

**CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS
FITOPATÓGENOS DEL SUELO CON
Trichoderma SPP EN LA COMARCA
LAGUNERA**

MARCIA MARIBEL MARTÍNEZ SCOTT

T E S I S

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

DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA
AGRARIA ANTONIO NARRO**

**UNIDAD LAGUNA
DIRECCION DE POSTGRADO**

Torreón, Coahuila, México. Junio del 2008.

DIRECCIÓN DE POSTGRADO

**CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS FITOPATÓGENOS
DEL SUELO CON *Trichoderma* SPP EN LA COMARCA
LAGUNERA**

TESIS

POR

MARCIA MARIBEL MARTÍNEZ SCOTT

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

DOCTOR EN CIENCIAS AGRARIAS

Asesor principal


Ph. D. Vicente Hernández Hernández

Asesor


Dr. Adalberto Benavides Mendoza

Asesor


Dr. Jerónimo Landeros Flores

Asesor


Dr. Esteban Pavea Chávez

Asesor

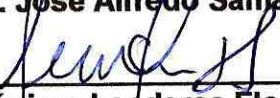

Dr. Alberto Flores Olivas

Asesor


Ph. D. Sergio Alfredo Rodríguez Herrera

Asesor


Dr. José Alfredo Samaniego Gaxiola


Dr. Jerónimo Landeros Flores
Director de Postgrado


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

Torreón, Coah. México. Junio de 2008.

DEDICATORIAS

A MI PADRE CELESTIAL

Te agradezco padre, por haberme dado la vida y la fuerza necesaria para poder cumplir con esta meta que me trace en esta vida de probación. Por la maravillosa familia que tengo y que siempre estuvieron allí para apoyarme y para comprenderme. El cumplimiento de una de mis metas se ha realizado hoy y este triunfo maravilloso, lo dedico al único ser, el cual me ha facilitado las herramientas necesarias para poder alcanzar el éxito, a ti señor.

A MIS PADRES Y HERMANOS

A Quienes amo por que son mis amigos, mi inspiración por ser personas rectas, humildes y caritativas. Porque siempre estuvieron a mi lado cuando más los requería, porque cuidaron bien a mi hijo cuando no estaba y porque merecen ser reconocidos como **COPARTICIPES DE ESTE LOGRO**.

A MI HIJO

Quien tantas veces se desveló a mi lado cuando yo trabajaba; por su comprensión, porque no pude otorgarle el tiempo que como madre debía dedicarle, porque aun así, siempre lo he amado, porque el es la razón mas poderosa de mi vida para conquistar los retos que se me atravesen en mi camino. A ti que eres especial y que eres el amor de mis amores, porque a tu lado puedo vencer al mundo, pero sin ti no soy nada. Te amo corazoncito de melón.

AGRADECIMIENTOS

A MIS AMIGOS

Francisco Javier Sánchez Ramos, Graciela Armijo, Gabriela Muñoz, Javier López, Ma.Teresa Valdez, Bertha A. Cisneros, Blanca E. Mares y a todos esos excelentes amigos Sergio el de las copias, a Palomo trabajador de campo, A Patricia Quistián Herrera a Lourdes "Lulú" la de Fitomejoramiento en la UAAAN etc., que me apoyaron en las buenas y en las malas, y que con su optimismo y amistad me ayudaron a hacer ligera mi estancia por la Universidad.

AL DR. SERGIO CASAS FLORES DEL INSTITUTO POTOSINO DE CIENCIA Y TECNOLOGIA A.C. que aun sin conocerme me brindaron su confianza y apoyo Para lograr terminar esta investigación.

AL CONSEJO NACIONAL DE CIENCIA Y TECNOLOGÍA QUIEN ME BRINDO UNA BECA ACADÉMICA.

A MI "ALMA TERRA MATER", QUIEN ME ACOGIÓ EN SU SENO Y ME BRINDO CONOCIMIENTOS A TRAVÉS DE SUS MAESTROS.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. OBJETIVOS	4
1.2. METAS	4
2. REVISIÓN DE LITERATURA	6
2.1. El control biológico	6
2.2. Biocontrol por medio de <i>Trichoderma</i> spp.	7
2.3. Descripción del hongo	9
2.3.1. Hábitat	9
2.3.2. Clasificación de <i>Trichoderma</i>	9
2.3.3. Fase anamófica	9
2.3.4. Fase teleomórfica	11
2.3.5. Requerimientos de temperatura	11
2.3.6. Requerimientos nutricionales	12
2.4. Características ecológicas de <i>Trichoderma</i>	14
2.5. Mecanismos de control biológico de <i>Trichoderma</i>	16
2.5.1. Estimulación de los mecanismos de defensa de las plantas (resistencia inducida)	16
2.5.2. Inactivación de los sistemas de ataque del patógeno	18
2.6. Competencia por los nutrimentos y el espacio	18
2.7. Antibiosis	20

2.8. Micoparasitismo	23
2.9. Importancia de los hongos fitopatógenos evaluados en este estudio ...	26
2. 10. Control de patógenos	28
3. MATERIALES Y MÉTODOS	31
3.1. Muestreo del suelo para aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp.	31
3.2. Tratamiento de las muestras de suelo	31
3.3. Aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp.....	32
3.4. Observación morfológica e identificación de los aislados	33
3.5. Extracción de ADN	33
3.6. Caracterización de las cepas de <i>Trichoderma</i>	34
3.7. Evaluación de <i>Trichoderma</i> spp <i>in vitro</i>	35
3.8. Preparación del inóculo de <i>Trichoderma</i>	36
3.9. Aislamientos de los fitopatógenos	37
3. 10. Preparación del inóculo de los patógenos empleados	37
3.11. Evaluación del antagonismo de <i>Trichoderma</i> sobre semilla establecida en bandejas.....	38
3. 12. Evaluación de las cepas de <i>Trichoderma</i> sobre tomate sembrado en macetas.....	39
3.13. Evaluación de las cepas de <i>Trichoderma</i> sobre tomate trasplantado en macetas.....	40
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	42

4.1. Muestreo del suelo para aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp	42
4.2. Aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp	44
4.3. Observación morfológica e identificación de los aislados	47
4.4. Extracción de ADN	48
4.5. Caracterización molecular de los aislados	48
4.6. Evaluación del antagonismo de <i>Trichoderma in vitro</i>	53
4.6.1. Antagonismo de <i>Trichoderma</i> confrontado con <i>R. solani</i>	55
4.6.2. Antagonismo de <i>Trichoderma</i> confrontado con <i>F. oxysporum</i>	57
4.6.3. Antagonismo de <i>Trichoderma</i> confrontado con <i>V. dahliae</i>	59
4.6.4. Antagonismo de <i>Trichoderma</i> confrontado con <i>P. omnivora</i>	60
4.6.5. Resultados de inhibición de <i>R. solani</i> con cepas nativas de <i>Trichoderma</i>	62
4.6.6. Resultados de Inhibición de <i>F. oxysporum</i> con cepas nativas de <i>Trichoderma</i>	63
4.6.7. Resultados de Inhibición de <i>V. dahliae</i> con cepas nativas de <i>Trichoderma</i>	64
4.6.8. Resultados de inhibición de <i>P. omnivora</i> con cepas nativas de <i>Trichoderma</i>	65
4.7. Evaluación del parasitismo de <i>Trichoderma</i> sobre semilla establecida en bandejas para siembra.....	68
4.7.1. Evaluación de cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>R. solani</i>	68

4.7.2. Evaluación de cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>F. oxysporum</i>	69
4.7.3. Evaluación de cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>V. dahliae</i>	69
4.7.4. Evaluación de cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>P. omnivora</i>	70
4.8. Evaluación de las cepas de <i>Trichoderma</i> sobre tomate sembrado en macetas.....	70
4.8.1. Semilla Podrida	71
4.8.2. Muerte Preemergente.....	71
4.8.3. Emergencia	71
4.8.4. Muerte postemergente	72
4.8.5. Plantas viables	72
4.8.6. Altura de Planta, longitud de vástago y raíz	72
4.9. Evaluación de las cepas de <i>Trichoderma</i> trasplantadas en macetas	73
4.9.1. Muerte de Plántulas.....	73
4.9.2. Altura de Planta, longitud de vástago y raíz	74
5. CONCLUSIONES.....	82
6. LITERATURA CITADA.....	83
7. APÉNDICES.....	92

