. 5(1):58-63.
- Hanson, L. E., and Howell, C. R. 2004. Elicitors of plant defense responses from biocontrol strains of *Trichoderma virens*. Phytopathology. 94:171-176.
- Harman, G. E., Chet I. And Baker R. 1981. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seed as a biocontrol agent. Phytopathology.71:569-572.
- Harman, G. E. 2006. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology. 96(2):190-194.
- Hesseltine, C. W., and Bothast, R. J. 1977. Mold development in ears of corn from tasseling to harvest. Mycologia. 69(2):328-340.
- Hoyos, C. L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, I. and Orduz, S. 2008. Evaluation of *Trichoderma* spp. isolates against *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* under *in vitro* and greenhouse conditions. Agronomía Colombiana. Bogotá, Colombia. 26(3):451-458.
- Infante, D., Martínez, B., González, N., Reyes, Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Revista Protección Vegetal. 24(1): 14-21.

- Jensen, D. F. and Wolffhechel, H. 1995. Biological control: Benefits and Risks (Series: Plant and microbial biotechnology research. in: M.T.H., Heikki y J.M. Lynch (Eds.) The use of fungi, particularly *Trichoderma* spp. and *Gliocladium* spp., to control root rot and damping-off diseases. Cambridge. Cambridge University Press. 177-189.
- Koehler B. 1936. Entry of *Fusarium moniliforme* and *Cephalosporium acremonium* into growing corn ears. *Phytopathology*. 26:98-99.
- Koehler, B. 1942. Natural mode of entrance of fungi into corn ears and some symptoms that indicate infection. *Journal of Agricultural Research*. 64(8):421-442.
- Kucharer T. A. and T. Kommendahl. 1966. Kernel infection and corn stalk rot caused by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology*. 56:983-984.
- Levin, L., Ridaio, A., Castaño, F. 2003. Fusariosis de la espiga en el maíz. INTA: 20ª Jornada de actualización profesional en cultivos de verano. Mar del Plata, 19 de setiembre de 2003. p.165.
- Lorito, M., Harman, G. E., Hayes, C. K., Broadway, R. M., Tronsmo, A., Woo, S. L. and Di Pietro, A. 1992. Chitinolytic Enzymes Produced by *Trichoderma harzianum*: Antifungal Activity of Purified Endochitinase and Chitobiosidase. *Molecular Plant Phytopathology*. 83:302-307.
- Marasas, W. F. O. 2001. Discovery and occurrence of the fumonisins: a historical perspective. *Environmental Health Perspectives*. 109:239-243.
- Marcello, C. M., Steindorff, A. S., Silva, S. P., Silva, R. N., Mendes, B. L. A. and Ulhoa, C. J. 2010. Expression analysis of the exo- β -1,3-glucanase from the mycoparasitic fungus *Trichoderma asperellum*. *Microbiological Research*. 165:75-81.
- Naik, D. M., Nawa, I. N. and Raemaekers, R. H. 1982. Absence of an effect from internally seed-borne *Fusarium moniliforme* on plant emergence, plant growth and yield of maize. *Seed Science and Technology*. Vol. 10:56;347.
- Nelson, P. E. 1992. Taxonomy and biology of *Fusarium moniliforme*. *Mycopathologia*. 117:29-36.
- Nirenberg, H. I. And O'donnell, K. 1998. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*. 90(3):434-458.
- Munkvold, G. P., McGee, D. C., and Carlton, voW. M. 1997. Importance of different pathways for maize kernel infection by *Fusarium moniliforme*. *Phytopathology*. 87(2):209-217.
- Olivares, S. E. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía UANL. Marín, N. L.

