

**EVALUACIÓN DE ESPECIES NATIVAS DE *Trichoderma* DE LA
COMARCA LAGUNERA PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE
*Phymatotrichum omnivorum***

ROSALINDA CERVANTES MARTINEZ

T E S I S

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

MAESTRO EN CIENCIAS AGRARIAS



**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA
DIRECCION DE POSTGRADO**

Torreón, Coahuila, México. Diciembre de 2007

DEDICATORIA

A mi esposo Julián Cerano Paredes

Por su profundo amor, comprensión, paciencia y apoyo que me ha dado para alcanzar ésta meta.

A mis hijos

Rafael y Julián por su paciencia y amor, ustedes son el motivo para seguir adelante y superarme cada día.

A mis padres

Por su gran amor y apoyo incondicional, que Dios los bendiga y les de la fortaleza necesaria para seguir siendo unos excelentes padres.

A mis hermanos

Gilberto, Valente, Gabino, Jorge Luis, Javier y Josefina. Por su cariño, gracias por ser los mejores hermanos del mundo.

A mi abuelita Hermelinda Palafox por sus consejos y cariño incondicional.

A mis cuñadas y cuñados por su amistad y apoyo.

AGRADECIMIENTOS

A DIOS. Por guiarme e iluminarme en el camino de la vida y sobre todo por darme la oportunidad de vivir y alcanzar mis objetivos. Gracias por tu inmenso amor y bendiciones, Señor.

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

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

AL CENID-RASPA INIFAP, FUNDACIÓN PRODUCE por el apoyo brindado.

Al Dr. Guillermo González Cervantes, por su apoyo, consejos e innumerables sugerencias, paciencia, confianza para la realización de ésta investigación y por la amistad recibida.

Al Ph.D. Vicente Hernández Hernández, por su confianza y apoyo.

A los integrantes del comité revisor: Ph.D. Vicente Hernández Hernández, Dr. Vicente de Paúl Álvarez Reyna, Dr. Esteban Favela Chávez y Dr. Guillermo González Cervantes quienes me brindaron su apoyo, sugerencias y correcciones para la mejor la realización de este trabajo.

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

A mis amigos Yolanda Agüero y Dante Arce por el gran apoyo brindado en la realización de esta investigación.

A mi amigo Eduardo Chávez Ramírez por su valioso apoyo en los muestreos de campo.

A mis amigos y compañeros de Postgrado, por su amistad, acertados consejos.

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

A todos ustedes muchas gracias.

COMPENDIO

EVALUACION DE ESPECIES NATIVAS DE *Trichoderma* DE LA COMARCA LAGUNERA PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Duggar

POR

ROSALINDA CERVANTES MARTINEZ

MAESTRÍA EN CIENCIAS AGRARIAS

TORREÓN, COAHUILA, NOVIEMBRE DE 2007

Ph. D. VICENTE HERNÁNDEZ HERNÁNDEZ -Asesor

Palabras claves: Biorregulador, *Trichoderma*, *Phymatotrichum omnivorum*

El hongo *Phymatotrichum omnivorum*, es un patógeno del suelo que ocasiona una de las enfermedades más destructivas y difíciles de controlar. El control biológico, es una alternativa más para el manejo de la enfermedad. *Trichoderma* spp., es un hongo habitante natural del suelo que es utilizado como antagonico de varios hongos fitopatógenos. El presente trabajo consistió en evaluar la acción antagonica de aislamientos nativos de *Trichoderma* de la

Comarca Lagunera frente a una cepa de *P. omnivorum* e identificar las especies de estos aislamientos. Se realizaron enfrentamientos duales en laboratorio para determinar el grado de antagonismo de 13 aislamientos de *Trichoderma* frente al fitopatógeno. Además, los 13 aislamientos y un testigo con cuatro repeticiones fueron evaluados en macetas al aire libre; utilizando esclerocios de *P. omnivorum* y plantas de frijol para evaluar la actividad antagónica de *Trichoderma*. Todos los aislamientos mostraron actividad antagónica efectiva contra *P. omnivorum*. Las especies identificadas de *Trichoderma* fueron *T. harzianum*, *T. koningii*, *T. pseudokoningii*. *Trichoderma* presentó un control efectivo de *P. omnivorum* y por lo que puede ser utilizado como biorregulador de la pudrición texana.

Palabras claves: Biorregulador, *Trichoderma*, *Phymatotrichum omnivorum*

ABSTRACT

EVALUATION OF NATIVE SPECIES OF *Trichoderma* OF THE
COMARCA LAGUNERA FOR BIOLOGICAL CONTROL OF
Phymatotrichum omnivorum (Shear) Duggar

EVALUACION DE ESPECIES NATIVAS DE *Trichoderma* DE LA
COMARCA LAGUNERA PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE
Phymatotrichum omnivorum (Shear) Duggar

BY

ROSALINDA CERVANTES MARTINEZ

MASTER OF SCIENCE
AGRONOMIC

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA

TORREÓN, COAHUILA, NOVEMBER OF 2007

Ph. D. VINCENT HERNANDEZ HERNANDEZ -Adviser

Key words: Bioregulator, *Trichoderma*, *Phymatotrichum omnivorum*

The fungus *Phymatotrichum omnivorum* is a soilborne plant pathogen causing one of the most destructive diseases, hard to control. Biological control is an alternative for the management of the disease. *Trichoderma spp* is a natural, soil habitant fungus utilized as antagonist to several plant pathogenic

fungi. This study was performed to identify species of native isolates of *Trichoderma* from the Comarca Lagunera and to evaluate their antagonist action to a strain of *P. omnivorum*. Dual confrontation between both organisms was made in the laboratory to determinate the antagonism degree of 13 isolates of *Trichoderma* to de plant pathogen. The 13 isolates were also evaluated in pots in the field at four replications; sclerotia of *P. omnivorum* and bean plants were used to evaluate the antagonistic activity of *Trichoderma*. All the isolates had effective antagonistic activity against *P. omnivorum*. The isolates of *Trichoderma* were identified as *T. harzianum*, *T. koningii* and *T. pseudokoningii*. *Trichoderma* had effective *P. omnivorum* control and can be used as bioregulator agent of the Texas root rot.

INDICE

INDICE DE CUADROS	xi
INDICE DE FIGURAS	xii
I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 OBJETIVOS	3
1.2 HIPÓTESIS	3
II. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Control Biológico	4
2.2 Antecedentes del control biológico	5
2.3 Importancia del control biológico	6
2.4 Control biológico por medio de <i>Trichoderma</i>	7
2.5 Generalidades del género <i>Trichoderma</i>	9
2.5.1 Clasificación y descripción taxonómica	9
2.5.2 Biología	11
2.5.3 Requerimientos de temperatura	13
2.5.4 Requerimientos nutricionales	14
2.5.5 Distribución	15
2.6 Mecanismos de acción	15
2.6.1 Enzimas producidas por <i>Trichoderma</i>	17
2.6.2 Capacidad antagónica	18
2.6.3 Hongos controlados por <i>Trichoderma</i>	19
2.7 El fitopatógeno: <i>Phymatotrichum omnivorum</i> (Shear) Duggar	20
2.7.1 Clasificación y descripción taxonómica	21
2.7.2 Morfología	21
2.7.3 Hospederos	22
2.7.4 Distribución geográfica	22
2.7.5 Biología	23
2.8 Detección e identificación	24
2.8.1 Síntomas	24
2.8.2 Ciclo de la enfermedad	26
2.8.3 Medios de movimiento y dispersión	27
2.8.4 Control	27
2.8.5 Medidas fitosanitarias	28
2.9 <i>Trichoderma</i> spp contra <i>Phymatotrichum omnivorum</i>	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS	30
3.1 Localización del área de estudio	30
3.2 Aislamiento e identificación de especies nativas de <i>Trichoderma</i> en suelos de la Comarca Lagunera	31
3.2.1 Sitios de muestreo	31
3.2.2 Aislamientos de <i>Trichoderma</i> spp	33
3.2.3 Purificación y conservación de los aislamientos de <i>Trichoderma</i> spp.	33
3.2.4 Selección e identificación de especies de <i>Trichoderma</i>	34
3.3 Prueba <i>in vitro</i>	35
3.4 Prueba en maceta	36
3.4.1 Preparación del inóculo de <i>Phymatotrichum omnivorum</i>	37
3.4.2 Preparación del inóculo de <i>Trichoderma</i> spp.	38

3.4.3 Prueba de germinación	38
3.4.4 Preparación de las macetas de estudio	39
3.4.5 Aplicación de los microorganismos	39
3.4.6 Siembra	39
3.4.7 Tratamientos	39
3.4.8 Diseño experimental	40
3.4.9 Variables a evaluar	40
IV. RESULTADOS	42
4.1 Aislamientos de especies nativas de <i>Trichoderma</i>	42
4.2 Identificación de los 13 aislamientos de <i>Trichoderma</i> seleccionados	43
4.3 Prueba <i>in vitro</i>	44
4.4 Prueba de germinación	47
4.4.1 Longitud de tallo y a los 30 días después de la siembra	47
4.4.2 Peso total de las plantas	49
4.4.3 Evaluación del estado físico de esclerocios después de 30 días en medio infestado por <i>Trichoderma</i> .	50
V. DISCUSIÓN	51
VI. CONCLUSIONES	54
VII. RECOMENDACIONES	54
VIII. LITERATURA CITADA	56
IX. APENDICE A	66

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Principales hongos controlados por <i>Trichoderma</i>	19
Cuadro 2. Huertas de nogal muestreadas en la Comarca Lagunera para el aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp. UAAAN – UL. Torreón, Coah. 2006.	32
Cuadro 3. Tratamientos de <i>Trichoderma</i> spp contra <i>Phymatotrichum omnivorum</i> . UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	40
Cuadro 4. Aislamientos de <i>Trichoderma</i> spp obtenidos de huertos de nogal por sitio de muestreo. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	42
Cuadro 5. Aislamientos de <i>Trichoderma</i> seleccionados para su evaluación. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	43
Cuadro 6. Identificación a nivel de especie de las 13 cepas de <i>Trichoderma</i> seleccionadas para éste estudio	43
Cuadro 7. Antagonismo de <i>Trichoderma</i> contra <i>P. omnivorum</i> in vitro. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	45
Cuadro 8. Crecimiento promedio de <i>P. omnivorum</i> en los enfrentamientos con <i>Trichoderma</i> spp. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.	46
Cuadro 9. Longitud de tallo de plantas de frijol a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.	48
Cuadro 10. Peso fresco total de las plantas a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL Torreón, Coah., 2007.	49

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. Localización geográfica del área de estudio	30
Figura 2. Localización geográfica de sitios de muestreo en Coahuila y Durango, dentro de la región hidrológica 36 al norte de México	31
Figura 3. Enfrentamiento dual entre <i>Trichoderma</i> y <i>P. omnivorum</i>	35
Figura 4. Grafico de temperatura máxima, mínima y media para el periodo de prueba en macetas (CENID-RASPA, 2007).	36
Figura 5. <i>Trichoderma. harzianum</i>	44
Figura 6. <i>Trichoderma pseudokoningii</i>	44
Figura 7. <i>Trichoderma koningii</i>	44
Figura 8. Crecimiento promedio de <i>Phymatotrichum omnivorum</i> y <i>Trichoderma</i> a 72 horas.	46
Figura 9. Crecimiento promedio de la longitud de tallo a los 30 días	48
Figura 10. Peso fresco promedio de las plantas a los 30 días	50

I. INTRODUCCIÓN

La distribución mundial de patógenos del suelo principalmente, de los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, *Macrophomina*, *Verticillium* y *Phymatotrichum* afectan el rendimiento de los principales cultivos de importancia económica para el hombre. Estos fitopatógenos son importantes por su supervivencia, ya que pueden persistir en el suelo por años debido a las estructuras de resistencia que forman y su amplio rango de hospedantes; su distribución es amplia ya que se encuentran en la mayoría de los suelos, las enfermedades que causan pueden matar las plantas y/o reducir los rendimientos (Hernández, 2002; Chew y Jiménez, 2002; Herrera y Samaniego, 2002).

El hongo *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Duggar es un patógeno del suelo que causa serios problemas de pudrición de raíz en diferentes especies de árboles en el Suroeste de Estados Unidos (Arizona, California, Nuevo Mexico, Texas) y Norte de México (Chihuahua, Coahuila, Durango, Nuevo León) (Lyda, 1978; Percy, 1983; Samaniego-Gaxiola et al, 2003). Está adaptado a suelos de pH alto y temperatura óptima de 28°C; tiene un amplio rango de hospedantes, y puede atacar a más de 2.000 especies de plantas entre silvestres y cultivadas; en la Comarca Lagunera, además de noaal afecta a vid, algodónero, alfalfa, chile, tomate y árboles ornamentales (Streets y Bloss, 1973; Herrera y Samaniego, 2002).

El nogal en el norte del país, está sujeto al ataque de pocos organismos patógenos, sin embargo, *P. omnivorum*, puede provocar pérdidas cuantiosas a las huertas afectadas. En un muestreo realizado en 1995 en nogales cuyas edades fluctuaban entre 10 y 48 años se encontró una incidencia de la enfermedad de 10.5%. Se estima que las pérdidas ocasionadas por pudrición texana en nogal en la laguna son de 12 millones de pesos anuales (Herrera y Samaniego, 2002).

La búsqueda de formas de control que eviten la contaminación del medio ambiente, con menor riesgo para las plantas y la micoflora del suelo, ha conducido a soluciones basadas en el uso de microorganismos antagónicos de los patógenos y la creación de un medio más propicio para el desarrollo de estos organismos a la vez que se induce un equilibrio biológico que reduce fuertemente el potencial infectivo de fitopatógenos como el causante de la pudrición texana.