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Algunos fitopatógenos controlados por <i>Trichoderma</i> spp.....	30
Cuadro 2. Suelos muestreados en La comarca Lagunera de Coahuila donde no se encontraron especies de <i>Trichoderma</i> . UAAAN-UL. Torreón, Coah., 2005-2006.....	43
Cuadro 3. Muestreo de Suelos en huertas de nogal para aislamiento de <i>Trichoderma</i> en la Comarca Lagunera de Coahuila y Durango. UAAAN-UL. Torreón, Coah., 2005-2006.	45
Cuadro 4. Aislados de <i>Trichoderma</i> evaluadas en antagonismo <i>in vitro</i> . UAAAN-UL. Torreón, Coah., 2005-2006.	46
Cuadro 5. Claves asignadas a las cepas de <i>Trichoderma</i> . UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2005-2006.....	47
Cuadro 6. Cepas de <i>Trichoderma</i> potenciales para ser empleadas en biocontrol de hongos fitopatógenos del suelo....	56
Cuadro 7. Evaluación de cepas de <i>Trichoderma</i> en experimento de macetas sobre semilla de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill).....	76
Cuadro 8. Evaluación de cepas de <i>Trichoderma</i> en experimento de macetas sobre plántula de tomate (<i>Lycopersicon esculentum</i> Mill).....	77

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tratamientos empleados en la evaluación del antagonismo de <i>Trichoderma</i> en las distintas pruebas.....	39
Figura 2. Patrón de bandeo del primer gel de agarosa donde se visualizan 19 de las cepas de <i>Trichoderma</i> que fueron aisladas en la Comarca Lagunera.....	49
Figura 3. Patrón de bandeo del segundo gel de agarosa donde se visualizan 12 de las cepas de <i>Trichoderma</i> que fueron aisladas en la Comarca Lagunera.....	49
Figura 4. Patrón de bandeo del tercer gel de agarosa donde se visualizan 12 cepas de <i>Trichoderma</i> aisladas en suelos de La Comarca Lagunera.	50
Figura 5. Dendograma derivado de la amplificación al azar de los fragmentos de DNA polimórfico en el análisis de las cepas de <i>Trichoderma</i>	51
Figura 6. Enfrentamiento dual.....	54
Figura 7. Gráfica comparativa del crecimiento registrado de los cuatro patógenos en antagonismo con las cepas de <i>Trichoderma</i>	55
Figura 8. Evaluación de especies de <i>Trichoderma</i> con <i>R. solani</i> <i>in vitro</i>	57
Figura 9. Evaluación de especies de <i>Trichoderma</i> con <i>F. oxysporum</i> <i>in vitro</i>	58

Figura 10. Evaluación de especies de <i>Trichoderma</i> con <i>V. dahliae</i> <i>in vitro</i>	59
Figura 11. Evaluación de especies de <i>Trichoderma</i> con <i>P. omnivora</i> <i>in vitro</i>	61
Figuras 12 Y 13. Parasitismo de <i>Trichoderma</i> sobre el micelio de <i>Rhizoctonia solani</i>	63
Figura 14. Cepa de <i>Trichoderma</i> SI32 con <i>F. oxysporum</i>	64
Figuras 15 Y 16. Cepas de <i>Trichoderma</i> y <i>V. dahliae</i> a los 5 días de confrontación.....	65
Figura 17. Cepa de <i>Trichoderma</i> parasitando e inhibiendo el micelio de <i>P. omnivora</i>	66
Figura 18. Gráfica comparativa de la evaluación de los cuatro patógenos con cada una de las cepas nativas de <i>Trichoderma</i>	67
Figura 19. Evaluación de cepas de <i>Trichoderma</i> en macetas inoculadas con <i>R. solani</i>	78
Figura 20. Evaluación de cepas de <i>Trichoderma</i> en macetas inoculadas con <i>F. oxysporum</i>	79
Figura 21. Evaluación de cepas de <i>Trichoderma</i> en macetas inoculadas con <i>V. dahliae</i>	80
Figura 22. Evaluación de cepas de <i>Trichoderma</i> en macetas inoculadas con <i>P. omnivora</i>	81

COMPENDIO

**CONTROL BIOLÓGICO DE HONGOS FITOPATÓGENOS DEL
SUELO CON *Trichoderma* SPP EN LA COMARCA LAGUNERA**

POR

MARCIA MARIBEL MARTÍNEZ SCOTT

DOCTORADO EN CIENCIAS AGRARIAS EN PRODUCCIÓN AGRÍCOLA

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

UNIDAD LAGUNA

TORREÓN, COAHUILA JUNIO DEL 2008

Palabras Claves: biocontrol, *R. solani*, *F. oxysporum*, *V. dahliae*, *P. omnivora*, PCR-RAPD.

La distribución, reproducción e incidencia de los hongos fitopatógenos se manifiesta por las pérdidas económicas de más del 30% de las cosechas en el mundo, ya sea directa o indirectamente sobre semilla, plántulas, cultivos plenamente desarrollados y en poscosecha, lo que conlleva a buscar alternativas para su control, empleando aplicaciones indiscriminadas de fungicidas, debido a que el empleo de prácticas culturales se ha visto restringidos por cuestiones económicas y ecológicas. Ésto ha dado pie a que

se busquen alternativas que permitan reducir los daños causados por este tipo de microorganismos del suelo, bajo una agricultura sustentable y redituable a través de hongos biocontroladores del género *Trichoderma*. Este trabajo se realizó en La Comarca Lagunera en el estado de Coahuila y Durango, México durante 2005-2007, evaluándose *in vitro* a través de la técnica de cultivos duales, en semilla y en invernadero 28 cepas nativas del hongo *Trichoderma*, logrando obtener algunas cepas potenciales biocontroladoras de hongos como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *Verticillium dahliae* y *Phymatotrichopsis omnivora*. Sobresaliendo las cepas nativas de *Trichoderma* BA10, BA11 y TB21. Algunas de las cepas nativas de *Trichoderma* se caracterizaron a través de la técnica de PCR-RAPD, empleando cinco primer universales OPA1–CAGGCCCTTC, OPA2–TGCCGAGCTG, OPA3–AGTCAGCCAC, OPA4–AATCGGGCTG y el OPA9–CGGTAACGCC; las cuales se asociaron en cinco grupos.

ABSTRACT

BIOLOGICAL CONTROL OF SOILBORNE PLANT-PATHOGENIC FUNGI WITH *Trichoderma* SPP AT THE COMARCA LAGUNERA

keywords: biocontrol, *R. solani*, *F. oxysporum*, *V. dahliae*, *P. omnivora*.

Because of the distribution, reproduction and incidence of diseases caused by fungal pathogens, economic losses of more than 30% occur on crops over the world. Fungal diseases may affect seeds, seedlings, plants fully developed and postharvest products. The control of diseases by means of cultural practices is now being restricted for economic and ecological issues, and indiscriminate application of chemical is the only alternative for control. Presently there is a different, profitable and sustainable possibility to reduce the damage caused by fungal pathogens, particularly soilborn microorganisms by the use of biocontrol with *Trichoderma*, a soil inhabiting fungus. This study was performed at La Comarca Lagunera (Coahuila and Durango states, Mexico) through 2005-2007. Native strains of *Trichoderma* were evaluated *in vitro* by the technique of dual confrontation against well known soilborne plant pathogens. Strains BA10, BA11 and TB21 showed promising biocontrol action against *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*, *Verticillium dahliae* and *Phymatotrichopsis omnivora*. Molecular characterization made by PCR-RAPD with five primers: OPA1-CAGGCCCTTC, OPA2-TGCCGAGCTG, OPA3-AGTCAGCCAC, OPA4-AATCGGGCTG, OPA9- CGGTAACGCC; where characterized and associated the strains in five groups.