- Ooka, J. J. and Kammedahl, T. 1977. Wind and rain dispersal of *Fusarium moniliforme* in corn field. *Phytopathology*. 67:1023-1026.
- Pereira, P., Nesci, A. and Etcheverry, M. G. 2009. Efficacy of bacterial seed treatments for the control of *Fusarium verticillioides* in maize. *BioControl*. 54:103-111.
- Reid, L. M., Hamilton, R. I., and Mather, D. E. 1996. Screening Maize for Resistance to *Gibberella* Ear Rot. Agriculture and Agri-Food Canada. Technical Bulletin. Publ. 196. 5E. Ottawa, Ontario.
- Rodríguez, M. R. y De León C. 2008. El cultivo de maíz. Colegio de Posgraduados. Editorial Mundi prensa México S.A. de C.V. 57-59; 127p.
- Schulthess, K. F., Cardwell, K. F. and Gounou, S. 2002. The effect to endophytic *Fusarium verticillioides* on infestation of two maize varieties by lipidopterous stemborers and coleopteran grain feeders. *Phytopathology*. 92(2):121-128.
- Sanz, L., Montero, M., Grondona, I., Vizcaíno, J. A., Llobell, A., R. Hermosa, E. Monte. 2004. Cell wall-degrading isoenzyme profiles of *Trichoderma* biocontrol strains show correlation with rDNA taxonomic species. *Current Genetics*. 46:277-286.
- Sánchez, V. y Rebolledo, O. 2010. Especies de *Trichoderma* en suelos cultivados con *Agave tequilana* en la región de Los Altos Sur, Jalisco y valoración de su capacidad antagónica contra *Thielaviopsis paradoxa*. *Revista Mexicana de Micología*. 32:11-18.
- Stefanova, M., Leiva, A. Larrinaga, L. y Coronado, M. F. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. *Revista Facultad de Agronomía*. 16:509-516.
- Sutton, J. C., Baliko, W., and Liu, H. J. 1980. Fungal colonization and zearalenone accumulation in maize ears injured by birds. *Canadian Journal of Plant Science*. 60(2):453-461.
- Sutton, J. C. 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*. 4(2):195-209.
- Shoresh, M., Yedidia, I. and Chet I. 2005. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. *Phytopathology*. 95(1):76-84.
- Velázquez, R. R., Contreras, C. H. A., Macías, R. L., Hernández, M. A., Aguirre, J., Casas, F. S., López, B. J. and Herrera, E. A. 2011. Role of the 4-phosphopantetheinyl transferase of *Trichoderma virens* in secondary metabolism and induction of plant defense responses. *Molecular Plant-Microbe Interactions*. 24(12):1459-1471.
- Vero, M. S. y Mondino, P. 1999. Control biológico postcosecha. Medidas para conservar fruta y hortalizas. *Horticultura Internacional*. Año 7. No. 26:29-36pp.

- Vinale, F., Sivasithamparamb, K., Ghisalbertic, E. L., Marraa, R., Woo, S. L. and Lorito, M. 2008. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*. 40:1–10.
- Viterbo, A., Montero, M., Ramot, O., Friesem, D., Monte, E., Llobell, A. and Chet, I. 2002. Expression regulation of the endochitinase chit36 from *Trichoderma asperellum* (*T. harzianum* T-203). *Current Genetics*. 42:114–122.
- Warham, E. J., Butler, L. D. y Sutton, B. C. 1996. Ensayos para la semilla de maíz y de trigo. Manual de laboratorio. CIMMYT. México, D. F. 84p.
- Yates, I. E., Bacon, C. W., Hinton, D. M. 1997. Effects of endophytic infection by *Fusarium verticillioides* on corn growth and cellular morphology. *Plant Disease* 81(7):723-728.

APÉNDICE

ANÁLISIS DE VARIANZA CEPAS DE *Trichoderma*

FV	GL	SC	CM	F	P>F
TRATAMIENTOS	2	30.896484	15.448242	1.9971	0.177
ERROR	12	92.822266	7.735189		
TOTAL	14	123.718750			

C.V. = 8.26 %

ANÁLISIS DE VARIANZA INCIDENCIA DE *F. verticillioides*

FV	GL	SC	CM	F	P>F
FACTOR A	3	3857.250000	1285.750000	8.4891	0.000
FACTOR B	2	29006.750000	14503.375000	95.7582	0.000
FACTOR C	3	157017.250000	52339.082031	345.5675	0.000
A X B	6	2698.250000	449.708344	2.9692	0.008
A X C	9	43050.250000	4783.361328	31.5820	0.000
B X C	6	17018.250000	2836.375000	18.7271	0.000
A X B X C	18	16336.750000	907.597229	5.9924	0.000
ERROR	432	65430.000000	151.458328		
TOTAL	479	334414.750000			

C.V. = 18.3058%

MEDIAS DE TRATAMIENTOS

FACTOR A (Tratamientos)	MEDIA INCIDENCIA
3 (TS + SL)	58.81250
2 (SL)	65.31250
1 (TS)	77.56250