Actualmente, una realidad tangible, es la posibilidad de controlar biológicamente los patógenos causantes de enfermedades en las plantas. Las técnicas y métodos existentes para aislar y estudiar a los posibles antagonistas, han permitido encontrar día a día nuevos agentes controladores; entre éstos destaca el hongo *Trichoderma*. En la Comarca Lagunera se inició este estudio con el propósito de conocer la actividad antagónica de especies nativas de *Trichoderma* contra *P. omnivorum*.

1.1. Objetivos

1. Identificación de especies del género *Trichoderma* en suelos de la Comarca Lagunera.
2. Evaluación del antagonismo de las especies de *Trichoderma* contra *P. omnivorum*.

1.2. Hipótesis

1. En los suelos de la Comarca Lagunera existen diversas especies de *Trichoderma*.
2. El parasitismo de *Trichoderma* contra *P. omnivorum*, presenta un control efectivo de la pudrición texana.

II. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Control Biológico

En la naturaleza existe una interacción continua entre los fitopatógenos potenciales y sus antagonistas de forma tal que estos últimos contribuyen a que no haya enfermedad en la mayoría de los casos; es decir, el control biológico funciona naturalmente (Cook & Baker 1983). En condiciones naturales los microorganismos están en un equilibrio dinámico en la superficie de las plantas.

El Control Biológico como la reducción de la densidad del inóculo o de las actividades de un patógeno que produce una enfermedad, por uno o más organismos, en forma natural o través de la manipulación del medio ambiente, del hospedero o de antagonistas del patógeno, o por la introducción de una población de uno o más antagonistas del patógeno o plaga que se quiere controlar (Baker y Cook, 1974). Esta definición refleja que el Manejo Integral de Poblaciones, es más que una acción específica dirigida a un sólo patógeno, como podría ser el uso de productos químicos (Arcia, 1995).

El control biológico en un sentido más estricto es el uso de microorganismos antagonistas que interfieren en la supervivencia de patógenos o en el desarrollo de actividades determinantes de enfermedad (Vero y Mondito, 1999).

2.2. Antecedentes del control biológico

El control biológico en amplio sentido ha sido usado por el hombre desde los inicios de la agricultura. Durante el tercer y cuarto milenio se utilizaba el barbecho como la técnica principal en los sistemas de producción en los países de Europa; posteriormente se combinó con la rotación de cultivos con la finalidad de disminuir las enfermedades e incrementar la fertilidad de los suelos (Campbell, 1989).

Se estableció que el control biológico contemporáneo presenta uno de los más grandes cambios de todos los tiempos, es por ello que se necesita la atención de varias disciplinas para conducir a bases científicas sólidas de investigación y poder aplicarlo a nivel comercial (Cook, 1985 citado por De Paz y Méndez, 1997).

El control biológico no solo incorpora la introducción de antagonistas en los sistemas de producción sino que también incluye la manipulación del medio ambiente, manejo de residuos de cosecha y un amplio rango de prácticas culturales (Mukerji, 1988). Entre los métodos de control biológico es importante la utilización de microorganismos antagonicos.

2.3. Importancia del Control Biológico

El control biológico actualmente ocupa un lugar importante dentro de las prácticas de manejo de enfermedades de las plantas causadas por patógenos fúngicos del suelo. Durante los pasados 25 años pocas áreas de investigación dentro de la fitopatología han atraído más interés que la introducción de microorganismos para el control de fitopatógenos. Los gobiernos de muchos países están cada día más conscientes de la problemática de plaguicidas químicos en términos de su impacto en el medio ambiente, salud, así como en los agricultores y consumidores de productos agrícolas. Por lo tanto, hay una gran necesidad de utilizar el control biológico para patógenos que actualmente no se han controlado o sólo se ha hecho parcialmente (Cook, 1993)

El control biológico mediante la aplicación de antagonistas (biofungicidas) puede ser una alternativa a otros métodos de control y es una herramienta más a utilizar en el control integrado de enfermedades vegetales (Melgarejo et al., 2005).

En las condiciones actuales del comercio globalizado de los productos agrícolas, el Control Biológico se presenta como una herramienta que da un valor agregado a la producción, tanto para el comercio nacional como internacional.

Actualmente hay unos 50 productos biológicos formulados en el mercado internacional que proceden mayoritariamente de Estados Unidos de América e

Israel y se aplican sobre todo en pulverización o a las semillas. Un 68% va dirigido a patógenos del suelo y solo un 20% a enfermedades de partes aéreas (Melgarejo y De Cal, 2006).

Sin embargo, antes de que el control biológico llegue a ser un componente importante en el manejo de enfermedades de las plantas, éste debe ser efectivo, confiable, consistente y económico.

Las inconsistencias encontradas en el Control Biológico de patógenos con antagonistas potenciales es un problema cuya solución implica un proceso a largo plazo que se debe implementar con el manejo habitual del cultivo (Pineda y Tortolero, 1995).

2.4. Control biológico por medio de *Trichoderma* spp.

Las especies de *Trichoderma* poseen posibilidades como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos que inhiben el desarrollo de los hongos, fungicidas y enzimas hidrolíticas a los que se les atribuyen los cambios estructurales ocasionados a nivel celular en el hospedante, tales como vacuolación, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular (Lifshits, *et al.*, 1986; Acevedo y Arcia, 1988).

El potencial de las especies de *Trichoderma* como agente de control de enfermedades de plantas fue reconocida en 1930 (Weindling, 1932) y desde

entonces, numerosas especies clasificadas dentro de este género se han utilizado en experimentos de control biológico de muchos patógenos de plantas (Benítez *et al.*, 1998).

Trichoderma spp además tiene diversas ventajas como agente de control biológico, pues posee un rápido crecimiento, desarrollo y produce una gran cantidad de enzimas, inducidas ante la presencia de hongos fitopatógenos. Puede desarrollarse en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para su uso en la agricultura. Tiene tolerancia a condiciones ambientales extremas y a hábitat donde los hongos causan enfermedad; puede sobrevivir en medios con contenidos significativos de plaguicidas y otros químicos (Tronsmo y Hhjelijord, citado por Trosmino 1998). Además, su gran variabilidad lo convierte en un reservorio de posibilidades de control biológico bajo diferentes sistemas de producción y cultivos.

En Cuba a partir de 1990 se efectuaron diversos estudios dirigidos al biocontrol de hongos fitopatógenos del suelo en tabaco, hortalizas y otros cultivos con aislamientos de *Trichoderma* seleccionados "*in vitro*" por su elevada capacidad hiperparasítica y posteriormente utilizados en forma de formulaciones comerciales para combatir *Phytophthora nicotianae*, *P. capsici*, *Rhizoctonia solani* y otros fitopatógenos en condiciones de campo, sin embargo la consistencia de las cepas en el suelo fue inestable, por lo que se sugirió la obtención de cepas nativas (Adams, 1990).

En México, particularmente en la Comarca Lagunera, se realizan investigaciones con especies de *Trichoderma* aisladas de estos suelos desde 1985, localmente se conoce poco de los avances que se han tenido (Gómez-Escobedo y Samaniego-Gaxiola, 1999).

En años posteriores el control de muchas enfermedades se han añadido a la lista. Esto ha culminado en la producción comercial de varias especies de *Trichoderma* para la protección y aumento en el crecimiento de numerosos cultivos en los estados Unidos, y en la producción de *Trichoderma* y mezcla de especies en India, Israel, Nueva Zelanda y Suiza (Howell, 2002).

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

2.5. Generalidades del género *Trichoderma* sp.

2.5.1. Clasificación y descripción taxonómica

Este hongo fue descrito por primera vez hace 200 años por los micólogos como un gasteromiceto y solo un siglo después se realizó el análisis de su estructura y características para ser clasificado como género entre los hongos filamentosos, con propiedades y actividades biológicas cada vez más usadas en la agricultura actual (Villegas, 2005).

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

La clasificación taxonómica actual lo ubica dentro del Dominio Eukarya, Reino de los hongos, División Eumycota, Subdivisión Deuteromycotina, Clase Hyphomycetes, Orden Moniliales, Familia Moniliaceae, Género *Trichoderma* con 27 especies conocidas como ejemplo: *T. harzianum* Rifai, *T. viride* Pers., *T. polysporum* Link fr, *T. reesei* EG Simmons, *T. virens* , *T. longibrachatum* Rifai, *T. parceromosum* , *T. pseudokoningii* , *T. hamatum* , *T. lignorum* y *T. citroviride*.

Su fase perfecta (estado Telemorfo) lo ubica en la Subdivisión Ascomycotina, Clase Pyrenomycetes, Orden Hipocreales, Género *Hypocrea*. Tiene como sinónimos el género *Tolypocladium* (Samuels, 1996).

Las primeras clasificaciones taxonómicas preliminares se basan fundamentalmente en las características morfológicas de las especies, que a

menudo no aportan la información suficiente para discernir unas de otras. Aunque existe un concepto general de morfología básica de *Trichoderma* (crecimiento rápido, esporulación abundante, conidios verdes y conidióforos mal definidos), éste no está establecido por completo, existiendo una integración con otros géneros hifomicetos. Rifai (1969), dividió el género en nueve agregados de especies Gams y Bissett (1998) definieron las secciones *Trichoderma*, *Longibrachiatum*, *Pachybasium* e *Hypocreanum*. Desde entonces y con la aplicación de diversas técnicas moleculares como cariotipos electroforéticos, análisis de isoenzimas, análisis de polimorfismos en la longitud de fragmentos de restricción (RFLP), polimorfismos de fragmentos de ADN amplificados al azar (RAPD), secuenciación de ADN (por ejemplo, de secuencias espaciadoras intergénicas del ADN ribosómico o ITS), junto con técnicas bioquímicas y fisiológicas, se han ido redefiniendo o confirmando tanto secciones completas como especies dentro del género (Lieckfeldt *et al.*, 1998). Por ejemplo, la inclusión en el género *Trichoderma* de *Gliocladium virens*, uno de los hongos más citados en control biológico, ha sido aceptada sólo después de ser determinada mediante el análisis de secuencias de ITS (Rehner y Samuels, 1994).

2.5.2. Biología

Este hongo se identifica como una mota de color verde habitante natural del suelo. Visto al microscopio parece un árbol pequeño, que produce conidios, los cuales aseguran la supervivencia del hongo en la próxima generación. La

aparición de mota son ramificaciones del micelio. *Trichoderma* spp produce en el micelio, ensanchamientos, que luego toman forma globosa u ovoide llamadas clamidosporas, las cuales son bastante tolerantes a condiciones ambientales adversas y son consideradas estructuras de supervivencia, ya que pueden perdurar a través del tiempo (Esposito y Da-Silva, 1998; Harman, 2001; Papavizas, 1985).

La mayoría de las células poseen numerosos núcleos (heterocarióticas), algunas células pueden llegar a tener más de 100. Varios factores genéticos asexuales, como la combinación parasexual, mutación y otros procesos contribuyen a la variación de este género.

Trichoderma spp toma nutrimentos de los hongos y materiales orgánicos ayudando a su descomposición, por lo que las incorporaciones de materia orgánica y composta lo favorecen; requiere de humedad para poder germinar; la velocidad de crecimiento de este organismo es alta, por esto es capaz de establecerse en el suelo y controlar enfermedades (Esposito y Da-Silva, 1998; Papavizas, 1985).

En los suelos de huertas de nogal en La Laguna, se pueden aislar fácilmente hongos micoparásitos que atacan a *Phymatotrichum*, *Verticillium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia* y *Fusarium* (Samaniego, et al 1988, 1989). Estos micoparásitos también se han aislado de raíces de nogal (Pérez-García, et al., 1991).

2.5.3. Requerimientos de Temperatura

El rango de temperaturas máximas que pueden tolerar, Danielson y Davey, (1973) indican que *T. harzianum* tolera sobre los 30° a 38°C; y que la temperatura óptima para *T. harzianum*, fue 20°C (Knudsen y Bin, 1990). Para *T. koningii*, la temperatura máxima varía de 32 a 35°C; *T. hamatum*, de 30 a 35°C; para *T. viride* y *T. polysporum*, varía entre 28 y 31°C y crece mucho mejor que las otras especies a 7°C, las especies que toleran temperaturas máximas más altas son *T. pseudokoningii* y *T. saturnisporum*, las cuales toleran de 40 a 41°C (Danielson y Davey, 1973).

En un estudio de caracterización fisiológica realizado por Rodríguez y Arcia (1993) de *Trichoderma* spp., indican que las temperaturas óptimas para el crecimiento fueron de 25 a 30°C.

Trichoderma es un hongo con alta capacidad de tolerar un amplio rango de temperaturas; McBeath y Adelman (1991) aislaron una cepa en suelos de Alaska, y a pesar de ser un aislamiento de clima frío, registra crecimiento aún a los 4 °C, toleró una temperatura máxima para su desarrollo de 33 °C. Sin embargo, el hecho de que logre crecer a una temperatura diferente a la del sitio donde fue aislado, no es garantía que exprese su antagonismo hacia un patógeno determinado; Acevedo y Arcia (1988) demostraron que aislamientos de zonas frías no son eficientes biocontroladores en zonas cálidas y viceversa. Así mismo, en trabajos realizados por Rodríguez y Arcia (1993), se refleja que no necesariamente las temperaturas óptimas para el crecimiento (25 a 30 °C),

son las temperaturas óptimas para expresar su antagonismo, ya que esas mismas cepas de *Trichoderma* mostraron una habilidad antagónica prácticamente nula a 30 °C.