1. INTRODUCCIÓN

La importancia de los hongos en la naturaleza difícilmente puede ser sobrevalorada, esencialmente porque se conocen más de 100,000 especies, de las cuales la mayoría son saprófitos; no obstante, alrededor de 50 especies producen enfermedades al hombre y aproximadamente 8,000 atacan directamente a las plantas, teniendo la capacidad de infectar a una o varias especies silvestres o cultivadas (Agrios, 1996). La distribución, reproducción e incidencia de los hongos fitopatógenos se manifiesta por las pérdidas económicas de más del 30% de las cosechas en el mundo, ya sea directa o indirectamente sobre semilla, plántulas, cultivos plenamente desarrollados y en poscosecha (FAO, 2003).

En La Comarca Lagunera y en otras áreas del mundo, los principales fitopatógenos del suelo son: *Rhizoctonia solani* Kühn, *Phymatotrichopsis omnivora* (Duggar) Hennebert, *Verticillium dahliae* Kleb., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich y *Fusarium* spp. En otras áreas del país y del mundo son importantes: *Thielaviopsis basicola* (Berk y Broome) Ferraris (sin. *Chalara elegans* Nag Raj y Kendrick), *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) De Bary., *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Pythium* spp y *Phytophthora* spp. En general la importancia de estos hongos se debe a factores como: a) Distribución: se encuentran en muchas áreas agrícolas del mundo; b) Supervivencia: permanecen en el suelo por muchos años, pues dependiendo del patógeno pueden sobrevivir mediante estructuras de resistencia como esclerocios,

clamidosporas, oosporas, o bien como micelio en reposo, saprófitos y parásitos de arvenses y ruderales; c) Rango de hospedantes amplio: la mayoría puede afectar a muchas plantas cultivadas como hortalizas y cereales, d) Limitan los sistemas agrícolas debido al rango de hospedantes y a la supervivencia; por lo que las posibilidades de utilización del suelo y de rotación de cultivos son escasas (Gudmestad, 1999); e) Enfermedades que causan: son responsables del complejo de enfermedades de la semilla y la plántula (pudrición de semilla y ahogamiento pre y postemergente), pudriciones de la raíz, de la corona, de la base del tallo y del fruto; así como tizones foliares de ramas, tallos y frutos; f) Número de especies que agrupan: los géneros *Fusarium*, *Phytophthora* y *Pythium* cuentan con numerosas especies de modo que frecuentemente pueden encontrarse, particularmente en *Pythium*, dos o más especies en una misma planta; g) Variabilidad genética: en algunos de estos fitopatógenos la recombinación genética da origen con cierta facilidad a formas especiales y razas fisiológicas; h) Producción de enzimas y toxinas: algunos patógenos producen enzimas que degradan la lamela media de las células y eso explica en parte, el rango amplio de hospedantes; afortunadamente pocos, producen toxinas que afectan al hombre y los animales (Chérif y Benhamou, 1990).

En la agricultura moderna, algunas prácticas como el monocultivo, la compactación de áreas de cultivo, el uso de plantas genéticamente similares, el uso de cultivares susceptibles a patógenos y el uso de fertilizantes y fungicidas a concentraciones que incrementan la susceptibilidad de las plantas a enfermedades ha incrementado el potencial destructivo de estos microorganismos. Así, el control de enfermedades depende en gran medida del

uso de agroquímicos, lo cual constituye una preocupación primordial de la sociedad acerca de su impacto en el ambiente, particularmente en los productos agrícolas y en los consumidores. De ahí la importancia de avanzar en el manejo de hongos fitopatógenos a través del uso del control biológico, para hacer de esta alternativa una medida efectiva, confiable, consistente y económica (Hermosa *et al.*, 2004).

Una de las áreas de impacto dentro del control biológico, lo constituye el uso de hongos fitopatógenos del suelo, ya que por su naturaleza, el control de estos microorganismos mediante métodos tradicionales es extremadamente difícil. La dificultad para su control radica en los siguientes factores: distribución vertical variable (desde superficial hasta una profundidad de más de 0.30 m), distribución horizontal irregular, formación de estructuras de resistencia, rango amplio de hospedantes y la imposibilidad de hacer llegar al patógeno la cantidad necesaria de fungicida en el momento apropiado (Cardona *et al.*, 2003).

Una posibilidad en el control biológico es el empleo del hongo deuteromiceto *Trichoderma* spp, habitante del suelo que en la naturaleza parasita a otros hongos fitopatógenos del suelo y de la parte aérea de la planta (Rodríguez *et al.*, 1997). Los mecanismos de biocontrol que se conocen para *Trichoderma* son: micoparasitismo, competencia por nutrimentos en el exudado de las semillas y antibiosis (Lifshits *et al.*, 1985; Harman *et al.*, 1981), aparentemente el micoparasitismo es el principal mecanismo de acción de *Trichoderma* (Harman *et al.*, 1981; Bisette, 1991). Este hongo envuelve con sus hifas a los hongos que parasita y penetra sus células causándoles un daño

extensivo como: alteración y degradación de la pared celular, retracción de la membrana celular y desorganización del citoplasma (Boosalis y Mankau, 1965; Lorito *et al.*, 1996; Kubiceck, *et al.*, 2001; Benítez *et al.*, 2004). Además, tiene efecto sobre la reproducción al inhibir la germinación de esporas y el desarrollo del tubo germinativo (Lorito *et al.*, 1993). Por todo lo anterior, se considera que *Trichoderma* es ideal para el control de fitopatógenos del suelo en la Comarca Lagunera, razón por la cual se planteó este estudio.

1.1. OBJETIVOS

- Aislar y caracterizar especies nativas de *Trichoderma* spp. En suelos de La Comarca Lagunera
- Determinar en el laboratorio el antagonismo de *Trichoderma* spp, sobre *P. omnivora*, *Fusarium oxysporum*, *V. dahliae* y *R. solani*.
- Evaluar en invernadero el efecto de *Trichoderma* spp, sobre *R. solani*, *F. oxysporum*, *V. dahliae* y *P. omnivora*.

1.2. METAS

1. Lograr aislar del suelo de La Comarca Lagunera cepas nativas de *Trichoderma* spp.
2. Obtener cepas capaces de ejercer una disminución de daños a *P. omnivora*, *V. dahliae*, *F. oxysporum* y *R. solani* en el laboratorio.

3. Contar con una colección de cepas de *Trichoderma*.
4. Obtener al menos un aislado de *Trichoderma* capaz de disminuir los daños causados por los principales fitopatógenos del suelo en La Comarca Lagunera.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. El control biológico

El control biológico de patógenos del suelo a través de la adición de microorganismos antagonistas, es un medio no contaminante, con potencial para el control de enfermedades de plantas (Elad *et al.*, 1980).

Baker y Cook (1983), definen el control biológico como “la reducción de la densidad del inoculo 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, hospedante o antagonista, o por la introducción de una población de uno o más antagonistas”. Arcia (1995), señala que esta definición refleja que el Manejo Integrado de Poblaciones, es más que una acción específica dirigida a un sólo patógeno, como podría ser el uso de agroquímicos.

El elevado interés en el control biológico de patógenos de plantas, es respuesta en parte, al crecimiento de la preocupación pública sobre los plaguicidas de origen sintético; sin embargo, igualmente hay una gran necesidad del control biológico de patógenos que actualmente no se han controlado o se han controlado parcialmente (Cook, 1993; Ezziyyani *et al.*, 2007).