MEDIAS DE GENOTIPOS

FACTOR B	MEDIA INCIDENCIA
2 (MESTIZO)	63.25000
3 (CRIOLLO)	65.91667
1 (H-520)	69.33333
4 (ISP-173)	70.41667

MEDIAS DE CEPAS ANTAGONISTAS

TRATAMIENTO	MEDIA INCIDENCIA
3 (CEPA T1 4)	47.417
1 (CEPA T1 40)	58.667
2 (CEPA T11)	66.583
4 (TESTIGO)	96.250

ANALISIS DE VARIANZA INCIDENCIA PUDRICION DE MAZORCA

FV	GL	SC	CM	F	P>F
BLOQUES	3	555.687500	185.229172	0.8393	0.523
FACTOR A	3	5934.875000	1978.291626	8.9635	0.000
FACTOR B	2	3215.625000	1607.812500	7.2849	0.001
FACTOR C	3	47114.062500	15704.687500	71.1571	0.000
A X B	6	1476.062500	246.010422	1.1147	0.357
A X C	9	3188.000000	354.222229	1.6050	0.119
B X C	6	1459.375000	243.229172	1.1021	0.364
A X B X C	18	5882.312500	326.795135	1.4807	0.105
ERROR	141	31119.312500	220.704346		
TOTAL	191	99945.312500			

C.V. = 28.2134%

MEDIAS DE TRATAMIENTOS

FACTOR A (Tratamientos)	MEDIA INCIDENCIA
3 (TS + SL)	46.875000
2 (SL)	55.781250
1 (TS)	55.312500

MEDIAS DE GENOTIPOS

FACTOR B	MEDIA INCIDENCIA
3 (ISP-173)	45.208332
2 (MESTIZO)	48.541668
1 (H-520)	53.333332
4 (CRIOLLO)	61.458332

MEDIAS DE CEPAS ANTAGONISTAS

TRATAMIENTO	MEDIA INCIDENCIA
3 (CEPA T1 4)	38.3333
1 (CEPA T1 40)	41.4583
2 (T11)	50.0000
4 (TESTIGO)	78.7500

TABLA DE MEDIAS DE TRATAMIENTOS /GENOTIPOS/CEPAS DE ANTAGONISTAS

GENOTIPOS	TRATAMIENTOS	CEPAS			
		T1 40	T11	T1 4	Testigo
H-520	TS	52.50	62.50	35.0	75.0
H-520	TA	42.50	62.50	42.50	75.0
H-520	TS+TA	27.50	55.00	35.0	75.0
MESTIZO	TS	50.00	52.50	42.50	75.0
MESTIZO	TA	52.50	47.50	35.00	75.0
MESTIZO	TS+TA	27.50	32.50	17.50	75.0
CRIOLLO	TS	42.50	87.50	45.00	87.50
CRIOLLO	TA	55.00	57.50	52.50	87.50
CRIOLLO	TS+TA	47.50	40.00	47.50	87.50
UAAAN-ISP-173	TS	40.00	22.50	37.50	77.50
UAAAN-ISP-173	TA	42.50	47.50	40.00	77.50
UAAAN-ISP-173	TS+TA	30.00	40.00	35.00	77.50

ARTICULO CIENTÍFICO

DETECCIÓN DE *Fusarium verticillioides* EN GENOTIPOS DE MAÍZ Y SU

BIOCONTROL *in vitro* CON ESPECIES DE *Trichoderma*

Fusarium verticillioides detection in maize genotypes and *in vitro* biocontrol *Trichoderma*
species

Epifanio Castro- del Ángel^{1*}, Abiel Sánchez-Arizpe¹, Ma. Elizabeth Galindo-Cepeda¹,
Mario Ernesto Vázquez-Badillo²

Departamento de Parasitología Agrícola¹, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro
(UAAAN). Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. CP 25315. (abielsanchez@hotmail.com).
Centro de Capacitación y Desarrollo en Tecnología de Semillas²
(mario59ernesto@hotmail.com). Autor para correspondencia: pifas_ros@live.com.mx