2.5.4. Requerimientos nutricionales

Trichoderma, es un hongo que consume otros hongos, materia orgánica y nutrimentos secretados por las raíces. Éste se desarrolla mejor con L-alanina, L-aspartico, ácido L-glutamático y ácido casamino como fuentes de nitrógeno. El desarrollo sobre NH_4^+ fue consistentemente superior al desarrollo sobre NO_3^+ ; en tanto que algunos aislamientos de *T. hamatum* y *T. koningii* fueron incapaces de usar NO_3^+ . Las mejores fuentes de carbón fue la Dextrosa, Fructosa, Manosa, Galactosa, Xylosa, Ribosa y Celobiosa; la capacidad de usar la Sucrosa, Melitosa y Rafinosa fue relacionada a unidades taxonómicas. Todos los aislamientos probados descomponen rápidamente la celulosa (Danielson y Davey, 1973).

La cantidad de nutrimentos influye en la densidad del micelio, pero no en el crecimiento (Knudsen and Bin, 1990; Larenas y Montealegre, 1995). La densidad del micelio, proveniente de pellets de alginato, con un contenido de 95 % de harina de trigo, fue notoriamente mayor, que en pellets con sólo un 3 % de harina, pero el largo del micelio para ambos pellets fue el mismo (Larenas y Montealegre, 1995). El crecimiento micelial es independiente de la cantidad de alimento y directamente proporcional a su densidad (Knudsen y Bin, 1990).

2.5.5. Distribución

00887

Las especies del género *Trichoderma* se encuentran ampliamente distribuidas, prácticamente en todos los climas del mundo, contando con capacidad de crecimiento en diferentes substratos; restos vegetales y madera degradada, asimismo, se localiza con mayor frecuencia en el suelo (Cabrera et al, 2005).

Han sido varias las especies señaladas de *Trichoderma*, los cuales tienen variada distribución geográfica (Danielson y Davey, 1973); las más importantes son:

<i>T. hamatum</i> y <i>T. pseudokoningii</i>	Condiciones de excesiva Humedad
<i>T. viride</i> y <i>T. polysporum</i>	Regiones de temperaturas frías
<i>T. harzianum</i>	Característico de temperaturas cálidas
<i>T. koningii</i> y <i>T. hamatum</i>	Ampliamente distribuidas

2.6. Mecanismos de acción

Los mecanismos de biocontrol referidos para *Trichoderma*, son: Micoparasitismo, competencia por los nutrimentos en el exudado de la semilla y/o antibiosis (Lifshits et al., 1986). El micoparasitismo es el principal mecanismo de acción de *Trichoderma* (Harman et al., 1981).

La efectividad de *Trichoderma*, contra hongos fitopatógenos se ha demostrado en muchas ocasiones (Roiger *et al.*, 1991), esta efectividad se relaciona con su capacidad de competencia y el fenómeno de antibiosis (Ghrisalberti y Sivacithamparam, 1991) por la producción de enzimas líticas, metabolitos secundarios y micoparasitismo (Henis *et al.*, 1983).

Varios mecanismos han sido demostrados recientemente, con los cuales *Trichoderma* actúa como biocontrolador y como colonizador de las raíces, como son: el micoparasitismo, antibiosis, competencia por nutrimentos y espacio, desactivación de las enzimas de los patógenos, tolerancia al estrés y ayuda al desarrollo del sistema radicular, solubilización y absorción de nutrientes inorgánicos y finalmente la resistencia inducida (Harman, 2001). Los primeros cuatro mecanismos mencionados tienen acción directa sobre los hongo fitopatógenos; los otros son indirectos, ya que su acción es impulsar mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos de la planta.

En todo caso, cada relación patógeno-*Trichoderma* muestra un mecanismo de acción específico (McAllister *et al.*, 1994). En la evaluación del tipo de antagonismo de tres aislamientos de *Trichoderma* ante *Macrophomina phaseolina* concluyeron que la antibiosis parece ser el mecanismo de acción en esta relación, pero que hace falta continuar investigando sobre los posibles antibióticos producidos (García y Zambrano, 1991); uno de los metabolitos secundarios que se reportan es el 6-pentyl-a-pyrone (Dumas *et al.*, 1996).

En la acción de *Trichoderma* sobre esclerocios de *Sclerotium rolfsii* resalta que la capacidad de penetración es importante pero no la única propiedad requerida por *Trichoderma* para ser un eficiente biocontrolador, ya que algunos esclerocios que fueron penetrados mantuvieron su firmeza y no fueron degradados en su interior (Henis, *et al.*, 1983).

Otros investigadores sugieren la producción de metabolitos volátiles inhibitorios como posible mecanismo de control (Nelson y Powelson, 1988).

Otro mecanismo de acción sugerido es, la reducción del drenaje de metabolitos desde la raíz; cuando ésta es colonizada por *Trichoderma*, el biocontrolador intercepta metabolitos críticos para activar la germinación de los propágulos del patógeno en el suelo (Lo, *et al.*, 1996).

2.6.1. Enzimas producidas por *Trichoderma*

La pared celular de los hongos está formada principalmente por quitina y β -1,3 glucanos embebidos en una matriz de material amorfo, por lo tanto se espera que para el éxito de la degradación de la pared celular intervenga más de una enzima. Las especies de *Trichoderma*, son eficientes productoras de polisacaridasas, proteasas y lipasas, compuestos que pueden ser usados en la degradación de la pared de las células del patógeno (Chérif y Benhamou, 1990).

Entre las enzimas que producen especies de *Trichoderma*, se reportan principalmente las quitinasas y glucanasas (Bruce, *et al.*, 1985), las cuales están implicadas en la antibiosis y micoparasitismo al degradar la pared celular, penetrar y parasitar al patógeno.

2.6.2. Capacidad antagónica

La capacidad antagonica de *Trichoderma*, es altamente variable. Mihuta-Grimm y Rowe (1986) demostraron que de 255 aislamientos obtenidos de diferentes lugares, sólo el 15% de los mismos fueron efectivos en el control de *Rhizoctonia*; indican igualmente, que las cepas aisladas del mismo lugar son más efectivas que las traídas de fuera. El mejor aislamiento es aquel que proviene de la misma zona (Arcia, 1995).

La capacidad antagonista de *Trichoderma*, depende entonces de la especificidad de la cepa aislada. Es posible que se tengan aislamientos que sean más eficientes para el control de un patógeno que para otro (Acevedo y Arcia, 1988); de tal manera que esa especificidad deberá ser medida, y en caso de tener situaciones de este tipo, se recomienda usar mezclas de cepas antagonistas, a fin de controlar la acción de las poblaciones patogénicas (Arcia, 1995). Según este mismo autor, la especificidad puede llegar a ser tan alta que aislamientos de un mismo lugar geográfico pero de diferentes sitios de una misma planta pueden tener diferente agresividad y virulencia; Acevedo y Arcia (1988), indican la importancia de buscar antagonistas efectivos en cada área geográfica.

2.6.3. Hongos controlados por *Trichoderma*

Cuadro 1. Principales hongos controlados por *Trichoderma*. Herrera-Estrella y Carsolio, 1998; Chet, 1993; Chet e Inbar, 1994, y Stefanova *et al.*, 1999.

HONGOS FITOPATÓGENOS	ENFERMEDAD	CULTIVO
<i>Armillaria</i> spp	Pudrición de la raíz	Frutales
<i>Alternaria solani</i>	Tizón temprano	papa
<i>Botrytis cinerea</i>	Moho gris	Amplio rango de cultivos: papa, tomate, frijol, fresa, mora, flores, tomate de árbol.
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Antracnosis	Amplio rango de cultivos: papa, tomate, frijol, fresa, mora, flores y pudriciones en postcosecha.
<i>Cylindrocladium scoparium</i>	Pudrición de la raíz	Pino
<i>Fusarium moniliforme</i>	Pudrición de la mazorca	Maíz
<i>F. oxysporum</i>	Marchitez vascular	Amplio rango de cultivos: papa, tomate, frijol, tomatillo, banana, arveja, maíz, clavel etc.
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Pudrición carbonosa del tallo	Amplio rango de cultivos: maíz, frijol, melón, ajonjolí.
<i>Phytophthora infestans</i>	Tizón tardío	Papa, tomate y berenjena.
<i>Phytophthora</i> spp	Pudrición	Tabaco, flores, frutales, etc.
<i>Pythium</i> spp	Complejo de enfermedades de la semilla y la plántula.	Amplio rango de cultivos: zanahoria, tomate, chile, trigo etc.
<i>Rhizoctonia solani</i>	Complejo de enfermedades de la semilla y la plántula, pudrición de la raíz, de la corona, de la base del tallo.	Amplio rango de cultivos: zanahoria, tomate, chile, algodón, lechuga, repollo, café, papa, cebolla, ajo, pimiento, etc.
<i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	Pudrición radical	Amplio rango de cultivos: tomate, chile, lechuga, repollo, café, papa, cebolla, etc.
<i>Sclerotium cepivorum</i>	Pudrición	Ajo
<i>Sclerotium rolfsii</i>	Pudrición	Cebolla, Maní, Tabaco, Melón, Ajo, Tomate.
<i>Rosellinia</i> spp	Pudrición de raíz	Frutales: Aguacate y manzano.
<i>Verticillium</i> spp.	Marchitez vascular	Papa, algodón, tomate, chile.

Cuando se aplica *Trichoderma*, en campo se debe tomar en cuenta varios aspectos importantes que permitan su adecuada expresión, que se relaciona con la interacción planta hospedante – fitopatógeno susceptible – ambiente favorable (temperatura del suelo, humedad, presencia de oxígeno, pH), condiciones del suelo (estructura, contenido de materia orgánica, nutrientes) y tiempo (Villegas, 2005).

2.7. El fitopatógeno: *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Duggar

Descubierto en 1888, los investigadores aún tienen poca información en la lucha contra la enfermedad que ocasiona de todas las enfermedades conocidas que se presentan en las plantas, una de las más destructivas y difíciles de controlar.

Nombres de la enfermedad; *Phymatotrichum* root rot, Texas root rot (Inglés); Maladie du Texas du cotonnier (Francés); Wurzelfäule der Baumwolle (Alemán); Pudrición texana (Español).

2.7.1. Clasificación y descripción taxonómica

Sinónimos: *Phymatotrichopsis omnivora* (Duggar) Hennebert

Ozonium omnivorum Shear

Ozonium auricomum Link

Telemorfo: Posiblemente *Trechispora brinkmannii* (Bresad.) D.P. Rogers & H.S. Jackson

Taxonomía y nomenclatura: *Trechispora brinkmannii* ha sido reportado ser el telemorfo de *P. omnivorum* (Baniecki y Bloss, 1969) pero esto ha sido considerado dudoso por Hennebert, (1973). Según Farr, *et al.* (1989), quien prefiere el nombre *Sistotrema brinkmannii* (Bresad.) J. Eriksson, la especie se encuentra en madera y restos de plantas, representa varias entidades morfológicas y biológicas similares. El taxon *T. brinkmannii* tiene un amplio espectro biológico y distribución geográfica más que *P. omnivorum*.

En la fase imperfecta su clasificación es: Subdivisión Deuteromycotina, clase Hyphomycetes.

2.7.2. Morfología

Conidio unicelular, hialino, globoso u ovado, 4.8-5.5 μm de diámetro ó 6-8 x 5-6 μm . Filamentos miceliales cerca de 200 μm de diámetro, sus hifas crecen unidas entre sí o se entretajan para formar ramas laterales en forma de cruz, más delgadas y ahusadas. Los esclerocios tienen forma irregular, de color pardo a negro dispuestos individualmente o en cadenas, los cuales germinan y producen micelio, miden de 1 - 5 mm de diámetro (Streets, 1937; Streets y Bloss, 1973).

2.7.3. Hospederos

El principal hospedero es el algodón, incluyendo *Gossypium herbaceum*, *G. hirsutum* y *G. barbadense*. El hongo puede desarrollarse en más de 2000 especies de dicotiledóneas incluyendo especies de cultivos de importancia económica como la alfalfa, hortalizas, frutales, árboles forestales y arbustos, herbáceas, ornamentales y maleza (Streets, 1937; Streets y Bloss, 1973). Las monocotiledóneas se consideraban inmunes, pero el hongo ha sido reportado en estos hospederos.

2.7.4. Distribución geográfica

Afortunadamente este patógeno es de distribución limitada y no fácilmente se dispersa de una localidad a otra.

Asia: Uzbekistan (registro dudoso).

África: Somalia (registro dudoso).

América del Norte: En el norte de México y Estados Unidos (estados del sur oeste incluyendo Arizona, Arkansas, California, Luisiana, Nevada, Nuevo México, Oklahoma, Texas y Utah) no está confirmado en Hawai.

América Central y el Caribe: No confirmado en República Dominicana.

América del Sur: Brasil, Venezuela.

2.7.5. Biología

El inóculo primario es el esclerocio o filamentos que sobreviven sobre la raíz de plantas hospederas. Los filamentos del hongo son micelio fino el cual atraviesa el suelo e infecta otras raíces. Experimentos han demostrado que las hifas no sobreviven por un año en raíz de restos de plantas muertas de algodón en el suelo; las hifas penetran 25 cm de profundidad en la rizosfera de las plantas de algodón, en el campo no sobreviven por más de 3 meses. Por esto, las hifas requieren vivir en raíz de algodón para hibernar. Ha sido demostrado que los esclerocios sobreviven por mas de cinco años. Los filamentos y los esclerocios han sido encontrados de 2 a 2.6 m de profundidad respectivamente (aunque ocurre más frecuentemente a 0.5 - 0.9 m), por lo tanto se demuestra que pueden tolerar altos niveles de CO₂. El hongo no se elimina en suelos inundados por 120 días. Después de una lluvia fuerte de verano, el hongo puede emerger a la superficie del suelo y formar micelio de color pardo, de 10 a 20 cm de diámetro y 0.6 cm de grueso, en el cual se forman los conidios. Estas esporas germinan con dificultad pero no todas y probablemente no participan en la diseminación. Nada se conoce acerca del posible papel del telemorfo (Streets y Bloss, 1973).