Cozzi y Gazoni (1995), indican que aunque se conocen las interrelaciones de organismos biocontroladores con diferentes hospedantes y patógenos, su aplicación como biofungicidas es reciente y aún no esta

completamente implementada, debido entre otros factores a que se requiere la selección de un aislamiento "intrínsecamente antagónico" así como de su producción y formulación en grandes cantidades y a bajo costo que garantice su supervivencia en el suelo o en la semilla. Pineda y Tortolero (1995), señalan que las inconsistencias encontradas en el control biológico de patógenos con antagonistas potenciales, se deben a que el control es un proceso a largo plazo que se tiene que implementar con el manejo habitual del cultivo. Sin embargo, debido a varios factores ambientales, la mayoría de los hongos antagonistas no muestran efectos consistentes de biocontrol, por lo tanto es necesario reducir la variabilidad y garantizar su persistencia en el campo para convertir a los hongos biocontroladores en una alternativa atractiva al uso de plaguicidas agrícolas (Harman, 2000).

Para introducir antagonistas al medio, las consideraciones de importancia son: a) La viabilidad, formulación y concentración del antagonista; b) Las clases de coadyuvantes usados; c) La eficacia y el tiempo de aplicación; d) Las condiciones de microclima durante y después de la aplicación y e) El costo del producto (Suton y Peng, 1993; Ezziyyani *et al.*, 2004).

2.2. Biocontrol por medio de *Trichoderma* spp.

El biocontrol actualmente ocupa un lugar importante dentro de las prácticas de manejo de enfermedades de las plantas causadas por los fitopatógenos del suelo, principalmente de los géneros *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium*, *Phytophthora* y *Fusarium* entre otros. Las especies de *Trichoderma* poseen posibilidades como hiperparásitos competitivos, los cuales 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.*, 1985; Acevedo y Arcia, 1988; Berg *et al.*, 2005).

Harman y Shoresh (2007), mencionan que *Trichoderma* spp tiene diversas ventajas como agente de control biológico, pues posee un rápido crecimiento y desarrollo, además produce una gran cantidad de enzimas, inductibles ante la presencia de hongos fitopatógenos. Puede desarrollarse en una amplia gama de sustratos, lo cual facilita su producción masiva para uso en la agricultura. Tiene tolerancia a condiciones ambientales y al hábitat donde los hongos causan las enfermedades; puede sobrevivir en medios con contenidos significativos de plaguicidas y otros químicos. Además, por su gran variabilidad se convierte en un reservorio de posibilidades de control biológico bajo diferentes sistemas de producción y cultivos (Avendaño *et al.*, 2006).

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* que fueron seleccionados "*in vitro*" por su elevada capacidad hiperparasítica y posteriormente utilizados en forma de formulaciones comerciales para combatir *Phytophthora nicotianae*, *P. capsici*, *R. solani* y otros fitopatógenos en condiciones de campo, sin embargo la consistencia de las cepas en el suelo fue inestable, por lo que surgió la obtención y utilización de cepas nativas (Akköprü, 2005; Adams, 1990).

2.3. Descripción del hongo

2.3.1. Hábitat

Trichoderma es un deuteromiceto anaeróbico facultativo que se encuentra naturalmente en suelos agrícolas en todo el mundo. Se presenta de forma natural en diferente hábitat, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica en descomposición, así mismo, en residuos de cultivos especialmente en aquellos que son atacados por otros hongos. Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de altas densidades de raíces, las cuales coloniza rápidamente, algunas cepas son componentes importantes de la rizosfera (McAllister *et al.*, 1994; Harman, 2001; Harman, 2006).

2.3.2. Clasificación (Kendrick y Carmichael. 1973).

Anamórfo:		Teleomórfo:	
Reino:	Hongos	Reino:	Hongos
División:	Eumycota	División:	Eumycota
Subdivisión:	Deuteromycotina	Subdivisión:	Ascomycotina
Clase:	Deuteromicetes	Clase:	Pyrenomycetes
Orden:	Moniliales	Familia:	Hypocreacea
Familia:	Moniliaceae	Género:	<i>Hypocrea</i>
Género:	<i>Trichoderma</i>		

2.3.3. Fase anamófica

El género *Trichoderma* está en el ambiente y especialmente en el suelo. Se ha utilizado en aplicaciones comerciales para la producción de enzimas y para la regulación de los fitopatógenos que enferman las plantas. Se encuentra en suelos ricos en materia orgánica y por su relación con ella se clasifican en el grupo hongos hipogeos, lignolícolas y depredadores. Es aeróbico y pueden encontrarse en suelos con pH neutro a ácido. El género agrupa 33 especies,

siendo las principales: *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* y *T. atroviride*. El hongo se identifica por las ramificaciones de micelio que le dan la apariencia de una mota de color verde que produce esporas o conidias y clamidosporas; estas últimas son estructuras de sobrevivencia que toleran condiciones ambientales adversas y pueden perdurar a través del tiempo (Papavizas, 1985; Esposito y Da-Silva, 1998; Harman, 2001).

Los aislados del hongo en medio artificial, toman un color verde brillante debido a los conglomerados de conidias que se forman en las puntas de las hifas; sin embargo, también pueden ser de color blanco o amarillo (Hermosa *et al.*, 2000).

Existen cepas de rápido desarrollo, que cubren el medio de cultivo contenido en cajas petri de 90 mm en 4 días. Las colonias de *Trichoderma* al principio son blancas y algodonosas; cuando se desarrollan bajo condiciones de luz alterna, aparecen unas bandas, alternando una banda delgada e incolora con otra banda ancha de un color verde oscuro alternada con una banda clara o blanquecina (Harman, 2006).

Cuando se desarrolla bajo condiciones de luz continua, las colonias son de color verde oscuro (Windham *et al.*, 1986). Las clamidosporas son de cinco a diez veces más grandes que las conidias, por sus grandes reservas de lípidos (Cohen *et al.*, 1983); son terminales de forma cilíndrica a globosa (Windham *et al.*, 1986); por su naturaleza, representan la forma de propagación más efectiva (Bautista y Acevedo, 1993).

2.3.4. Fase teleomórfica

Su fase perfecta (estado teleomórfo) lo ubica en la Clase Ascomycetes, Serie Pyrenomycetes, Orden Hipocreales, Género *Hypocrea*. Tiene como sinónimos el género *Tolypocladium*; no se conoce mucho de ésta fase, aunque en Puerto Rico y Estados Unidos, en estudios de laboratorio se ha identificado la fase sexual de *Trichoderma*, la cual corresponde a *Hypocrea perenoidea*. El telomórfo conocido de *Trichoderma*, como ya se mencionó es *Hypocrea* y muchas de las especies de *Hypocrea* producen el anamórfo típico *Trichoderma* en cultivo (Bissett, 1991).

2.3.5. Requerimientos de temperatura

La temperatura de crecimiento óptima es de 25°C, si bien el rango de crecimiento oscila entre 15 y 35°C. Por debajo o encima de esta temperatura, *Trichoderma* sp. se caracteriza por producir formas de resistencia. En un estudio de caracterización fisiológica se concluyó que la temperatura óptimas para el crecimiento de *Trichoderma* fue de 25 a 30°C (Cardona y Rodríguez, 2006). Se ha señalado que la temperatura óptima para *T. harzianum* es de 20°C; pero tolera hasta 38 °C, para *T. koningii* la temperatura máxima varía de 32 a 35°C; para *T. hamatum* de 30 a 35°C; para *T. viridi* y *T. Polysporun*, entre 28 y 31°C y crece mucho mejor que las otras especies a 7°C. Las especies que toleran temperaturas más altas son *T. pseudokoningii* y *T. saturnisporum*, de 40 a 41°C (Danielson y Davey, 1973; Knudsen y Bin, 1990; Harman *et al.*, 2004).

2.3.6. Requerimientos nutricionales

Morfológicamente *Trichoderma* es un hongo que posee estructuras del tipo de conidias hialinas uniceluladas, ovoide en conidióforo hialino largo no verticilado, nace en centros pequeños. Tiene la capacidad de producir clamidosporas en sustratos naturales, estructuras de vital importancia para la sobrevivencia del género en el suelo bajo condiciones adversas. Es saprofito del suelo y de la madera y el crecimiento en el suelo es muy rápido.