RESUMEN

El presente estudio tuvo como objetivo determinar la incidencia de *Fusarium verticillioides* en cuatro genotipos de maíz y la evaluación de cepas de *Trichoderma* como biocontrol bajo condiciones de laboratorio, se llevó a cabo en las instalaciones del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro en Buenavista, Saltillo en los meses de Enero a Mayo de 2013, cuatro muestras de maíz se sembraron en medio de cultivo verde de malaquita agar bajo un diseño completamente al azar, para determinar la incidencia de *F. verticillioides*, se contaron los granos que habían sido colonizados por el hongo, expresándose en términos de porcentaje, también se evaluaron *Trichoderma longibrachiatum* T1 40, *T. asperellum* T11, *T. harzianum* T1 4 en cultivos duales contra el patógeno, obteniendo los siguientes resultados para cada caso, se detecto la presencia de *F. verticillioides* en los cuatro genotipos de maíz con diferentes niveles de incidencia, el material criollo mostró la incidencia

más alta con 86.03%, seguido por H520 79.75%, mestizo 75.5% y UAAAN-ISP-173 con 72.07%. En cuanto al efecto antagónico de las tres cepas de *Trichoderma* inhibieron el desarrollo del patógeno con 35.69% para *T. longibrachiatum* T1 40, *T. asperellum* T11 inhibió 32.68%, mientras que *T. harzianum* T1 4 32.61%, evaluados a las 120h.

Palabras clave: *Trichoderma* spp, *F. verticillioides*, antagonismo, incidencia

ABSTRACT

The present study was designed to determine the incidence of *Fusarium verticillioides* in four maize genotypes and evaluation of *Trichoderma* as biocontrol strains under laboratory conditions, was carried out in the facilities of the Department of Parasitology at the Universidad Autonoma Agraria Antonio Narro in Buenavista, Saltillo in the months of January to May 2013, four samples of corn were sown in culture medium malachite green agar, to determine the incidence of *F. verticillioides*, counted the grains that had been colonized by the fungus, expressed in percentage terms, also assessed *Trichoderma longibrachiatum* T1 40, *T. asperellum* T11, *T. harzianum* T1 4 in dual cultures against the pathogen, with the following results for each case was detected the presence of *F. verticillioides* in four maize genotypes with different levels of incidence, native material showed the highest incidence with 86.03%, followed by H520 79.75%, mestizo 75.5% and UAAAN-ISP-173 with 72.07%. in terms of the antagonistic effect of the three *Trichoderma* strains inhibited the development of the pathogen with 35.69% for *T. longibrachiatum* T1 40, *T. asperellum* T11 32.68% inhibited while *T. harzianum* T1 4 32.61%, evaluated at 120h.

Keywords: *Trichoderma* spp., *F. verticillioides*, antagonism, incidence

INTRODUCCIÓN

Fusarium verticillioides es el hongo más importante que limita en gran medida la producción de maíz, causando considerables pérdidas económicas; así como cambios en su contenido nutritivo, sabor en los productos y contaminación de los granos con micotoxinas (Damarys *et al.*, 1976). Diversos autores señalan que el hongo tiene una amplia distribución geográfica y un rango de hospederos importante, ataca cultivos como: sorgo, maíz, higo, espárrago, pino y caña de azúcar entre otros (Boot, 1971; Gilbertson *et al.*, 1981). La entrada del patógeno a la mazorca de maíz puede ocurrir a través de heridas causadas por insectos o aves (Attwater *et al.*, 1983 y Sutton *et al.*, 1980) o por crecimiento de micelio sobre los vellos del jilote y de esporas que germinan sobre ellos (Hesseltine *et al.*, 1977; Koehler 1942 y Sutton, 1982). La infección inicia con la formación de micelio blanco, que va descendiendo desde la punta de la mazorca y da una coloración rojiza a rosada a los granos infectados (Levin *et al.*, 2003). Algunas cepas de *F. verticillioides* producen infecciones asintomáticas de la semilla, la cual se transmite a la plántula afectando su emergencia (Yates *et al.* 1997). Para el control del patógeno se emplean diferentes técnicas de control, siendo el control químico una de las más utilizadas, pero tienen desventajas ya que aumenta significativamente la residualidad de los productos en los granos, debido a esta necesidad del control de *F. verticillioides*, el emplear antagonistas como bacterias y especies de *Trichoderma* podría ser una alternativa de control biológico.

MATERIALES Y MÉTODOS

Localización del experimento

El presente trabajo se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, ubicada en Buenavista, Saltillo, Coah. México.

Cepas de antagonistas. Las cepas utilizadas en este trabajo fueron *Trichoderma longibrachiatum* T1 40, *T. asperellum* T11, *T. harzianum* T1 4, tomadas del cepario del Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología.