La temperatura es un factor importante en la sobrevivencia del hongo, requiere de temperatura alta y humedad del suelo adecuada para que muestre una mayor actividad, siempre que el pH del suelo esté cerca o por arriba del valor neutro (Agrios, 1996). Analizando los factores que afectan la aparición de

los síntomas se concluye que la pudrición texana es favorecida por temperaturas arriba de 22° C y alta humedad en el suelo.

El patógeno no sobrevive a temperaturas menores al punto de congelación durante un período considerable de tiempo, de ahí que su distribución geográfica limitada al parecer sea el resultado de sus grandes requerimientos de temperatura y alcalinidad.

2.8. Detección e Identificación

2.8.1. Síntomas

En árboles, la primera evidencia de la enfermedad es el amarillamiento de las hojas. Las hojas rápidamente se tornan a color bronce y empiezan a marchitarse, puede ocurrir muy rápidamente como en dos semanas de la primera expresión de la enfermedad. El árbol muere con las hojas adheridas a él. En algunos casos el árbol se marchita tan rápidamente que las hojas apenas cambian de color, aunque llegan a ser secas y brillantes (Goldberg, 2006).

En el algodón, las plantas infectadas forman manchas en el campo de cultivo y al principio sus hojas muestran amarillamiento y bronceado. Las hojas muestran un ligero marchitamiento y se empardecen y secan, pero se mantienen unidas a la planta. Por debajo de la superficie del suelo, la corteza y el cambium se empardecen y propicia el desarrollo de una pudrición café y

firme en la raíz y la parte inferior del tallo. Las raíces podridas a menudo se cubren parcialmente con filamentos paralelos, gruesos y de color café del micelio del hongo, o rizomorfos, característica útil para diagnosticar la enfermedad (Agrios, 1996). Cuando los filamentos se observan debajo de un microscopio compuesto, las hifas cruciformes únicas a este hongo pueden ser vistas.

Una lesión rojiza alrededor de la corona de la planta puede desarrollarse en los árboles muertos por el hongo. La evidencia de *P. omnivorum* puede también ser encontrada cerca de árboles infectados o muertos en el suelo en forma de almohadillas o masas cremosas o amarillentas. Se desarrollan durante periodos de alta humedad. Los conidios nunca han germinado y se considera que no tienen una función en la supervivencia o la infección del patógeno, por lo tanto no diseminan la enfermedad pero son evidencia de que está presente (Goldberg, 2006).

2.8.2. Ciclo de la enfermedad

El hongo sobrevive indefinidamente en el suelo como estructuras de resistencias llamadas esclerocios de 1-5 mm de diámetro. En verano, el micelio se desarrolla de los esclerocios que germinaron o de fragmentos del hongo que hibernaron en raíces de plantas perennes infectadas. Los nutrientes de las plantas infectadas mantienen el crecimiento del hongo y a través del suelo infecta nuevas plantas. La función de conidios producidos en

masa es desconocida en el ciclo de la enfermedad. El hongo parece ser nativo de ciertos campos y hay poco conocimiento en como se dispersa a nuevos campos. Sin embargo, la enfermedad puede desarrollarse siguiendo el trasplante de plantas infectadas (Damicone, *et al.*, 1990).

El hongo puede sobrevivir en vegetación nativa como mezquite al cual no le causa ninguna enfermedad. El hongo solamente se activa en los meses de verano cuando la temperatura del suelo y aire son altos. La mayor incidencia de la enfermedad se presenta cuando la temperatura del suelo a un pie de profundidad es mayor a 26.7°C y la temperatura del aire es arriba de 40°C. Cuando las condiciones ambientales son favorables para la actividad fúngica, el patógeno invade las plantas a través de su sistema radical (Goldberg, 2006).

2.8.3. Medios de movimiento y dispersión

En condiciones naturales, como patógeno de suelo, *P. omnivorum* tiene bajo potencial de dispersión. Este persiste en sitios donde las condiciones son favorables y no se extiende con facilidad. Es más probable que sea transportado por medio del humano, con suelo o raíz de plantas hospedadas infectadas. En América del Norte, las medidas de cuarentena interna han sido aplicadas a prevenir que se extienda dentro de áreas no infestadas, pero es probable que el hongo haya alcanzado este límite natural en algún caso. El riesgo de la introducción intercontinental es principalmente con otros

hospederos aparte del algodón, en este cultivo, el hongo no se disemina por semilla y las plantas de algodón no son usualmente comercializadas (OEPP/EPPO, 1990).

2.8.4. Control

El hongo tiene una característica biológica única que dificulta su manejo. Primero, *P. omnivorum* tiene un amplio rango de hospederos. Ataca sólo a plantas maduras; las plántulas no son susceptibles a la enfermedad. Segundo, el hongo persiste indefinidamente en el suelo. Los aislamientos del hongo no son específicos (Goldberg, 2006).

La enfermedad es más destructiva en suelos pesados (de origen calcáreo). Hay varias prácticas de manejo que ayudan a reducir la ocurrencia y severidad de esta enfermedad, ninguna es altamente efectiva. El control con fungicidas y fumigación de suelos no ha sido exitoso. La estrategia más efectiva es definir el área infestada con el hongo y plantar cultivos y especies de plantas que no son susceptibles a la enfermedad. Aplicar abono o nitrógeno y cultivar profundo reduce las pérdidas. Rotación de cultivos de tres a cuatro años con cultivos de pasto como el sorgo (Damicone *et al*, 1990). Los tratamientos establecidos al suelo han sido reportados ser efectivos (dicloropropano, metan – sodio, metil bromide) y fungicidas como los bencimidazoles. Solamente el suelo tratado directamente es afectado, y la experiencia demuestra que después de un cierto tiempo este suelo se vuelve a

contaminar por *P. omnivorum* empezando de la profundidad de las capas del suelo. De esta manera, se duda que los tratamientos sean efectivos para la erradicación (Bird *et al.*, 1984). Existen considerables investigaciones interesadas en hongos antagonistas los cuales colonizan y destruyen esclerocios de *P. omnivorum* (Kenerley y Stack, 1987).

No se han desarrollado variedades resistentes para cultivos que son normalmente susceptibles a la enfermedad. Existen cultivos y especies de plantas que son naturalmente resistentes y deben seleccionarse (Damicone *et al.*, 1990).

La mejor recomendación es evitar suelos con características adecuadas para ser infestados por el hongo. Además los árboles frutales no deben ser plantados en campos previamente cultivados con algodón (Goldberg, 2006).

2.8.5. Medidas fitosanitarias

Se recomienda prohibir la importación de suelo de países donde *P. omnivorum* se presenta (OEPP/EPPO, 1990). Esto normalmente implica que las plantas importadas de países donde *P. omnivorum* esté presente no deben ir acompañadas de suelo. Sin embargo se acepta, medio de cultivo inorgánico o estéril si es necesario, o bien, garantizando que no hay posibilidad que *P. omnivorum* pueda estar presente en el medio de crecimiento.

2.8. *Trichoderma* spp contra *P. omnivorum*

El antagonismo, utilizando aislados de *Trichoderma* contra *P. omnivorum* se reporta que la cepa T45 evaluada en medio de cultivo PDA, donde se varió la cantidad de glucosa como fuente de energía suministrada a T45, conteniendo el medio desde 0.0 hasta 2.5 g l⁻¹; y en el suelo fue introducido para determinar su capacidad de destruir esclerocios, se utilizó 0.1, 1.0, 2.5, 5, 10, 25 y 50% p/p de paja de trigo contenida en el medio con respecto al suelo y los resultados fueron que la cepa T45 destruyó los esclerocios de *P. omnivorum* in vitro (Samaniego, 1991).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Localización del área de estudio

El trabajo de investigación se realizó en dos fases. Una de campo y otra de laboratorio. La fase de laboratorio se realizó en el laboratorio de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad Laguna en la ciudad de Torreón, Coahuila; localizada en el paralelo $25^{\circ} 26' 51''$ de latitud norte y el meridiano $103^{\circ}27' 47''$ de longitud oeste con una altitud de 1200 msnm.

La fase de campo se desarrollo en diferentes áreas de la Comarca Lagunera; en los municipios de Torreón, San Pedro de las Colonias, Francisco I Madero y Matamoros pertenecientes al Estado de Coahuila y el municipio de Rodeo ubicado en el estado de Durango. (Figura 1).

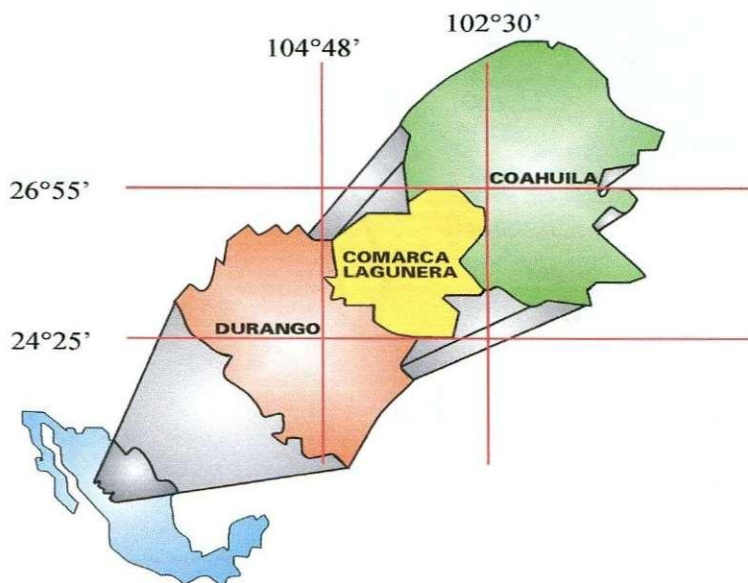


Figura 1. Localización geográfica del área de estudio.

3.2. Aislamiento e identificación de especies nativas de *Trichoderma* en suelos de la Comarca Lagunera.

3.2.1. Sitios de muestreo

Los aislamientos del hongo *Trichoderma* spp., se obtuvieron de suelos colectados durante los meses de Febrero a Octubre del año 2006, en 10 diferentes huertas de nogal, distribuidas nueve en el estado de Coahuila y uno en el estado de Durango. Se consideró un mayor número de sitios dentro de la cuenca baja del río Nazas, ya que en esta parte se concentra el 77.4 por ciento de la superficie sembrada con nogal (Figura 2 y Cuadro 2).

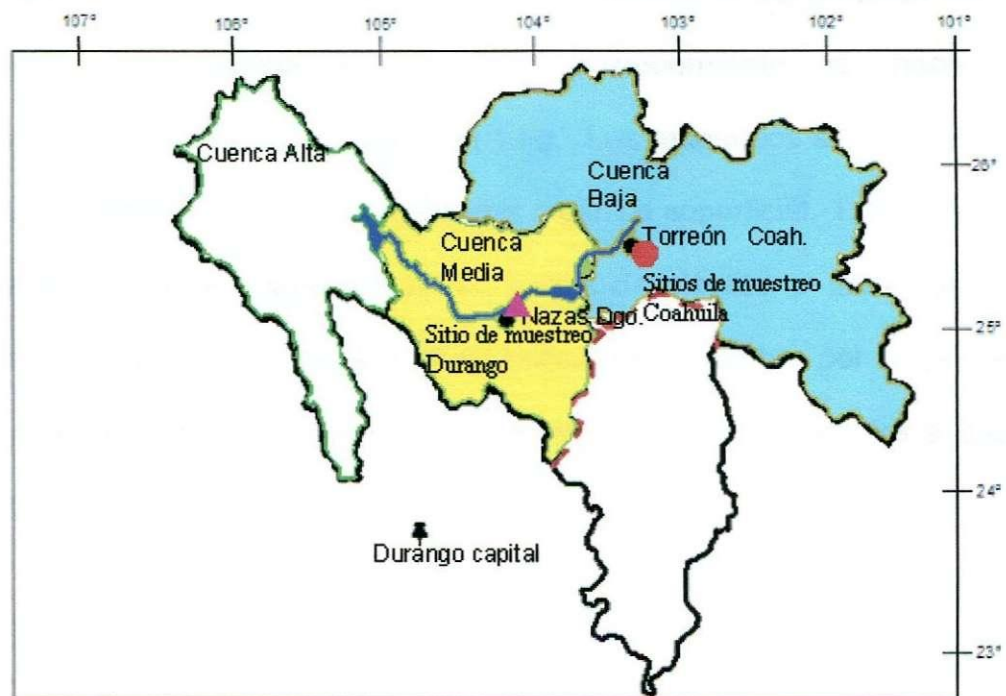


Figura 2. Localización geográfica de sitios de muestreo en Coahuila y Durango, dentro de la región hidrológica 36 al norte de México (Chavéz, 2007).

Cuadro 2. Huertas de nogal muestreadas en la Comarca Lagunera para el aislamiento de *Trichoderma* spp. UAAAN – UL. Torreón, Coah. 2006.