La alta presencia de humedad y el riego mejora las condiciones de vida de muchos microorganismos entre ellos *Trichoderma*, pasando de un estado latente a uno activo y desarrollándose óptimamente en un 60 % de capacidad del suelo con retención de humedad. A porcentajes mayores de saturación se disminuye la colonización y sobrevivencia por la baja disponibilidad de oxígeno. El desarrollo es favorecido por condiciones de pH ácido donde su población se incrementa por una mayor formación de conidióforos, por la germinación de conidias y por menor competencia con microorganismos como actinomicetos y bacterias que se encuentran limitados por la acidez. En suelos con temperatura que oscilan entre los 10 ° y 15° c y baja disponibilidad de nutrientes esenciales no crece y se afecta la actividad benéfica. *Trichoderma* es un hongo que consume otros hongos, materia orgánica y nutrimentos de los exudados radicales. Las especies de *Trichoderma* son muy versátiles en la utilización de sustratos como fuente de carbono y nitrógeno, lo cual les permite colonizar un medio rápidamente, evitando la proliferación de otros microorganismos en el mismo hábitat (Hjeljord y Tronsmo, 1998). Además, poseen la capacidad de aprovechar eficientemente los nutrimentos limitantes que pueda haber en el

entorno al poseer transportadores de alta afinidad (Delgado-Jarana *et al.*, 2003). El hierro en estado soluble, cuya concentración en el suelo se encuentra por debajo de 10^{-8} M a pH neutro, es uno de los factores que establecen una dura competencia (Handelsman y Stabb, 1996; Chet e Inbar, 1994).

Las especies de *Trichoderma* se desarrollan mejor en medios donde está presente la L-alanina, ácido L-aspartico, L-glutamático y casamino, así como fuentes de nitrógeno comparada con materia orgánica. El desarrollo sobre NH_4^+ fue consistentemente superior al desarrollo sobre NO_3^+ ; algunos aislamientos de *T. hamatum* y *T. koningii* fueron incapaces de usar NO_3^+ . Las mejores fuentes de carbón son 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; Harman, 2006).

Knudsen y Bin (1990), determinaron que el crecimiento micelial es independiente de la cantidad de alimento y directamente proporcional a su densidad.

El contenido en nitrógeno en suelo es un factor limitante, siendo la dosis adecuada para su desarrollo 100 mg de N por kg. de suelo, pudiendo sobrevivir en concentraciones menores. La forma en que se asimila el nitrógeno es en forma orgánica, aunque también tolera la forma mineral como es la amoniacal, no tolerando la presencia de nitrógeno nítrico. El contenido en fósforo varía según la especie, el promedio es de 2 mg P por kg. de suelo. Este microorganismo tiene la capacidad de asimilar nitrógeno mineral en forma de fosfato, si bien también puede mineralizarlo de formas orgánicas, facilitando la

absorción por parte de la planta. El contenido en micro nutrientes y oligoelementos son necesarios para el crecimiento de *Trichoderma* sp. y no necesita de aportes adicionales pues estos se encuentran suficientemente representados en el suelo. La cantidad de nutrimentos influye en el grosor del micelio, pero no en el crecimiento (Harman, 2000).

2.4. Características ecológicas de *Trichoderma*

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

Una de las características más interesantes de las cepas de *Trichoderma* es que tienen una capacidad metabólica muy diversa. Las especies de este género son capaces de transformar una amplia variedad de materia orgánica mediante la producción de gran cantidad de enzimas extracelulares que degradan distintos tipos de polímeros, entre ellos polisacáridos como la celulosa, la quitina, la laminarina, la pectina, el almidón y el xilano. Esto lo

convierte, en un microorganismo de gran interés biotecnológico (Espósito y da Silva, 1998).

Rara vez se ha asociado a *Trichoderma* con enfermedades de plantas, al contrario, se considera un organismo benéfico para las mismas. La promoción del crecimiento vegetal por parte de *Trichoderma* es un fenómeno que se ha observado en varios tipos de cultivos (Lindsey y Baker, 1967; Harman *et al.*, 1993). Este fenómeno se manifiesta como una potenciación de la germinación de las semillas, una floración más abundante y temprana e incremento de altura y peso de las plantas (Chet y Baker, 1981). En experimentos de invernadero se ha llegado a observar un incremento de la producción hasta de un 300%. Sin embargo, los mecanismos mediante los cuales se produce este efecto permanecen aún sin identificar. Uno de ellos podría ser la capacidad de *Trichoderma* para solubilizar metales, como el zinc, el manganeso, el hierro o el cobre, convirtiéndolos así en nutrimentos asimilables por las plantas (Harman y Shores, 2007). Otro efecto indirecto podría ser la eliminación de la rizosfera de patógenos de menor incidencia, como es el caso de *Pythium*, sin los cuales las plantas alcanzarían su máximo potencial de desarrollo (Harman *et al.*, 2004). Aún así, en experimentos de laboratorio en los que sólo están presentes *Trichoderma* y la planta a ensayar, también se produce el estímulo del crecimiento. Existen evidencias de que hay factores difusibles, aún no identificados, que intervienen en el desencadenamiento de la respuesta de la planta, dado que experimentos en los que los dos organismos, planta y hongo, se separan mediante una membrana de celofán dan resultados similares (Windham *et al.*, 1986). Una hipótesis más reciente propone que *Trichoderma*

es capaz de limitar e incluso revertir el efecto del daño en la raíz causado por *R. solani* (Björkman *et al.*, 1998).

2.5. Mecanismos de control biológico de *Trichoderma*

El mejoramiento de los agentes de control biológico, pasa por el conocimiento de sus mecanismos de acción. *Trichoderma* es el antagonista en el que más se ha estudiado este fenómeno. Los mecanismos generales de control biológico que *Trichoderma* emplea pueden dividirse según su efecto en directo o indirecto. Los de efecto directo incluyen la inactivación de las enzimas del patógeno, la competencia por el espacio y los nutrientes, la secreción de metabolitos secundarios con efecto antibiótico y el ataque directo al fitopatógenos o micoparasitismo. Además, indirectamente, *Trichoderma* es capaz de proteger a la planta del patógeno mediante la inducción de sus sistemas de defensa (Whipps y Lumsden, 1991).

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

La resistencia inducida, que puede ser localizada o sistémica, se traduce en una respuesta mayor y más rápida de los mecanismos de defensa de la planta ante el ataque de un patógeno. Esta respuesta incluye la secreción de enzimas como proteasas, peroxidasas, glucanasas y quitinasas y finalmente, la lignificación de las paredes celulares que rodean el lugar de infección para limitar la dispersión del patógeno (Harman, 2006).

Se ha observado que muchas cepas de *Trichoderma* son capaces de inducir resistencia sistémica en las plantas, ya que aplicadas en la rizosfera producen protección contra patógenos del suelo o foliares (Harman, 2006). Esta resistencia viene acompañada en muchos casos de un incremento de actividad de peroxidasa y quitinasa en zonas distantes de la raíz y de la síntesis en moléculas de la planta que intervienen en este tipo de respuesta, como es el ácido salicílico (McLean *et al.*, 2005).

Las moléculas implicadas en el desarrollo de la resistencia sistémica, parecen ser las enzimas hidrolíticas que secreta *Trichoderma*. La producción de xilanasas y celulasas por *Trichoderma* se ha relacionado en muchos casos con la síntesis de etileno en las plantas, otra de las hormonas implicada en la respuesta sistémica (Wan *et al.*, 2002). La acción de estas enzimas sobre la pared vegetal (celulosa, pectina, xilanos) o la pared celular de los hongos circundantes (quitina, glucanos, proteínas) puede dar lugar a la liberación de moléculas que sirven como inductores del sistema de defensa vegetal. Sin embargo, se ha comprobado que las enzimas hidrolíticas pueden servir como inductores, directos, independientemente de su actividad (Duffy *et al.*, 2003).