Fusarium verticillioides. Se aisló de granos de maíz criollo de la cosecha 2012 procedente de Chapopote Chalma Veracruz, en medio de cultivo verde de malaquita agar.

Genotipos. Fueron cuatro, dos criollos y dos híbridos, los híbridos H-520 f1 y Mestizo Diamante, proporcionados por el Grupo Hernández Montiel y Asociados S.P.R de R.L. cosecha 2012, un criollo se adquirió con productores de Chapopote Chalma Veracruz cosecha 2012 y el otro corresponde al material UAAAN-ISP-173, proporcionado por el Banco Nacional de Germoplasma de Maíces de México de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro de la cosecha de 2008, recolectado en Tenampulco, Puebla.

Determinación de incidencia de *F. verticillioides*

Se sembraron Cuatro muestras de maíz en medio de cultivo verde de malaquita agar, se desinfectaron 400 semillas por inmersión en solución de hipoclorito de sodio al 1% por 3min, para remover los residuos del desinfectante se lavaron tres veces con agua destilada estéril y se secaron con corriente de aire en cámara de flujo laminar, se utilizaron cajas de petri de plástico, en cada caja se colocaron 10 semillas equidistantemente una de otra, las muestras se incubaron a 28 ± 2 °C por dos semanas. El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones por cada genotipo.

Se realizó la identificación macroscópica, en un microscopio estereoscópico se observaron todos los granos que habían sido colonizados por el patógeno, para la identificación microscópica, se realizaron montas en portaobjetos y se observó en el microscopio compuesto en aumento de 40X, se utilizaron los manuales de Warham *et al.* (1996) y Nirenberg y O'donnell (1998), para la identificación del patógeno.

Análisis estadístico

Los porcentajes de incidencia se ajustaron mediante transformación arcoseno y se procesaron mediante un análisis de varianza en un diseño completamente al azar, la separación de medias fue por la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.01, con el programa de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FAUANL) versión 2.5.

Evaluación *in vitro* del efecto antagónico de *Trichoderma* spp. sobre *F. verticillioides*

Para las tres cepas se evaluó el porcentaje de inhibición de crecimiento radial y la capacidad antagónica en cultivo dual en medio de cultivo PDA, el experimento se estableció en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento y un testigo para el patógeno, se colocó en el extremo de la caja petri un disco de PDA con micelio de *F. verticillioides* de 8 mm de diámetro y en el extremo opuesto un disco de *Trichoderma* spp., las siembras fueron incubadas a 28 ± 2 °C por 10 d. Diariamente se midió el crecimiento micelial.

A los 10 d se determinó la capacidad antagónica empleando la escala de Bell *et al.* (1982), también se calcularon los valores medios de porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) a las 120h de acuerdo a Corrêa *et al.* (2007), se empleó la fórmula de Samaniego *et al.* (1989) citada por Ezziyyani *et al.* (2004), donde $PICR = R1 - R2 / R1$, siendo R1 es el radio mayor (radio del patógeno testigo) y R2 el radio menor (radio del patógeno en enfrentamiento con el antagonista).

Análisis estadístico

Las medias de PICR se ajustaron mediante transformación arcoseno y se procesaron por un análisis de varianza, la separación de medias fue por la prueba de Tukey con un nivel de significancia de 0.05, con el programa de la Facultad de Agronomía de la Universidad Autónoma de Nuevo León (FAUANL) versión 2.5.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Detección de *F. verticillioides*

Se detectó la presencia de *F. verticillioides* en los cuatro genotipos de maíz, se observó micelio extenso algodonoso en medio de cultivo, frecuentemente con algo de tinte rosa, púrpura o amarillo en el medio. Se encontraron microconidios abundantes simples y en cadenas, generalmente hialinos unicelulares, bicelulares, con forma oval y de garrote y estaban generalmente aplanados en cada extremo. Los macroconidios, con paredes delgadas y su forma de curvos en forma de canoa a casi rectos; con 3-7 septos y la célula basal en forma de pie. No hubo formación de clamidosporas en el micelio, las características coincidieron con los diferentes autores (Warham *et al.*, 1996; Nirenberg and O'donnell, 1998).

Incidencia de *F. verticillioides*

La incidencia se presentó de 72.07 hasta 86.03 en los cuatro genotipos, el criollo mostró la incidencia más alta con 86.03%, seguido por H520 79.75%, mestizo 75.5% y UAAAN-ISP-173 con 72.07%.