Huerto	Lugar	Localidad	Coordenadas	
			Latitud	Longitud
1	Lácteos Florida	Francisco I Madero, Coahuila	25° 45' 33"	103° 17' 43"
2	La Partida	Torreón, Coahuila	25° 35' 33"	103° 19' 04"
3	Las Villas	Torreón, Coahuila	25° 37' 5.7"	103° 24' 14"
4	Huerto Narro	Torreón, Coahuila	25° 33' 28"	103° 22' 12"
5	Rancho Ana	Torreón, Coahuila	25° 35' 48"	103° 22' 23"
6	San Antonio	Torreón, Coahuila	25° 38' 08"	103° 22' 27"
7	Recreativo Natividad	Matamoros, Coahuila	25° 34' 54"	103° 16' 30"
8	Huerto INIFAP	Matamoros, Coahuila	25° 31' 44"	103° 14' 38"
9	La Trinidad	Rodeo, Durango	25° 18' 03"	104° 38' 28"
10	San Isidro	San Pedro, Coahuila	25° 44' 35"	103° 00' 07"

Los sitios de muestreo fueron seleccionados al azar tomando de 5 a 10 muestras por sitio, dependiendo del tamaño del huerto; cada punto de muestreo consistió en tomar cuatro submuestras de suelo alrededor del árbol de nogal, recolectando una cantidad de 250 g; posteriormente se mezclaron conformando una muestra compuesta de 1 kg. Los muestreos se realizaron a 30 cm de profundidad, eliminando la materia orgánica superficial. Las muestras se etiquetaron y fueron transportadas en bolsas de plástico al laboratorio de Parasitología en la UAAAN-UL, donde se secaron a la sombra por un periodo de 24 a 48 horas y se conservaron a temperatura ambiente hasta los análisis respectivos.

3.2.2. Aislamientos de *Trichoderma* spp

El aislamiento de *Trichoderma*, se realizó en el laboratorio de Parasitología de la UAAAN – UL , directamente del suelo; de cada muestra de suelo se tomaron 10 submuestras de 50 mg cada una; se preparó medio de cultivo que favoreciera el crecimiento de *Trichoderma*, según Papavizas y Davey, (1950) citado por (Johnson y Curl, 1972) el cual se colocó en cajas petri sobre las cuales se dispersó uniformemente el suelo, en total se utilizaron 10 cajas petri por cada muestra. Las cajas se incubaron a temperatura ambiente y se revisaron diariamente durante 10 días. Se procesaron 820 submuestras.

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

Se preparó medio de cultivo Papa- dextrosa- agar (PDA) el cual se vació en cajas petri y tubos de ensaye los cuales se mantuvieron con una inclinación de 45 grados para que el medio ofreciera una mayor superficie de contacto. Las colonias reconocidas como *Trichoderma* se transfirieron a cajas petri conteniendo medio de cultivo PDA para purificarlas; las colonias puras se pasaron a tubos de ensaye con PDA, se mantuvieron a temperatura ambiente hasta la colonización total de la superficie del medio y posteriormente se mantuvieron en refrigeración a 4° C para su conservación y uso posterior.

3.2.4. Selección e identificación de especies de *Trichoderma*.

En el experimento tanto in vitro como en maceta, los aislados obtenidos fueron seleccionados considerando los que obtuvieron un mayor crecimiento en siete días y que mostraron características diferentes de crecimiento. Una vez obtenidos los aislamientos puros, se procedió a su identificación taxonómica a nivel de especie; se consideraron las características fundamentales descritas por Rifai, (1969). Para esto se utilizaron los aislamientos de 3-4 días y de 6-8 días de crecimiento en PDA, para examinar la estructura de las fiálides y para conidios respectivamente. Se realizaron observaciones macroscópicas y microscópicas; se prepararon láminas con agua destilada y lactofenol. Se observaron forma, color y ornamentación de los conidios, número de fiálides por verticilos, tipo de conidióforo, presencia de fiálides intercaladas, presencia de extensiones fértiles e infértiles. Cada uno de los aislamientos identificados se resembró en medio específico como avena agar (OA), papa-sacarosa-agar (PSA), papa-zanahoria-agar (PCA), agar extracto de malta (MEA) según el medio que se requirió para cada una de las especies con el propósito de reafirmar la identificación morfológica (Domsch, *et al.*, 1980).

3.3. Prueba *in Vitro*

El experimento *in vitro* se estableció en el laboratorio de Parasitología de la UAAAN – UL el 12 de Noviembre de 2006.

En la prueba *in vitro* se realizaron enfrentamientos duales colocando en cajas petri con medio de cultivo PDA a los dos microorganismos antagónico y patógeno en las mismas condiciones para observar el desarrollo simultáneo (Bell, et al., 1982).

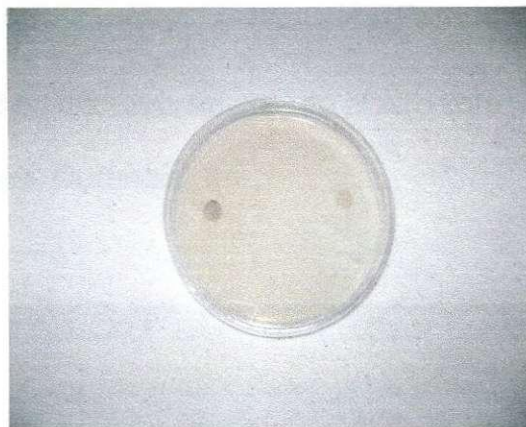


Figura 3. Enfrentamiento dual entre *Trichoderma* y *P. omnivorum*

Para evaluar el efecto antagónico se utilizó como patógeno el aislamiento de *P. omnivorum* obtenido de raíz de nogal con síntomas de la enfermedad; el aislamiento se hizo en cajas de petri con Agar-Agar, posteriormente se paso a PDA (Hernández, 1987).

Se evaluaron 13 aislamientos nativos de *Trichoderma* spp., y un testigo con un total de 14 tratamientos para lo cual se cortaron discos con sacabocados de 0.5 cm de diámetro de la periferia de las colonias que tenían 5 días de

crecimiento; las colonias de *P. omnivorum* que tenían 8 días de crecimiento; posteriormente se colocaron en cajas petri con PDA, en posición opuesta y equidistante, de tal forma que el patógeno y el antagonista quedaran enfrentados en cada tratamiento. El testigo consistió en el crecimiento de *P. omnivorum* en el mismo medio y sin antagonista. En cada tratamiento se utilizaron 4 cajas de petri.

Las cajas se mantuvieron a temperatura ambiente durante 96 horas.

3.4. Prueba en macetas

El experimento en macetas se instaló al aire libre, en el CENID – RASPA INIFAP, Gómez Palacio, Durango.

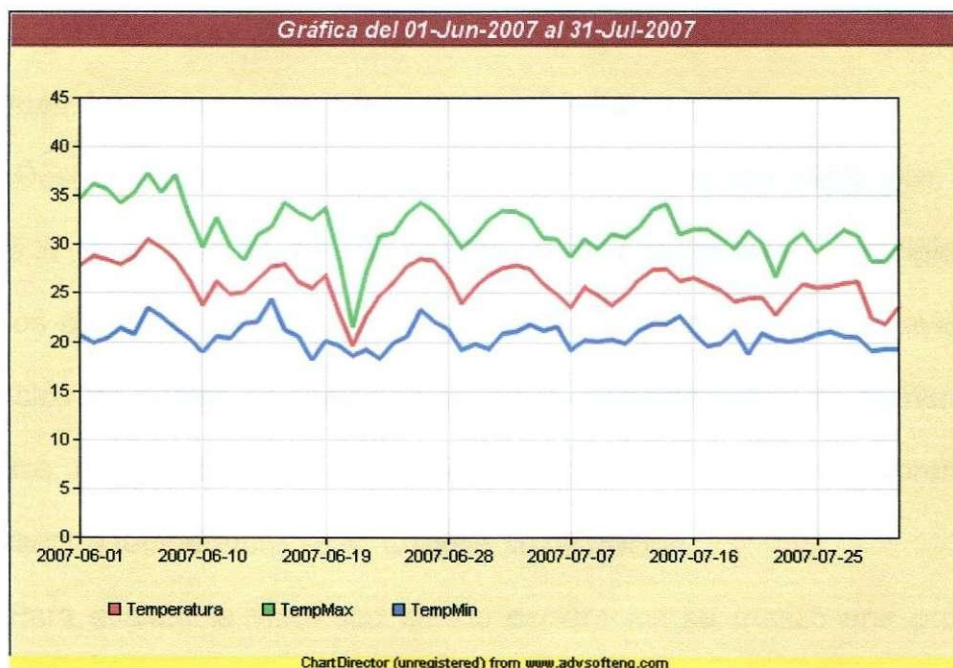


Figura 4. Grafico de temperatura máxima, mínima y media para el periodo de prueba en macetas (CENID-RASPA, 2007).

El 22 de junio del 2007 se inició el experimento, el cual se repitió dos veces, con una duración de 30 días, en dicho período la temperatura promedio fue de 26.5 °C, con una mínima y máxima de 19 a 34 °C respectivamente (Figura 4).

3.4.1. Preparación del inóculo de *P. omnivorum*.

El hongo se colocó en cajas petri que contenían PDA, las cuales se incubaron por ocho días a una temperatura de 28 °C.

Posteriormente se pesaron 600 g de arena cribada en tamiz de 2 mm, se colocó en frascos de vidrio de 1000 ml con tapa la cual se perforó por el centro con orificio de 0.3 cm y se le puso algodón. Posteriormente se agregó agua hasta humedecer completamente la arena y sobre ésta se colocaron 100 g de sorgo lavado y remojado, se tapó, se esterilizó por 60 minutos y se dejó enfriar para sembrar discos de 0.5 cm de diámetro de medio con *P. omnivorum*. Los frascos se incubaron por 60 días a 28 °C.

Después de este tiempo se extrajeron los esclerocios del frasco; primero se quitó la capa de sorgo, posteriormente se vació la arena en un recipiente con tres litros de agua corriente, luego, por decantación se fueron extrayendo los esclerocios los cuales se colocaron en agua destilada estéril en número de 20 en vasos desechables del número cero con tapa, se mantuvieron en el refrigerador a temperatura de 4° C hasta su utilización.

Para evaluar la viabilidad de los esclerocios se realizó una prueba de germinación que consistió en colocar 10 repeticiones de cinco esclerocios cada una en cajas petri con PDA (Lyda y Kerneley, 1992).

3.4.2. Preparación del inóculo de *Trichoderma* spp.

Se lavaron y se colocaron en remojo 500 g de trigo por 24 horas después, seguido de una cocción en una olla por 15 minutos, se realizó un escurrimiento y se dejaron reposar durante 60 minutos, posteriormente se distribuyeron 100 g de trigo en frascos de vidrio con una capacidad de 200 ml. En la abertura se colocó algodón con gasa a manera de tapón y encima se puso una capucha de papel. Se esterilizó por una hora por dos días consecutivos. Al día siguiente se realizó la inoculación con discos de 0.5 cm de diámetro con micelio de *Trichoderma* spp., con siete días de desarrollo, el micelio fue extraído de los aislamientos de *Trichoderma*, en conservación. Los frascos fueron incubados a 30° C por tres días, después se colocaron a temperatura ambiente y bajo luz artificial (fluorescente de 40 watts) durante siete días, quedando listos para su uso en invernadero o macetas (Lewis y Papavizas, 1984).

3.4.3. Prueba de germinación

Se utilizó frijol como planta, para lo cual se realizó a la semilla una prueba de germinación, ésta consistió en colocar 4 repeticiones de 50 semillas cada una, a una temperatura de 28 °C por ocho días. Se realizaron evaluaciones a los cuatro y ocho días expresando el resultado en porcentaje de germinación.

3.4.4. Preparación de las macetas de estudio

Se utilizaron vasos de unicel con una capacidad de 500 g como macetas, en los cuales se colocaron 500 g de arena sin esterilizar. Por cada tratamiento se utilizaron 4 macetas.

3.4.5. Aplicación de los microorganismos

Los microorganismos *P. omnivorum* y *Trichoderma* se incorporaron una semana antes de sembrar, utilizando 20 esclerocios de *P. omnivorum* y 3.0 g de *Trichoderma*, los cuales se incorporaron uniformemente haciendo una mezcla en la arena.

3.4.6. Siembra

En cada maceta se sembraron cuatro semillas de frijol con una distribución homogénea y equidistante, a una profundidad de 2 cm.

3.4.7. Tratamientos

Los tratamientos de estudio se muestran en el Cuadro 3.

Cuadro 3. Tratamientos de *Trichoderma* spp contra *Phymatotrichum omnivorum*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

Tratamiento No.	Tratamientos de estudio
1	T1 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)
2	T2 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)
3	T3 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)
4	T4 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)
5	T5 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)
6	T6 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)
7	T7 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)
8	T8 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)
9	T9 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)
10	T10 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)
11	T11 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)
12	T12 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)
13	T13 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)
14	T14 (Testigo: <i>P. omnivorum</i> sin antagonista)

3.4.8. Diseño experimental

En ambas etapas (de campo y laboratorio) del experimento se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones.

3.4.9. Variables a evaluar

En la prueba in vitro se realizaron observaciones a las 48, 72 y 96 horas después de la siembra, anotando el crecimiento de cada uno de los microorganismos y en macetas se realizaron observaciones a los 8, 15 y 30 días después de la siembra anotando el porcentaje de germinación, semillas dañadas, plantas enfermas y plantas muertas. Al concluir los 30 días, las

plantas que sobrevivieron fueron sacadas de las macetas y se evaluaron los siguientes parámetros: peso total de la planta, longitud de la raíz y tallo. Se buscaron y sacaron los esclerocios que fueron depositados en las macetas para observar su estado físico y si fueron afectados por el antagonista.

IV. RESULTADOS

4.1. Aislamiento de especies nativas de *Trichoderma*

Se colectaron 82 muestras de suelo de huertas de nogal en la Comarca Lagunera; de donde se obtuvieron 50 aislamientos de *Trichoderma* spp., la cantidad de aislados y el sitio muestreado se muestra en el Cuadro 4.

En los suelos provenientes de las huertas 5 y 8 de las localidades ubicadas en el municipio de Torreón Coahuila, arrojaron el mayor número de aislamientos.