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

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

2.5.2. Inactivación de los sistemas de ataque del patógeno

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

2.6. Competencia por los nutrimentos y el espacio

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

En otros casos, el rápido desarrollo y colonización de *Trichoderma* de las zonas adecuadas para la infección, como áreas de necrosis, heridas o partes concretas de la planta, impiden físicamente el acceso y establecimiento del patógeno en su hospedante. Por ejemplo, el recubrimiento de los capuchones florales de la vid por *Trichoderma* protege contra la infección posterior de la uva por *B. cinerea* (Harman *et al.*, 1993). También se ha observado la colonización de heridas recientes en raíces de pepino por *T. harzianum* (Thrane *et al.*, 1997) y se sabe que este mecanismo impide la infección de las raíces de eucalipto por *Armillaria luteobubalina* (Nelson *et al.*, 1995).

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

Hongos como *R. solani*, *F. oxysporum*, *V. dahliae*, *P. omnivora*, *Pythium*, *M. phaseolina* etc, los cuales ocasionan fallas tanto en las siembras como en los trasplantes de hortalizas y en cultivos establecidos como algodónero y alfalfares principalmente y en huertas de nogal; conlleva a pérdidas económicas considerables que van de un 10 a un 30% del valor total de la cosecha (Harman y Shoresh, 2007).

Aun cuando existen productos comerciales con cepas de *Trichoderma* estos presentan dificultades con su persistencia en el suelo. Por esta razón se considera importante la obtención de aislamientos nativos, mejor adaptados a

las condiciones edafoclimáticas de la zona específica donde serán aplicados (González *et al.*, 1999).

De acuerdo a la información generada a través de los años sobre el modo en que *Trichoderma* puede actuar dentro del control biológico de *R. solani*, se encuentran resultados descritos por Reis *et al.*, (2007), de colonización y producción de enzimas hidrolíticas que secretan las especies de *Trichoderma* para protección de semilla y plántulas.

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

2.7. Antibiosis

Algunas especies de *Trichoderma* producen antibióticos; los principales han sido descritos a través de los años, la producción de estos metabolitos, como se consideraba, era un mecanismo primario de biocontrol. La literatura está repleta de documentos que hablan de la selección de cepas para biocontrol de acuerdo a experimentos basados en pruebas *in vitro* de cultivos duales de *Trichoderma* contra otros patógenos (Harman y Shoresh, 2007).

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

Los metabolitos con actividad antifúngica excretados por *Trichoderma* constituyen un grupo de compuestos volátiles y no volátiles muy diverso en cuanto a estructura y función. Normalmente una misma cepa de *Trichoderma* produce a la vez distintos compuestos antibióticos, lo cual reduce el riesgo de aparición de hongos resistentes. La importancia de la antibiosis en el antagonismo es específica de cada interacción. Así, mientras que para la supresión de *Pythium* por *Trichoderma* es imprescindible la producción de gliotoxina (Howell y Stipanovic, 1995), en el caso de *R. solani* la presencia de este compuesto no es importante. De la misma manera, varios de estos compuestos han sido relacionados con la capacidad antagonista de *Trichoderma*, pero ninguno se ha definido como único responsable de la misma. Probablemente, la antibiosis sea un mecanismo más de los que componen el complejo sistema de antagonismo (Ridout *et al.*, 1986; Wilhite *et al.*, 1994).

do Reis *et al* (2007) mencionan que las especies de *Trichoderma* producen enzimas hidrolíticas que son capaces de degradar la pared celular de los patógenos actuando de distinta manera entre fitopatógenos de diferentes especies; a su vez Innocenti *et al* (2003), mencionan que las especies de *Trichoderma* pueden operar de distinta manera dentro del micoparasitismo; debido a que este se da al colonizar el micelio a través de las hifas y en otras ocasiones empleando apresorios o ahustorios que penetran en las hifas de los hospederos.

Howell (2003) encontró que existen factores naturales que afectan la producción de enzimas y la condición o predisposición de ataque en que actúa *Trichoderma* cuando parasita a sus hospederos. Existen factores bióticos y

abióticos que influyen directa e indirectamente en el biocontrol de *Trichoderma* sobre hongos como *V. dahliae*, *F. oxysporum* y otros fitopatógenos del suelo dentro de los cuales podemos mencionar: el desarrollo o ciclo biológico en el que se encuentra el patógeno, el cultivo establecido, etapa fisiológica de la planta, calidad del suelo, la humedad, pH del suelo, la temperatura y nutrición mineral, prácticas culturales y fitosanitarias así como la ubicación geográfica (Garbeva *et al.*, 2004; Sessitsch *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2003; Graner *et al.*, 2003; Heuer *et al.*, 2002; Krechel *et al.*, 2002 y Reiter *et al.*, 2002).

El descubrimiento de algunas cepas agresivas de *Trichoderma* spp utilizadas como agentes de biocontrol que son capaces de producir ya sea antibióticos o enzimas extracelulares, o de ambos, ha proporcionado información crucial en la comprensión de los mecanismos relacionados con el parasitismo (Harman *et al.*, 2004). Una cepa de *Gliocladium virens*, similar al hongo *Trichoderma* spp., que inhibió el crecimiento de *Pythium ultimum*, produce el antibiótico, glioviridin, en cultivo (Howell, 2003). Un gran número de antibióticos (por ejemplo, péptidos, cíclico polipéptidos) son producidos por especies de *Trichoderma*, algunos de los cuales se han caracterizado; Lifshitz *et al.* (1985), demostraron que la producción de antibióticos localizados por *Trichoderma* fue probablemente el único mecanismo de acción lo suficientemente rápido para prevenir la infección de semillas en chícharo causada por *Pythium* spp. La especie de *T. harzianum*, se ha considerado como un buen antagonista por la producción de algunos antibióticos (Chet y Baker, 1981).

2.8. Micoparasitismo

El micoparasitismo es la capacidad de *Trichoderma* spp., u otros hongos, a parasitar directamente sobre otros patógenos filamentosos, como otros hongos u oomycetes. Esta respuesta fue observada por Weindling hace más de 70 años y ha sido un área de interés desde entonces. El micoparasitismo consiste en un ataque directo de un hongo a otro, y conlleva a la destrucción de alguna de las estructuras del hospedante (micelio, esporas, esclerocios), con el consiguiente aprovechamiento de sus componentes como fuente de nutrimentos (Harman y Shoresh, 2007).

Dentro de los hongos micoparásitos suceden dos tipos de comportamiento: el parasitismo necrotrófico, en el que el parásito mata a las células del hospedante antes o inmediatamente después de la invasión para la utilización de los nutrimentos liberados y el parasitismo biotrófico, en el que el parásito obtiene los compuestos que le servirán de nutrimentos a partir de las células vivas. Los del primer tipo son muy agresivos y suelen tener un amplio espectro de hospederos; los segundos, sin embargo tienen un espectro más restringido y un mecanismo de acción más específico que consiste en la emisión de estructuras especializadas para la absorción de nutrimentos. El género *Trichoderma* incluye varias especies micoparásitas, especialmente *T. harzianum* y *T. viride*, que pertenecen a la primera clase (Harman, 2006).

El micoparasitismo de hongos fitopatógenos por otros hongos ha sido reportado con frecuencia en estudios *in vitro*. Se ha reportado que *Trichoderma hamatum* produce hifas que cuando entra en contacto con los hospederos lo hace a través de ahustorios y estructuras que facilitan la penetración. Del

mismo modo, *T. harzianum* enrolla en espiral la hifas de *Rhizoctonia solani* causándole severo daño incluyendo colonización alrededor del patógeno, penetración y disolución subsiguiente del citoplasma del hospedero (Howell, 2003).