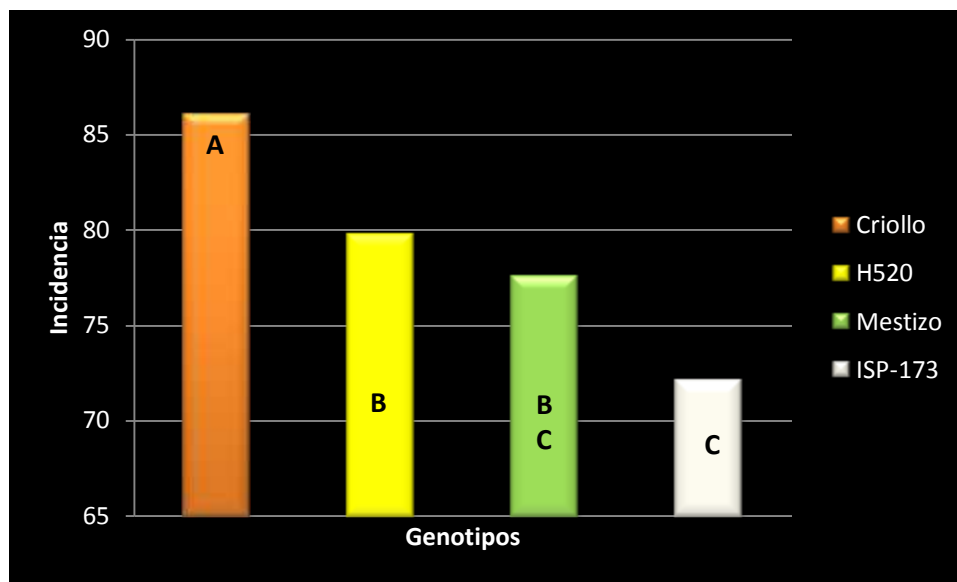


Figura 1. Incidencia de *F. verticillioides* en cuatro genotipos de maíz.
 Letras iguales no son estadísticamente diferentes, de acuerdo a la prueba de Tukey a 0.01 de significancia.

Los resultados obtenidos por Hernández *et al.* (2007), son muy similares a los encontrados en esta investigación ellos encontraron la presencia de *Fusarium* con valores de 76.9% de incidencia en maíces recolectados de campo en el norte de Tamaulipas, mientras que Bucio *et al.* (2003), encontraron incidencia de *Fusarium* de 30.7% en diferentes municipios del estado de Guanajuato. Kedera *et al.* (1999), reportaron incidencia de *F. verticillioides* con 71 a 72 % en tres muestras de maíz en Kenya, los niveles de incidencia reportados por estos autores son similares a los encontrados en este trabajo. Gallardo *et al.*, (2006), reportaron la presencia de *Fusarium* con 67% de incidencia en el Valle de Mayo, Sonora.

Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *F. verticillioides* en cultivo dual

Los resultados de la actividad antagónica de *Trichoderma* spp. por el método de cultivo dual resultaron ser favorables para el control *in vitro* de *F. verticillioides*. Las tres cepas inhibieron el crecimiento de *F. verticillioides* y lograron detener al patógeno al hacer contacto a los dos y tres días, el antagonismo se mostró en valores de 32.61 hasta 35.69%, no hubo diferencia

significativa entre cepas $P > 0.01$, las tres se comportaron de manera muy similar en cuanto al antagonismo.

Guigón *et al.* (2010) reportan que en evaluación de *T. asperellum* y *T. longibrachiatum* contra *Fusarium* sp. el antagonismo no fue significativo en comparación con demás patógenos, estas cepas no fueron capaces de detener el crecimiento del patógeno tal como sucedió en esta investigación, pareciera ser que las especies de *Fusarium* resisten la invasión de los antagonistas. *T. longibrachiatum* T1 40 fue el que presentó actividad antagónica más elevada 35.69% sobre *F. verticillioides* a las 120h, haciendo contacto a los dos días, por lo que recibe calificación de 1 en la escala de Bell *et al.* (1982). *T. asperellum* T11 inhibió 32.68%, mientras que *T. harzianum* T1 4 32.61%, ambos mostraron buenas potencialidades como antagonistas contra el patógeno ensayado y recibieron calificación de 2 en la misma escala, haciendo contacto hasta el día tres. Se logró observar enrollamiento, lisis de micelio, las cepas no fueron capaces colonizar sobre *F. verticillioides* tal como se muestra en la Figura 2.