Cuadro 4. Aislamientos de *Trichoderma* spp obtenidos de huertos de nogal por sitio de muestreo. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

Huerto	Localidad	No. de aislados	Clave asignada a los aislamientos
1	San Isidro	4	Si1, Si2, Si3, Si4
2	Recreativo Natividad	2	RN1, RN2,
3	Huerto INIFAP	4	Hi1, Hi2, Hi3, Hi4
4	La Partida	4	P1, P2, P3, P4
5	Las Villas	8	V1, V2, V3, V4, V5, V6, V7, V8
6	Rancho Ana	5	Ra1, Ra2, Ra3, Ra4, Ra5
7	San Antonio	6	Sa1, Sa2, Sa3, Sa4, Sa5, Sa6
8	Huerto Narro	10	Hn1, Hn2, Hn3, Hn4, Hn5, Hn6, Hn7, Hn8, Hn9, Hn10
9	Lácteos Florida	4	Lf1, Lf2, Lf3, Lf4
10	Rodeo	3	R1, R2, R3

En el Cuadro 5, se presentan los aislamientos seleccionados de acuerdo a características morfológicas diferentes.

Cuadro 5. Aislamientos de *Trichoderma* seleccionados para su evaluación. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

No. de tratamiento aislamiento	Clave asignada a los aislamientos
T1	Si1
T2	P1
T3	RN1
T4	V8
T5	Lf1
T6	R3
T7	Lf3
T8	Hi1
T9	Hi4
T10	Ra1
T11	Hn1
T12	P2
T13	Sa1

4.2. Identificación de los 13 aislamientos de *Trichoderma* seleccionados

De acuerdo a las características observadas, los aislamientos clasificados se presentan en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Identificación a nivel de especie de las 13 cepas de *Trichoderma* seleccionadas para éste estudio.

Espécie	Aislamiento	Principales características
<i>T. harzianum</i>	Si1, P1, P2, RN1, V8, Ra1, Hn1, Sa1, Hi1	Las colonias presentan un crecimiento rápido arriba de 9 cm de diámetro en 5 días a 20° C en Agar-Avena. Colonias de color verde. Hifas hialinas, conidióforo con ramificación intrincada. Conidios globosos o subglobosos de pared lisa de color verde olivo. Con un radio menor de 1.25, 2.8-3.2 x 2.5-2.8 µm; no tiñen el medio las colonias (Fig. 5).
<i>T. pseudokoningii</i>	R3, Lf1, Lf3	Colonias de 3-5 cm de diámetro en 5 días a 20° C en Agar-Avena. Puede ser confundido con <i>T. Koningii</i> por tener conidios y fiálides similares, pero en esta especie las fiálides en su mayor parte surgen lateralmente y solas; el conidióforo es largo en vez de piramidal (Fig. 6).

T. koningii

Hi4

Colonias de 3-5 cm de diámetro en 5 días a 20° C en Agar-Avena. Conidióforos con ramificación abierta. Conidios de pared lisa, elipsoidales u oblongos de 3.0-4.8 x 1.9-2.8 µm. Fiálides regularmente dispuestas en número de 3 ó más (Fig. 7).



Figura 5. *T. harzianum*

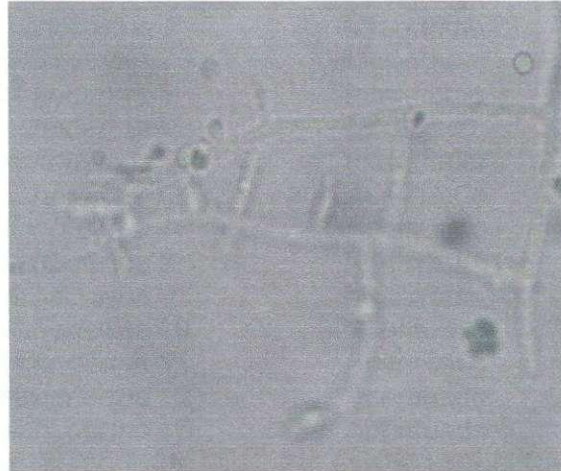


Figura 6. *T. pseudokoningii*



Figura 7. *T. koningii*

4.3. Prueba in Vitro

Los trece aislamientos de *Trichoderma* spp., manifestaron diferencia en el crecimiento micelial en los cultivos duales con el aislamiento de *P. omnivorum*; la actividad antagónica de *Trichoderma* spp contra el patógeno

fue intermedia, moderada y acentuada; los resultados se muestran en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Antagonismo de *Trichoderma* contra *P. omnivorum* in vitro. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

Tratamientos	Descripción	Resultado
1	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 1	Intermedio *
2	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 2	Moderado
3	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 3	Intermedio
4	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 4	Moderado
5	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 5	Intermedio
6	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 6	Acentuado
7	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 7	Acentuado
8	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 8	Moderado
9	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 9	Moderado
10	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 10	Acentuado
11	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 11	Acentuado
12	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 12	Acentuado
13	<i>P. omnivorum</i> + <i>Trichoderma</i> 13	Acentuado
14	Testigo: <i>P. omnivorum</i> sin antagonista	No existe antagonismo

1. ***Antagonismo acentuado:** *Trichoderma* cubre completamente al patógeno.
2. **Antagonismo intermedio:** *Trichoderma* cubre del 60 al 65 % al patógeno y detiene su desarrollo.
3. **Antagonismo moderado:** *Trichoderma* cubre de 40 al 50 % al patógeno y detiene el crecimiento.

En el Cuadro 7 se observa que los tratamientos que cubrieron por completo al patógeno son: 6, 7, 10, 11, 12 y 13.

El análisis estadístico detectó diferencia altamente significativa para diámetro de crecimiento entre tratamientos en cuanto al crecimiento de *Trichoderma* en cada uno de los enfrentamientos con *P. omnivorum* a las 48 y 72 horas (Apéndice A1), por lo que se puede afirmar que uno o algunos tratamientos son mejores que otros, mediante una prueba de separación de medias se encontró que el mejor tratamiento fue el T14 y el peor fue el 12 en lo que se refiere al crecimiento del patógeno (Cuadro 8).

Los tratamientos que presentaron menor crecimiento de *P. omnivorum* fueron: T10, T11, T12 y T13 con respecto al testigo por lo que se puede destacar que estos tratamientos son los mejores *in vitro* para el control de *P. omnivorum* (Figura 8).

Cuadro 8. Crecimiento promedio de *P. omnivorum* en los enfrentamientos con *Trichoderma* spp a las 72 horas. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2006.

Tratamientos	Diámetro cm
T14 (Testigo: <i>P. omnivorum</i> sin antagonista)	3.50 A
T3 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	2.72 B
T6 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	2.35 B
T8 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	2.17 BC
T9 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	2.17 BC
T1 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	2.15 BC
T2 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	1.82 CD
T7 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	1.82 CD
T5 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	1.80 CD
T4 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	1.70 D
T10 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	1.32 E
T11 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	1.05 E
T13 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)	1.10 E
T12 (<i>P. omnivorum</i> +Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	1.00 E

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

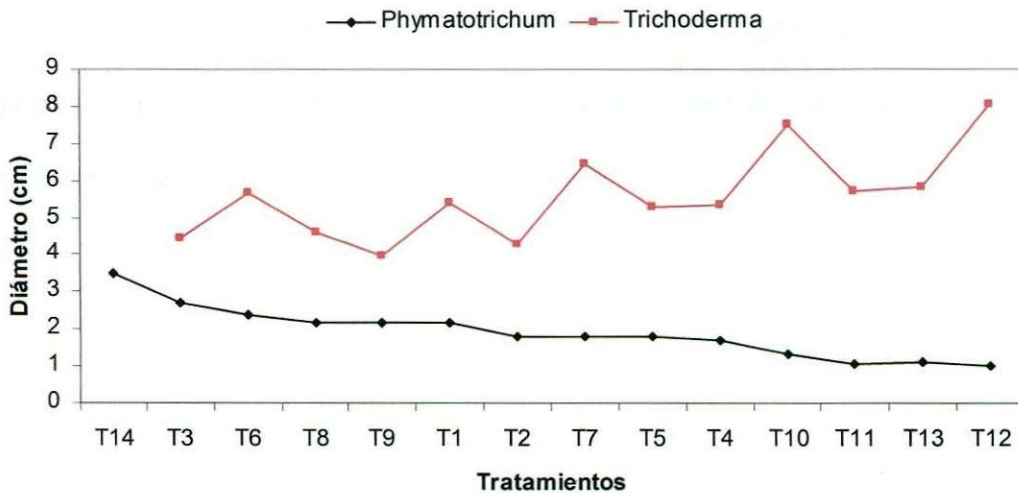


Figura 8. Crecimiento promedio de *Phymatotrichum omnivorum* y *Trichoderma* a 72 horas.

4.4. Prueba de germinación

En la prueba de germinación, que se le realizó a la semilla de frijol utilizada en el experimento se obtuvo un 94 % de germinación. Sin embargo en la prueba, que se realizó a los esclerocios de *P. omnivorum* se obtuvo el 100 % de germinación. Los trece aislamientos de *Trichoderma* spp., no presentaron diferencia significativa sobre las semillas de frijol con respecto al testigo (no se aplicó *Trichoderma*). Este resultado es acertado si se considera que *P. omnivorum* no forma parte de los fitopatógenos causantes del complejo de enfermedades de la semilla y la plántula.

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

Los análisis estadísticos (Apéndice A2 y A3), arrojaron diferencia significativa entre los tratamientos, con respecto a la longitud de tallo, pero no a longitud de raíz. Se realizó una prueba de separación de medias para longitud de tallo, los resultados se muestran en el Cuadro 9.

Cuadro 9. Longitud de tallo de plantas de frijol a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

Tratamientos	Longitud Tallo	
T7 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	76.81	A
T10 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	53.44	B
T9 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	50.92	BC
T11 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	49.42	BCD
T13 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 13 de <i>Trichoderma</i>)	45.25	BCDE
T8 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	41.99	BCDE
T4 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	38.90	BCDE
T6 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	34.33	BCDE
T12 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	34.00	BCDE
T1 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	27.88	CDE
T14 (Testigo: <i>P. omnivorum</i> sin antagonista)	25.96	DE
T5 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	25.19	DE
T3 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	25.13	DE
T2 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	23.42	E

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

Se observa que el mejor tratamiento para este parámetro es el T7 y el peor estadísticamente fue el T2. El resto de los tratamientos (T1, T3, T4, T5, T6, T8, T9, T10, T11, T12 y T13) no mostraron diferencia significativa con el testigo (T14) (Figura 9).

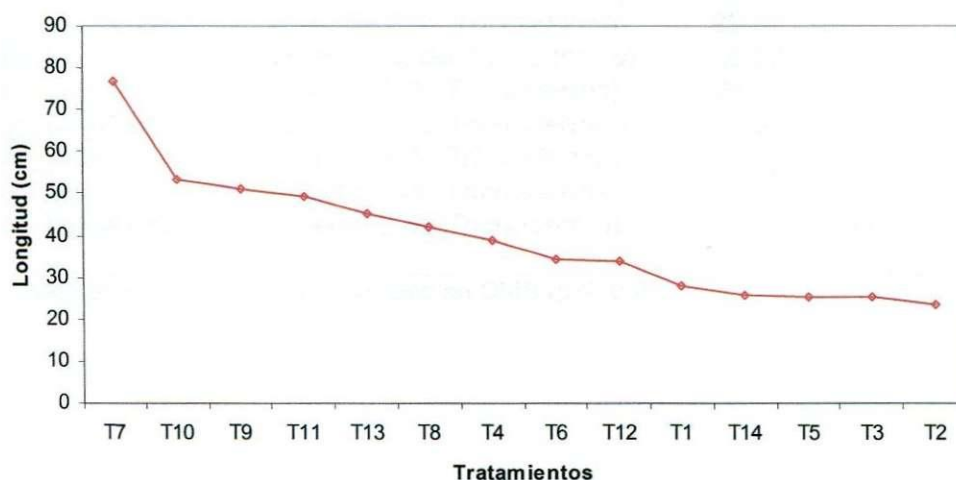


Figura 9. Crecimiento promedio de la longitud de tallo a los 30 días.

4.4.2. Peso total de plantas

El análisis estadístico, detecto diferencia altamente significativa para el peso fresco de plántulas en los tratamientos (Apéndice A4), se desarrollo una prueba de medias con el fin de encontrar el mejor tratamiento (Cuadro 10).

El resultado fue que los tratamientos T12, T10, T9 son iguales estadísticamente, sobresaliendo el T12 y el T6 que estadísticamente fue el peor con una DMS del 0.05 (Figura 10).

Cuadro 10. Peso fresco de las plantas a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL Torreón, Coah., 2007.