El proceso de micoparasitismo ejercido por *Trichoderma* se produce en varias etapas sucesivas. Comienza por el crecimiento quimiotrófico de *Trichoderma* hacia el hospedante estimulado por moléculas procedentes del mismo, de naturaleza desconocida. Las únicas que se han detectado hasta ahora parecen ser aminoácidos y azúcares, por lo que no es factible esperar que la inducción sea específica del hospedante (Chet *et al.*, 1981). Cuando *Trichoderma* entra en contacto con el hospedante debe producirse un reconocimiento de éste que desencadena las etapas siguientes. Parece que el proceso de reconocimiento está mediado por interacciones entre las lectinas y los carbohidratos presentes en las paredes tanto de *Trichoderma* como de los hongos a los que se enfrenta (Duffy *et al.*, 2003). Una prueba de ello es que cuando se incuba *R. solani* con fucosa o galactosa, azúcares que bloquean determinadas glicoproteínas, el efecto de *T. harzianum* resulta inhibido (Elad *et al.*, 1984). Además se han identificado otras lectinas de *Sclerotium rolfsii* capaces de unirse sólo a las cepas de *Trichoderma* que parasitan a este hongo (Chet, 1990). Una de estas lectinas ha sido purificada y unida covalentemente a una fibra de nylon, provocando el enrollamiento de *Trichoderma* a su alrededor (Inbar y Chet, 1992, 1994).

Tras el reconocimiento se produce un enrollamiento de *Trichoderma* alrededor de las hifas del hospedante formando estructuras con forma de garfio

o parecidas a apresorios (Elad *et al.*, 1984; Inbar *et al.*, 1994). Por último *Trichoderma* secreta enzimas hidrolíticas, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan la pared celular del hospedante (Elad *et al.*, 1980; Benhamou y Chet, 1993), con la consiguiente asimilación de los componentes de la pared y del contenido celular del mismo (Elad *et al.*, 1984).

Elad *et al.* (1980), mediante la técnica de cultivos duales (patógeno antagonista) de *Trichoderma harzianum* o *T. hamatum* con *Rhizoctonia solani* o *Sclerotium rolfsii*, encontraron micoparasitismo, indicando además el crecimiento del antagonista directamente hacia el patógeno. *T. hamatum* y *T. pseudokoningii* inhibieron el crecimiento de *Phytophthora* spp., aparentemente por antagonismo directo con menor inhibición por antibiosis contra *P. cactorum* en manzano.

do Reis *et al.*, (2007) reportaron que el primer contacto físico aparente entre la *T. harzianum* y *R. solani*, se produjo dentro de 2-3 días después de la inoculación, seguido de inhibición del crecimiento. Resultados similares se han encontrado para *T. harzianum* contra *Crinipellis Perniciosa* (De Marco *et al.*, 2000), *Sclerotium rolfsii* (El-Katany *et al.*, 2001) y *Rhizoctonia cerealis* (Innocenti *et al.*, 2003).

En Informes reportados acerca del parasitismo por *Trichoderma* spp., se ha encontrado que, en las interacciones de *Aspergillus flavus*-*Trichoderma* spp. y *Fusarium moniliforme*-*Trichoderma* spp., la competencia puede desempeñar un rol importante en las interacciones de hongos y puede ocurrir como un fenómeno independiente ó en combinación con otros mecanismos (do Reis *et al.*, 2007).

Son numerosos los estudios sobre la producción de antibióticos por microorganismos y el rol que estos juegan en el biocontrol de patógenos de las plantas como bacterias y hongos (Raaijmakers *et al.*, 2002; Whipps, 2001). Para muchos de estos antibióticos se ha determinado la actividad y estructura química, pero sorpresivamente el modo de acción se desconoce. Estudios minuciosos han demostrado la variación en la sensibilidad o susceptibilidad de hongos patogénicos por el antagonista proporcionando herramientas útiles para una comprensión mas clara sobre el control biológico empleando antagonistas que sean capaces de producir antibióticos (Duffy *et al.*, 2003).

2.9. Importancia de los hongos fitopatógenos evaluados en este estudio

Los patógenos como *R. solani*, *F. oxysporum*, *V. dahliae* y *P. omnivora* son los fitopatógenos más importantes de la Comarca Lagunera y que se encuentra ampliamente distribuidos en los suelos, los cuales representan un problema severo para cultivos como el algodónero, forrajeros y para algunas hortalizas; radicando allí la importancia de encontrar cepas nativas efectivas de *Trichoderma* capaces de ejercer una acción antagónica y micoparasítica que disminuyan el daño causado por estos patógenos. De acuerdo a investigaciones realizadas por Berg *et al.*, (2005) recolectaron especies de *Trichoderma* durante dos años, las cuales se probaron en campo durante un periodo de 3 años consecutivos; obtuvieron datos donde la mayoría de las cepas biocontroladoras ejercieron una alta actividad antagónica con *Verticillium*

dahliae en la rizosfera, en plantas de fresa, uva y papa. Sin embargo no encontraron diferencias significativas entre las cepas empleadas.

Berg *et al.*, (2005) encontraron mas de 4,320 aislados capaces de suprimir a *V. dahliae* en ensayos de cultivos duales *In vitro*. El antagonismo fue observado de dos formas: la primera por la detección de limpieza en las zonas donde crecía el micelio de *V. dahliae* y la segunda por hiperparasitismo resultando la destrucción y disolución del micelio y los microesclerocios de *Verticillium*. Resultados que concuerdan con los datos obtenidos en este estudio donde el micelio de *V. dahliae* fue reducido del porcentaje original de crecimiento que presentaba, hasta en un 50% de para algunas de las cepas de *Trichoderma* que se evaluaron.

En investigaciones realizadas por Berg *et al.*, (2000) menciona que cada especie de plantas es colonizada por organismos autóctonos como bacterias y hongos, pero también es posible utilizar organismos potenciales antagonistas los cuales pueden introducirse con los organismos autóctonos y así ejercer un mejor control biológico en hongos como *Verticillium dahliae*. *Trichoderma* es uno de los organismos que ejercen antagonismo de forma natural interfiriendo con el desarrollo del patógeno, sobrevivencia y en ataque a las plantas (Berg *et al.*, 2005).

Existen otros estudios sobre el control de *V. dahliae* los cuales involucran una diversidad geneática de especies de *Trichoderma* que ejercen una inhibición del fitopatógeno al secretar enzimas que protegen la rizosfera de las plantas y que predisponen a estas a activar mecanismos de defensa en contra de microorganismos dañinos (Tjamos *et al.*, 2004).

Whipps (2001) evaluaron aislados de distintos suelos y microambientes resultando los mejores ser los nativos de la región donde se aisló al patógeno mostrando niveles de disgregación del micelio.

Reportes por Samaniego-Gaxiola y Chew-Medinaveitia (2007), indican que la en La Laguna, *Phymatotrichopsis* y *Rhizoctonia* son hongos del suelo que atacan los cultivos de nogal y de alfalfa, respectivamente; aunque en el experimento realizado no fueron aislados en alfalfa, el primero es desfavorecido por el incremento de residuos de cosechas de cultivos agrícolas, mientras que el segundo tiene un comportamiento opuesto. Aun cuando *Trichoderma* no es típico de ecosistemas desérticos; no obstante, en la zona desértica de Arizona, EUA su presencia fue asociada con suelos cultivados con vid *Vitis vinifera* L. a la cual se le aplicaron fertilizantes ácidos durante 10 años (Olsen *et al.*, 1988). Los hongos típicos de el desierto Israelí, tiene menos de 250 mm de precipitación anual, son alrededor de 50 géneros que se caracterizan por micelios notoriamente oscuros (ricos en melaninas) y esporas de varias células (Grishkan *et al.*, 2006). En un trabajo previo efectuado en La Laguna se registran géneros de hongos del suelo que coinciden en un 80% con los encontrados en suelos desérticos de Israel incluyendo especies de *Trichoderma* (Samaniego *et al.*, 1988).