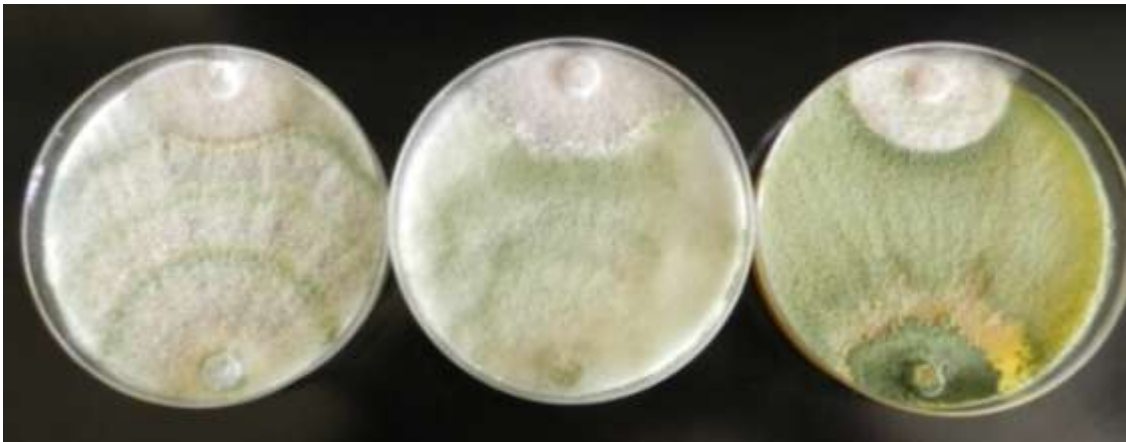


Figura 2. Escala de clasificación de Bell *et al.* (1982), clase 1: *T. longibrachiatum* T1 40, (derecha); clase 2: *T. harzianum* T1 4 (izquierda) *T. asperellum* T11 (centro).

Michel (2001), encontró 40.1% de inhibición en el hongo *F. oxysporum* y 35.9% en *F. subglutinans* por cepas de *T. longibrachiatum* en cultivos apareados evaluados a los seis días

después de la siembra, los reportes de estos autores concuerdan con lo encontrado en esta evaluación.

Esparza (2009), reporta que de acuerdo a la clasificación de antagonismo propuesta por Bell *et al.* (1982), ubicó a *T. asperellum* en la clase 1 con un 94.20% de inhibición según la media y a *T. longibrachiatum* en la clase 2 con un 89.01% contra el hongo *Phytophthora parasitica*. También logró observar como principal mecanismo de acción la competencia por el sustrato y el micoparasitismo, también dichos hongos indujeron lisis de micelio y la presencia de antibiosis, lo cual en esta investigación solo se logró ver lisis y colapso de micelio, pero no se pudo presenciar antibiosis en cultivos duales, siendo un patógeno completamente diferente al ensayado en esta investigación, por tal motivo no pueden comportarse similares.

CONCLUSIONES

El hongo *Fusarium verticillioides* se encontró en todos los genotipos analizados con diferentes niveles de incidencia. Las tres especies de *Trichoderma* redujeron la colonización de *F. verticillioides* en cultivo dual haciendo contacto a los dos y tres días.

AGRADECIMIENTOS

Al Grupo Hernández Montiel y Asociados S.P.R de R.L. y al Banco Nacional de Germoplasma de Maíces de México de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, por proporcionar los genotipos.

LITERATURA CITADA

Attwater, W. A., and Busch, L. V. 1983. Role of the sap beetle *Glischrochilus quadrisignatus* in the epidemiology of *Gibberella* corn ear rot. *Journal of Plant Pathology*. 5:158-163.

Bell, D. K., Well, H. D., and Markham, C. R. 1982. "In Vitro" antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology*.72:379-382.