Tratamientos	Peso promedio total
T12 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 7 de <i>Trichoderma</i>)	40.10 A
T10 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 10 de <i>Trichoderma</i>)	38.25 A
T9 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 9 de <i>Trichoderma</i>)	37.70 A
T3 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 11 de <i>Trichoderma</i>)	32.50 AB
T14 (Testigo: <i>P. omnivorum</i> sin antagonista)	31.97 AB
T1 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 8 de <i>Trichoderma</i>)	31.95 AB
T2 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	29.90 AB
T5 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 6 de <i>Trichoderma</i>)	29.55 ABC
T11 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 12 de <i>Trichoderma</i>)	25.62 BCD
T13 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 1 de <i>Trichoderma</i>)	25.05 BCD
T4 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 4 de <i>Trichoderma</i>)	24.92 BCD
T8 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 5 de <i>Trichoderma</i>)	22.60 BCD
T7 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 3 de <i>Trichoderma</i>)	19.00 CD
T6 (<i>P. omnivorum</i> + Aislamiento 2 de <i>Trichoderma</i>)	17.60 D

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

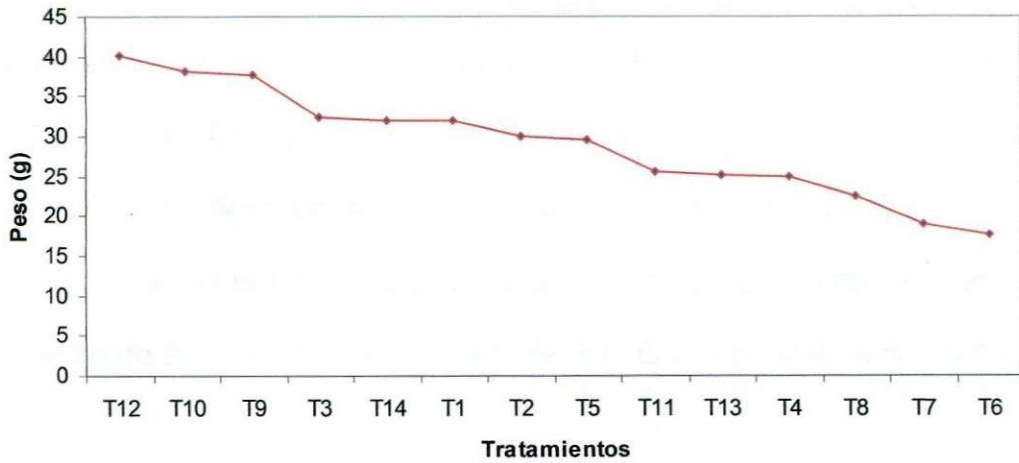


Figura 10. Peso fresco promedio de las plantas a los 30 días.

4.4.3. Evaluación del estado físico de esclerocios después de 30 días en medio infestado con *Trichoderma*.

Los esclerocios, extraídos de las macetas fueron destruidos completamente en todos los tratamientos, excepto en el testigo en el cual los esclerocios se encontraron en estado firme y germinados, los hilos del hongo mostraron una longitud de 2 a 3 cm.

V. DISCUSIÓN

Las especies identificadas en el presente trabajo coinciden con las reportadas por Danielson y Davey, (1973), las cuales tienen variada distribución geográfica y son características de áreas con temperatura cálida, siendo esta condición predominante en la Comarca Lagunera en la cual se reporta una temperatura promedio de 20.3 °C con una mínima de 5.7° C y una máxima de 36.6°C.

En los estudios realizados por Alippi y Mónaco (1990), el antagonismo in vitro es una prueba inicial muy importante para poder determinar el tipo de interferencia por las características que presenta dicho enfrentamiento en cada uno de los aislamientos y brinda una aproximación para realizar estudios posteriores en el control biológico de enfermedades.

Se aprecia que los hongos antagónicos de los tratamientos T7, T10 y T12 redujeron el crecimiento del patógeno y a las 72 horas lo cubrieron en su totalidad, mostrando mayor velocidad de crecimiento. Sin embargo los otros tratamientos también cubrieron al patógeno después de 4 días. Esto indica claramente la capacidad antagónica de *Trichoderma*, variando los aislamientos en velocidad de crecimiento; característica que permite utilizar en el control de enfermedades a las especies o aislamientos antagónicos que presentan mayor desarrollo en menos tiempo (Cook and Baker, 1983).

Los resultados de la prueba en macetas al cabo de 30 días indican que no hubo síntomas de la enfermedad en ningún tratamiento incluido el testigo. Una razón pudo ser que el patógeno no alcanzó la raíz de las plantas debido a su lento crecimiento y además, en los tratamientos con *Trichoderma*, antes de lograr su objetivo posiblemente fue colonizado por el antagonista. Otra causa probable pudo ser la diferencia de colonización por parte del patógeno en condiciones de campo y experimentos controlados. En esta última condición el desarrollo radical de la planta es limitado y no alcanzó a estimular el desarrollo del patógeno. Otra posibilidad fue tal vez el tiempo que duro el experimento, pues aunque las plantas llegaron a floración, el desarrollo general fue limitado. Esto concuerda con Todd-Watson, *et al.*, (2007), que mencionan que los síntomas de infección radical en pequeños árboles de manzano por *P. omnivorum*, se presentaron en un período de 9 a 12 semanas después de estar expuestos a esclerocios del hongo; a pesar de observarse cordones miceliales a los 10 días de inoculación.

En lo que se refiere a longitud de tallo se observó en el Cuadro 9 que el tratamiento T7, tuvo una mayor longitud, siendo este el mejor, demostrando de esta manera su capacidad para estimular el crecimiento de la planta, lo cual concuerda con Villegas (2005), que menciona que *Trichoderma* spp además de ser un antagonista de fitopatógenos del suelo favorece el crecimiento de la planta. El T2 fue el peor tratamiento para este parámetro.

En la evaluación de peso fresco total, el tratamiento que mostró menor peso fue el tratamiento T6; destacando el tratamiento T12, que presentó mayor peso. Los resultados obtenidos demuestran que *Trichoderma* no solo estimula el crecimiento sino que además se obtiene ganancia en peso, el porcentaje incrementado depende de la especie vegetal y del aislamiento de *Trichoderma*; esto coincide con estudios preeliminares realizados por Agudelo, et al. (2001).

En la evaluación del estado físico de esclerocios, las tres especies identificadas *T. harzianum*, *T. pseudokoningii* y *T. koningii* penetraron y deterioraron por completo los esclerocios inhibiendo su viabilidad. Los resultados obtenidos concuerdan con estudios realizados por Samaniego-Gaxiola, et al., (1989) quienes reportan que *T. harzianum* y *T. pseudokoningii* lograron inhibir el 100% de crecimiento de micelio y viabilidad de esclerocios de *P. omnivorum*.

VI. CONCLUSIONES

De los 13 aislamientos de *Trichoderma spp.*, seleccionados de 50 aislados de 10 sitios de muestreo, 9 pertenecientes al estado de Coahuila y uno en el estado de Durango, para la evaluación antagónica; 10 fueron pertenecientes a *T. harzianum*, dos a *T. pseudokoningii* y uno a *T. koningii*. De acuerdo a los resultados obtenidos podemos aceptar la hipótesis de que en suelos de la Comarca Lagunera existen varias especies de *Trichoderma*.

Las tres especies identificadas tuvieron un efecto antagónico marcado sobre *P. omnivorum*, sin embargo entre ellas existe diferencia en el grado de antagonismo.

En forma general el hongo antagónico del género *Trichoderma* es una alternativa más en los métodos de control para dar un manejo integrado a la pudrición texana y de ésta manera reducir el uso de productos químicos contaminantes del suelo y medio ambiente.

VII. RECOMENDACIONES

El nogal pecanero o algodonerero son especies altamente susceptibles a *P. omnivorum*, y son de gran importancia económica en la Comarca Lagunera por lo que la continuación de este estudio en campo es recomendable lo cual arrojaría datos importantes del patógeno y antagonista.

Debido a la diferente capacidad antagónica de *Trichoderma* es necesario realizar estudios de las especies identificadas para determinar la relación y mecanismo de acción que hacen la diferencia antagónica entre las especies de la Comarca Lagunera.

P. omnivorum es un patógeno que requiere de tiempo para desarrollar la enfermedad por lo que es necesario disponer de 2 a 3 años para desarrollar más repeticiones en la evaluación del patógeno-antagonista, que nos permita observar por más tiempo su comportamiento y obtener mejores resultados.

VIII. LITERATURA CITADA

Agrios, G. N. 1996. Fitopatología. 2da Edición. Edit. Limusa. México. 755pp.

Agudelo, P., Orduz, S., Hoyos, I. 2001. Aislamientos de *Trichoderma* y *Gliocadium* estimulantes de la germinación y el crecimiento de frijol (*Phaseolus vulgaris*) en: memorias XXII congreso de la Sociedad Colombiana de Fitopatología. Medellín.

Acevedo, R. y Arcia, A. 1988. Control Biológico de *Sclerotium cepivorum* por *Trichoderma* sp. *In vitro*. (Resumen). Fitopatol. Venez. 1:34.

Adams, P.B. 1990. The potential of mycoparasites for biological control of plant diseases. *Ann. Rev. of Phytopathol.* 28: 59-72.

Alippi H. y Mónaco C. 1990. Antagonismo de hongos fitopatógenos y saprobios en suelos hortícolas. *Revista Argentina de Microbiología.* 22: 90-93.

Arcia, A. M. 1995. Uso de Antagonistas en el Control de Fitopatógenos del Suelo En: Curso sobre Control Microbial de Insectos Plagas y Enfermedades en Cultivos. Trabajo Mimografiado, presentado en seminario en la Universidad Centro Occidental (UCLA). Barquisimeto - Venezuela. 20 p.

Baker, R. and Cook, R. 1974. Biological control of plant pathogens. W. H. Freeman. San Francisco, U. S. A. 433 p.

Baniecki, J.F., Bloss, H. E. 1969. The basidial stage of *Phymatotrichum omnivorum*. *Mycologia* 61: 1054-1059.

Bell, D., Wells, H. and Markman, C. 1982. *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382.

- Benítez, T., Delgado-Jarana, J., Rincón, A.M., Rey, M. y C., L.M. 1998. Biofungicidas: *Trichoderma* as a biocontrol agent against phytopathogenic fungi. In: *Recent Research Developments in Microbiology*. Vol. 2. Pandalai, 8.G. (ed). Trivandrum: Research Signpost. pp. 129-150.
- Bird, L.S., El-Zik, K.M., Thaxton, P.M., Percy, R.G. and Lazo, G.R. 1984. Resistance to *Phymatotrichum omnivorum* in cotton. *Phytopathology* 74: 819.
- Bruce, A., Srinivasan, U., Staines, H.J. and Highley, T.L. 1995. *International Biodeterioration & Biodegradation* 45:337-353.
- Cabrera, F.H.A., Tuxbatova, R.I., Abuzyarova, D.M., Halilulina, A.K., Karimova, L., Rafailova, E., Shishkin, A., Alimova, F.K. 2005. Características de las cepas fúngicas del género *Trichoderma* aisladas en la región del Volga de la Federación Rusa. XX Congreso de Microbiología aceres.
- Campbell, R. 1989. *Biological control of microbial plant pathogens*. Cambridge University Press. Cambridge, U. S. A. 218p.
- Chavéz, R. E., 2007. Aproximación del riego en tiempo real, a partir de de variables agroclimáticas (caso de estudio nogal pecanero). Tesis. UAAAN-UL. Torreón, Coahuila, México. 141p.
- Chet, I. 1993. *Biotechnology in Plant Disease Control*. Wiley-Liss. Nueva York.
- Chet, I. and Inbar, J. 1994. Biological control of fungal pathogens. *Appl Biochem Biotechnol* 48: 3743.
- Chérif, M. and Benhamou, N. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* sp. *radicis - lycopersici*. *Phytopathology* 80: 1406-1414.
- Chew, M.V.I. y Jiménez, D. F. 2002. Enfermedades del melón. En: *El melón: Tecnología de producción y comercialización*. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo rural, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Investigación Forestal, Agrícola y Pecuaria. Centro de Investigación

Regional Norte Centro. Campo Experimental La Laguna. Matamoros, Coahuila, México. pp 161-195.

Cook, J.R. and Baker, K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. APS Press. St. Paul, Minnesota. 539 p.

Cook, R. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathol. 31:53-80.

Damicone, P. J., Phillip, W. P and Kenneth, E. C. 1990. *Phymatotrichum* root rot. Oklahoma Cooperative Extension Service. Division of Agricultural Sciences and Natural Resources. Oklahoma State University. U.S.A. 1-4 pp.

Dandurand, L. and Knudsen, G. 1993. Influence of *Pseudomonas fluorescent* on hyphal growth and biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* in the spermosphere and rhizosphere of pea. Phytopathology 83: 265-270.

Danielson, R. and Davey, C. 1973. Carbon and nitrogen nutrition of *Trichoderma*. Soil Biology & Biochemistry 5: 505-515.

Danielson, R. and Davey, C. 1973. Non nutritional factors affecting the growth of *Trichoderma* in culture. Soil Biology & Biochemistry 5: 495-504.

Danielson, R. and Davey, C. 1973. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. Soil Biology & Biochemistry 5: 485-494.

De Paz, L. and Méndez, M. 1997. *Trichoderma* sp agente biocontrolador de hongos fitopatógenos. Tesis de grado. Universidad Nacional Autónoma de México. p. 28-35.

Domsch, K.H., Gams, W. Andererson, T.H. 1980. Compendium of soil fungi. Volume 1. Academic Press. London New York. Toronto Sydney, San Francisco. U.S.A.

- Dumas, M.T., Strunz, G.M., Boyonoski, N.W. y Finlay, H.J. 1996. Canadian Journal of Plant Pathology 18:325-329.
- Esposito, E. and Da Silva, M. 1998. Systematics and environment application of the genus *Trichoderma*. Critical Reviews in Microbiology 24: 89-98.
- Farr, D.F., Bills, G.F., Chamuris, G.P. and Rossman, A.Y. 1989. Fungi on plants and plant products in the United States. APS Press, St Paul, Minnesota, U.S.A.
- Gómez-Escobedo, A. y Samaniego-Gaxiola, J.A. 1999. Evaluación de diferentes sustratos orgánicos para la germinación, desarrollo y sanidad de semillas inoculadas con el biocontrol *Trichoderma* spp. en suelos infestados con *Rhizoctonia solani*. II Foro Regional de Control Biológico. Torreón, Coah. 4-7 pp.
- Gams, W. and Bisset, J. 1998. Morphology and identification of *Trichoderma* & *Gliocladium* Vol. 1 Harman, G.E. y Kubicek, C.P.(eds). London, pp. 101-127.
- García, R. y Zambrano, C. 1991. Evaluación del tipo de antagonismo de *Trichoderma harzianum* ante *Macrophomina phaseolina* "In vitro". (Resumen). XII Congreso Venezolano de Fitopatología, Maturín, Estado Monagas - Venezuela.
- Ghrisalberti, E.L., and Sivacithamparam, K. 1991. Antifungal antibiotics produced by *Trichoderma* spp . In: Soil Biology and Biochemistry. Vol. 23 N° 11. pp. 1011-1020.
- Goldberg, P. N. 2006. Phymatotrichum root rot. Extensión Plant Pathologist. Las Cruces, New Mexico State University. U.S.A. 1-10 pp.
- Harman, G., Chet, I. and Baker, R. 1981. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seed as a biocontrol agent. Phytopathology 71:569-572.
- Harman, G. E. 2001. *Trichoderma* spp. Including *T. Harzianum*, *T. viride*. *T. koningii*, *T. hamatum* and other spp. Deuteromycetes , moniliales (asexual

clasification system) [http://www.birdhybrids.com/t-22 .htm](http://www.birdhybrids.com/t-22.htm) (consulta agosto de 2006).