- Boot, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 237 pp.
- Bucio, V. C. M., Martínez J. O. A., y Morales G. R. H. 2003. Contaminación con hongos en maíz recién cosechado en el estado de Guanajuato durante el año 2003. VII Congreso Nacional de Ciencia de los Alimentos y III Foro de Ciencia y Tecnología de Alimentos Guanajuato, Gto. México.
- Corrêa, M. M. S., Ávila, Z., Minaré, B. L., Pádua, R. R. y Gomes, D. 2007. CEPAS DE *Trichoderma* spp. PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE *Sclerotium rolfii* SACC. Fitosanidad. 11(1):3-9.
- Damarys M., C. Medina y Z. Zenteno. 1976. Morfología de mazorcas de maíz. México. II boletín de la Sociedad de Microbiología. 10:71-72.
- Esparza, L. L. L. 2009. Efectividad *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en aislados de *Phytophthora parasitica* D. obtenidos en plantas de Jamaica. Tesis UACH. Texcoco, Estado de México.
- Ezziyyani, M., Pérez, S. C., Ahmed, S. A., Requena M. E. & Candela M. E. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales de Biología. 26:35-45.
- Gallardo, R. E. D., Ibarra, M. G. M., Sánchez, M. R. I., Cuamea, C. G., Molina, G. D., Parra, V. N. V., Rosas, B. E. C., Cortez, R. M. O. 2006. Micobiota de maíz (*Zea mays* L.) recién cosechado y producción de fumonisina B1 por cepas de *Fusarium verticillioides* (Sacc.) Niremberg. Revista Mexicana de Fitopatología. 24(01):27-34.
- Guigón, L. C., Guerrero, P.V., Vargas, A. F., Carvajal, M. E., Ávila, Q. G.D., Bravo, L. L., Ruocco, M. L., S., Woo, S. y Lorito, M. 2010. Identificación Molecular de Cepas

- Nativas de *Trichoderma* spp. su Tasa de Crecimiento *in vitro* y Antagonismo contra Hongos Fitopatógenos. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 28:87-96.
- Gilbertson R.L. and Manning W. J. 1976. Ecology of *Fusarium moniliforme* and other *Fusarium* in cultivated field soil in Colorado. *Phytopathology*. 73:812.
- Hernández, D. S., Reyes, L. M. A., García, O. J. G., Mayek, P. N., Reyes M. C. A. 2007. Incidencia de hongos potencialmente toxígenos en maíz (*Zea mays* L.) almacenado y cultivado en el norte de Tamaulipas, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 25(2): 127-133.
- Hesseltine, C. W., and Bothast, R. J. 1977. Mold development in ears of corn from tasseling to harvest. *Mycologia*. 69(2):328-340.
- Kedera, C. J., Plattner, R. D. and Desjardins, A. E. 1999. Incidence of *Fusarium* spp. and levels of fumonisin b1 in maize in western Kenya. *Applied and environmental microbiology*. 65(1):41-44.
- Koehler, B. 1942. Natural mode of entrance of fungi into corn ears and some symptoms that indicate infection. *Journal of Agricultural Research*. 64(8):421-442.
- Levin, L., Ridao, A., Castaño, F. 2003. Fusariosis de la espiga en el maíz. INTA: 20ª Jornada de actualización profesional en cultivos de verano. Mar del Plata, 19 de setiembre de 2003.165.
- Michel, A. A. C. 2001. Cepas nativas de *Trichoderma* spp. (Euscomycetes:Hipocreales), su antibiosis y micoparasitismo sobre *Fusarium subglutinans* y *F. oxysporum* (Hyphomycetes:Hiphales). Tesis Doctorado. Universidad de Colima, México.
- Olivares, S. E. 1994. Paquete de diseños experimentales FAUANL. Versión 2.5. Facultad de Agronomía UANL. Marín, N. L.

- Nirenberg, H. I. And O'donnell, K. 1998. New *Fusarium* species and combinations within the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*. 90(3):434-458.
- Sutton, J. C., Baliko, W., and Liu, H. J. 1980. Fungal colonization and zearalenone accumulation in maize ears injured by birds. *Canadian Journal of Plant Science*.60(2):453-46.
- Sutton, J. C. 1982. Epidemiology of wheat head blight and maize ear rot caused by *Fusarium graminearum*. *Canadian Journal of Plant Pathology*.4(2):195-209.
- Warham, E. J., Butler, L. D. y Sutton, B. C. 1996. Ensayos para la semilla de maíz y de trigo. Manual de laboratorio. CIMMYT. México, D. F. 84p.
- Yates, I. E., Bacon, C. W., Hinton, D. M. 1997. Effects of endophytic infection by *Fusarium verticillioides* on corn growth and cellular morphology. *Plant Disease*. 81(7):723-728.