Henis, Y., Adams, P., Lewis, J., and Papavizas, G. 1983. Penetration of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 73:1043-1046.

Hennebert, G.L. 1973. *Botrytis* and *Botrytis*-like genera. *Persoonia* 7: 183-204.

Hernández, H. V. 2002. Manejo integrado de enfermedades en el cultivo del algodón. Memorias del IV curso regional de aprobación en el control de plagas del algodón. Universidad Autónoma Agraria "Antonio Narro" Unidad laguna. Departamento de Parasitología. Comisión Nacional de Sanidad Agropecuaria. Dirección General de Sanidad Vegetal. Sistema Nacional de aprobación Fitosanitaria. Torreón, Coahuila, México.

Hernández H., V. 1987. Effects of cultivar, seed quality, pathogen virulence, inoculum density, and to see depth on host resistance to the seed-seedling disease complex of cotton. A Dissertation Submitted to the Graduate College of Texas A&M University in partial fulfilment of the requirements for the degree of Doctor of Physolophy. December 1987. 179 pp. College Station, Texas, U.S.A.

Herrera-Estrella, A. y Carsolio, C. 1998. Medio ambiente, control biológico y hongos parásitos. *Avance y Perspectiva* 17: 195-204.

Herrera, P. T. y Samaniego, G.J.A. 2002. Enfermedades del nogal. Pp. 177 – 206. En: CELALA. 2002. Tecnología de producción en nogal pecanero. SAGADERPA. INIFAP. CIRNOC. CELALA. Matamoros, Coahuila, México. Noviembre del 2002.

Howell, C.R. 2002. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87:3-10pp.

Johnson, F. L. and Curl, E. A. 1972. *Methods For Research on the Ecology of Soil - Born Plant Pathogens*. St. Paul, Minnesota. United States of America. pp 195,196.

- Kenerley, C.M and Stack, J.P. 1987. Influence of assessment methods on selection of fungal antagonists of the sclerotium-forming fungus *Phymatotrichum omnivorum*. Canadian Journal of Microbiology 33: 632-635.
- Knudsen, G. and Bin, L. 1990. Effects of temperature, soil moisture, and wheat bran on growth of *Trichoderma harzianum* from Alginate pellets. Phytopathology 80:724-727.
- Larenas, C. y Montealegre, J. 1995. Efecto de la temperatura de almacenaje y del contenido de nutrientes sobre la viabilidad de pellets de *Trichoderma harzianum*. Fitopatología 31:66-69.
- Lieckfeldt, E., Kuhls, K. and Muthumeenakshi, S. 1998. Molecular taxonomy of *Trichoderma* and *Gliocladium* and their teleomorphs . In: *Trichoderma & Gliocladium*. Vol. 1 Harman, G.E. y Kubicek C. P. (eds). London, pp. 101-127.
- Lewis, J.A. and Papavizas, G. 1984b. Chlamydospore formation by *Trichoderma* spp. In natural substrates. Can J Microbiol 30: 1-7.
- Lifshits, R. Windhan, M. and Baker, R. 1986. Mechanism of biological control of preemergence damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. Phytopathology 76:720-725.
- Lo, C., Nelson, E. and Harman, G. E. 1996. Biological control of turfgrass diseases with a rhizosphere competent strain of *Trichoderma harzianum*. Plant Disease 80:736-741.
- Lyda, S.D. 1978. Ecology of *Phymatotrichum omnivorum*. Ann. Rev. Phytopathol. 16:193-209.
- Lyda, S. D. and Kenerley, C.M. 1992. *Phymatotrichum* In: Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. APS press, St. Paul, Minnessota. pp 145-148.
- McAllister, C., García-Romero, I., Godeas, A. and Ocampo, J. 1994. Interactions between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*:

Effects on plant growth, arbuscular mycorrhizas and the saprophyte inoculants. *Soil Biology & Biochemistry* 26:1363-1367.

McBeath, J. and Adelman, M. 1991. Taxonomy of a new *Trichoderma* found in Alaska. Abstract. *Phytopathology* 81:1151.

Melgarejo P., De Cal, A., Larena, I., Sabuquillo, P. y Guijarro, B. 2005. Aplicaciones del control biológico al control de enfermedades de vegetales. INIA. Madrid, España.

Melgarejo, P. y De Cal, A. 2006. Biofungicidas y control biológico de hongos fitopatógenos: aplicación en la filosfera. ISSN 1131-8988, Nº 182, 2006, pags. 59-63.

Mihuta-Grimm, L. and Rowe, C. 1986. *Trichoderma* spp. as biocontrol agents of *Rhizoctonia* damping-off of radish in organic soil and comparison of four delivery systems. *Phytopathology* 76:306-312.

Mukerji, K.G. and Garg, K.G. 1988. Biocontrol of plant diseases. Vol 1 y 2. CRC. Press Inc. Florida, U.S.A.

Mulrean, E.N., Hine, R.B., Mueller, J.P. 1984. Effect of *Phymatotrichum* root rot on yield and seed and lint quality in *Gossypium hirsutum* and *G. barbadense*. *Plant Disease* 68: 381-383.

Nelson, M. and Powelson, M. 1988. Biological control of grey mold of snap beans by *Trichoderma hamatum*. *Plant Disease* 72:727-729.

OEPP/EPPO. 1990. Specific quarantine requirements. *EPPO Technical Documents* No. 108.

Papavizas, G. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology and potential for biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol* 23: 23-54.

Percy, R. G. 1983. Potential range of *Phymatotrichum omnivorum* as determined by edaphic factors. *Plant Dis.* 67: 981-983.

- Pérez-García, G., Herrera-Pérez, T. y Samaniego-Gaxiola, J. A. 1991. Micobiota asociada con las raíces de nogal infectadas por *Phymatotrichum omnivorum*. Revista Mexicana de Micología 8:71-84.
- Pineda, J. y Tortolero, O. 1995. Estrategias para el uso de *Trichoderma* en el control de hongos fitopatógenos en el suelo. (Resumen). Revista Forestal Venezolana 1(1):47. <http://www.geocities.com/ecologialuz/trichoderma.htm> (consulta septiembre de 2006).
- Rehner, S. A. and Samuels, G. J. 1994. Taxonomy and phylogeny of *Gliocladium* analyzed from nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. Mycol. Res. 98: 625-634.
- Rifai, M. A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. Pap. 116:1.
- Rodríguez, I. y Arcia, A. 1993. Caracterización fisiológica (temperatura, pH y luz) de 12 aislamientos de *Trichoderma* spp., *In vitro*. (Resumen). Fitopatol. Venezol. 6:53.
- Rodríguez, I. y Arcia, A. 1993. Efecto de doce aislamientos de *Trichoderma* spp., sobre el número, tiempo de formación y porcentaje de parasitismo de esclerocios de *Sclerotium rolfsii*, en cuatro temperaturas diferentes. (Resumen). Fitopatol. Venezol. 6:54.
- Roiger, D.J., Jeffer, S.N., Caldwell, R.W. 1991. Soil Biology. Biochemistry. 23:353-359.
- Rosen, D., Edelman, M., Galun, E. and Danon, D. 1974. Biogenesis of mitochondria in *Trichoderma viride*. Structural changes in mitochondria and other spores constituents during conidium maturation and germination. J. Gen. Microbiol. 83: 31-49.
- Samaniego-Gaxiola, J.A. 1991. La actividad microbiana en pajas de trigo inoculado con *Trichoderma* sp. y suelos complementados con glucosa y la viabilidad de los esclerocios de *Phymatotrichum omnivorum*. XVIII Congreso Nacional de Fitopatología. Puebla, Puebla.

- Samaniego-Gaxiola, J.A., Herrera-Pérez, T., Pedroza-Sandoval, A., Jiménez-Díaz, F. y Chew-Medinaveitia, Y.I. 2003. Fluctuación de la severidad de pudrición texana, *Phymatotrichopsis omnivora* (Duggar) Hennebert en nogal pecanero (*Carya illinoensis* K.) bajo las condiciones de la Comarca Lagunera, México. Rev. Mex. Fitopatol. 21: 143-151.
- Samaniego-Gaxiola, J.A., Ulloa-Sosa, M. y Herrera-Pérez, T. 1988. Micobiota del suelo en huertas de nogal atacadas por *Phymatotrichum omnivorum*. Revista Mexicana de Micología 4: 43-57.
- Samaniego-Gaxiola, J.A., Ulloa-Sosa, M. y Herrera-Pérez, T. 1989. Hongos del suelo antagónicos de *Phymatotrichum omnivorum*. Revista Mexicana de Fitopatología 8: 86-95.
- Samuels, G. J. 1996. Trichoderma: a review of biology and systematics of the genus. En: *Micological* vol. 100 (7-2), p. 923-935.
- 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. Rev. Fac. Agron. (LUZ). 16: 509-516.
- Streets, R.B. 1937. *Phymatotrichum* (cotton or Texas) root rot in Arizona. Technical Bulletin. Arizona University. College of Agriculture. No. 71.
- Streets, R.B. and Bloss, H. E. 1973. *Phymatotrichum* root rot. Monograph No. 8. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. U.S.A. 38 pp.
- Todd-Watson, W., Nye-Appel, D., Aloysius-Arnold, M., Miller-Kenerley, C., Lester-Starr, J. y Martínez-Trinidad, T. 2007. Inoculación, síntomas y colonización en árboles de manzano en contenedor por *Phymatotrichopsis omnivora* (Duggar) Hennebert. Department of Horticultural Sciences, Texas A&M University, College Station. U.S.A.
- Trosmano, A., and Gordon, L. 1998. Biological control with *Trichoderma* species. St. Paul, Minnesota, U.S.A. pp. 111-126.

- Vero, M. S. y Mondito, P. 1999. Control biológico postcosecha en Uruguay. Horticultura Internacional. Año 7, número 26. Montevideo, Uruguay. pp 1-10.
- Villegas, M. A. 2005. Trichoderma Pers características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. Villavicencio, Colombia. <http://www.oriusbiotecnologia.com/site/index.php?id=20,66,0,0,1,0>
Consulta el 10 de Octubre de 2007.
- Weindling, R. 1932. *Trichoderma lignorum* as a parasite of other fungi. *Phytopathology* 22: 837
- Whipps, J.M. y Lumsden, R.D. 2001. Commercial Use of Fungi as Plant Disease Biological Control Agents: Status and Prospects. En *Fungi as Biocontrol Agents. Progress, problems and potential*. Butt, T.M., Jackson, C.W. y Magan, N. (eds). Wallingford, UK. CABI Publishing.

APENDICE A

Cuadro A.1. Análisis de varianza del crecimiento de *P. omnivorum* en cada uno de los tratamientos en el enfrentamiento con *Trichoderma*. UAAAN-UL. Torreón Coah. 2006.

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F	P>F
MODELO	13	24.95928571	1.91994505	39.24	<.0001**
ERROR	42	2.05500000	0.4892857		
TRATAMIENTOS	13	24.95928571	1.91994505	39.24	<.0001**
TOTAL CORRECTO	55	27.01428571			

C.V. = 11.46 %

* = Significativo

** = Altamente significativo

NS= No significativo

Cuadro A.2. Análisis de varianza de la longitud de tallo de plantas de frijol a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2007.

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F	P>F
MODELO	13	11600.76352	892.36642	4.08	0.0003**
ERROR	42	9179.93837	218.56992		
TRATAMIENTOS	13	11600.76352	892.36642	4.08	0.0003**
TOTAL CORRECTO	55	20780.70190			

C.V. = 37.45 %

* = Significativo

** = Altamente significativo

NS= No significativo

Cuadro A.3. Análisis de varianza de la longitud de raíz de plantas de frijol a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón Coah. 2007.

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F	P>F
MODELO	13	78.4598214	6.0353709	1.07	0.4108 NS
ERROR	42	237.3073500	5.6501750		
TRATAMIENTOS	13	78.4598214	6.03537088	1.07	0.4108 NS
TOTAL CORRECTO	55	315.7671714			

C.V. = 13.77 %

* = Significativo

** = Altamente significativo

NS= No significativo

Cuadro A.4. Análisis de varianza del peso fresco de las plantas de frijol en medio inoculado con *P. omnivorum* y *Trichoderma spp* a los 30 días después de la siembra. UAAAN-UL. Torreón Coah. 2007.

Fuente de Variación	GL	SC	CM	F	P>F
MODELO	13	2159.438036	166.110618	3.45	0.0011**
ERROR	42	2023.847500	48.186845		
TRATAMIENTOS	13	2159.438036	166.110618	3.45	0.0011**
TOTAL CORRECTO	55	4183.285536			

C.V. = 23.53 %

* = Significativo

** = Altamente significativo

NS= No significativo