2. 10. Control de patógenos

La búsqueda de agentes de manejo para un efectivo biocontrol sobre las enfermedades de las plantas ha sido intensificada en los recientes años con el único objeto ecológicamente hablando de reducir la dependencia de las

aplicaciones de productos químicos (Harman 2000). Los mecanismos generales de control biológico que *Trichoderma* emplea pueden dividirse según su efecto en directo o indirecto. Los de efecto directo incluyen la inactivación de las enzimas del patógeno, la competencia por el espacio y los nutrientes, la secreción de metabolitos secundarios con efecto antibiótico y el ataque directo al fitopatógenos o micoparasitismo. Además, indirectamente, *Trichoderma* es capaz de proteger a la planta del patógeno mediante la inducción de sus sistemas de defensa (Whipps y Lumsden, 2001). *Trichoderma* participa en la biotransformación de celulosa (polímeros de glucosa de alto peso molecular), en la transformación de hemicelulosa (polisacarido que por hidrólisis libera hexosa y pentosa), en la mineralización del Nitrógeno (reacciones hidrolíticas) y de algunas proteínas presentes, en la degradación y en la descomposición de la lignina y el humus. Estos procesos biológicos favorecen el crecimiento de la planta, le ofrecen un mayor vigor germinativo a las semillas, un mejor desarrollo de la raíz y una mejor expresión fenotípica (Harman y Shoresh, 2007).

El principal beneficio de *Trichoderma* para la agricultura es el Antagonismo con microorganismos patógenos de las plantas por su capacidad para producir secreciones enzimáticas tóxicas extracelulares que causan desintegración y muerte en hongos fitopatógenos que habitan el suelo (micoparasitismo), en la degradación de paredes celulares de las hifas de hongos patogénicos (depredación), en la producción de químicos volátiles y antibióticos antifungales que inhiben hongos basidiomicetos, en la colonización directa del hongo por penetración hifal, en la competencia por oxígeno, nutrientes y espacio en el suelo y por su gran adaptabilidad y rápido

crecimiento. *Trichoderma* es capaz de limitar e incluso revertir el efecto del daño en la raíz causado por *R. solani* (Björkman *et al.*, 1998).

Cuadro 1. Algunos fitopatógenos controlados por *Trichoderma* spp.

Hongos fitopatógenos	Enfermedad	Cultivo
<i>Armillaria</i> spp	Pudrición de la raíz	Frutales
<i>Botrytis cinerea</i>	Moho gris	Amplio rango de cultivos: papa, tomate, frijol, fresa, mora, flores, tomate de árbol y causa pudriciones en poscosecha.
<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Antracnosis	Amplio rango de cultivos: arveja, papa, tomate, frijol, fresa, mora, flores, tomate de árbol y causa pudriciones en poscosecha.
<i>Cylindrocladium scoparium</i>	Pudrición de la raíz	Pino
<i>F. 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>M. phaseolina</i>	Pudrición carbonosa del tallo	Amplio rango de cultivos: maíz, frijol, melón, ajonjolí.
<i>P. 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, pudrición de la raíz.	Amplio rango de cultivos: zanahoria, tomate, chile, trigo etc.
<i>R. solani</i>	Complejo de enfermedades de la semilla y la plántula, pudrición de la raíz, de la corona, de la base del tallo, pudrición en la semilla, plántula, raíz y tallo.	Amplio rango de cultivos: zanahoria, tomate, chile, algodón, lechuga, repollo, café, papa, arveja, cebolla, ajo, pimienta, etc.
<i>S. sclerotiorum</i>	Pudrición radical	Amplio rango de cultivos: habichuela, tomate, chile, lechuga, repollo, café, papa, arveja, cebolla, ajo, pimienta, etc.
<i>Rosellinia</i> spp	Pudrición de raíz	Frutales: Aguacate y manzano.
<i>Verticillium</i> spp.	Marchitez vascular	Papa, algodón, tomate, chile.

(Chet, 1993; Chet e Inbar, 1994; Herrera y Carsolio, 1998; Stefanova *et al.*, 1999).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1. Muestreo del suelo para aislamiento de *Trichoderma* spp.

Se tomaron muestras de suelo en huertas de nogal en los municipios de San Pedro de las Colonias, Franciscos I. Madero, Torreón y Matamoros, Coah. Gómez Palacio y Lerdo Durango. Se muestrearon cultivos de Tomate, Chile. Sandía, Melón, Alfalfa, maíz, Sorgo, Algodón y nogal; la finalidad de este muestreo fue la obtención y aislamiento de cepas nativas de *Trichoderma* spp, en suelo a una profundidad de 0-30 cm, donde se retiró la capa superficial del suelo y se recolectó 1.0 kg de suelo para cada muestra, tomándose de diez a quince muestras de suelo por huerta; cada muestra se tomó de un árbol de nogal en particular, procediendo a etiquetar y otorgarles una clave para su control e identificación. Este muestreo se planteó de acuerdo a investigaciones realizadas por Harman *et al.* (2000) y Rivera-Cruz *et al.* (2002), ellos aislaron especies de *Trichoderma* en suelos cultivados con pasto, maíces, nogal y tomate; indicando que la profundidad de localización de este hongo biocontrolador se localiza entre los 0.05 y 0.30 m de profundidad.

3.2. Tratamiento de las muestras de suelo

El suelo recolectado se trasladó al laboratorio de Parasitología agrícola de la UAAAN-UL, el cual se secó a temperatura ambiente a la sombra por 72 horas, posteriormente se molió con un rodillo procediendo a tamizar cada una de las muestras obtenidas, las cuales fueron 180 muestras en total. A estas se

les realizó un análisis físico-químico, el cual incluyo pH, conductividad eléctrica, materia orgánica, textura del suelo, así como análisis de macro y micronutrientes, los cuales se determinaron a 120 de las muestras recolectadas, debido a que en algunas muestras del mismo suelo no se pudo aislar a *Trichoderma* y se redujo el número de ellas para analizarlas.

3.3. Aislamiento de *Trichoderma* spp

De cada una de las muestras se tomaron 10 submuestras de 50 mg, las cuales se sembraron directamente en medio de cultivo conteniendo: dextrosa 5g, peptona 1g, Extracto de levadura 2g, NH_4NO_3 1g, K_2HPO_4 1g, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.5g, propanato de sodio 1g y 20 g de Agar; al cual se le agregaron 50 mg de estreptomicina/L de agua para el control de bacterias (Samaniego, 2002; Brunner *et al.*, 2005). Las colonias de hongos que se desarrollaron en medio de cultivo para aislamiento de *Trichoderma* se transfirieron a cajas petri conteniendo medio de cultivo Papa-Dextrosa-Agar (PDA) para su purificación, se realizaron siembras de punta de hifa y de cultivos monospóricos a partir de diluciones en agua desionizada estéril, de las cuales se realizaron siembras de conidias en medio PDA (Santander *et al.*, 2003). Los aislados puros se transfirieron a tubos de ensaye conteniendo PDA y almacenándose en el refrigerador para su conservación hasta realizar extracción de ADN y ser caracterizados a través de la técnica de RAPD-PCR utilizando primers específicos para especies de *Trichoderma* (Welsh y McClelland, 1990; Williams *et al.*, 1990; Ulacio *et al.*, 2002).

3.4. Observación morfológica e identificación de los aislados

Para la observación de los aislados se realizó el crecimiento de colonias contenidas en el medio de cultivo PDA, en condiciones ambientales de 25° C y luz difusa, luego se hicieron observaciones microscópicas del crecimiento y desarrollo de los conidios y clamidosporas durante un periodo de siete a diez días; las estructuras encontradas se identificaron mediante características morfológicas y posteriormente se realizó una confirmación molecular de los aislados utilizando técnicas de Reacción en cadena de la polimerasa y Amplificación al azar del ADN polimórfico (PCR-RAPD) (Fujimori y Okuda, 1993; Zimand *et al.*, 1994; Arisan-Atac *et al.*, 1995; Turoczi *et al.*, 1996; Gomez *et al.*, 1997; Goes *et al.*, 2002).

3.5. Extracción de ADN

Los aislados obtenidos se desarrollaron en cajas petri conteniendo PDA durante cinco días a una temperatura de 25° C en ausencia de luz. Se tomaron 200 mg de tejido del hongo, macerando en nitrógeno líquido, se agregaron 400µl de buffer de lisis (Tris HCl 100 mM pH8, EDTA 50 mM pH8, NaCl 50mM, SDS 2%, β Mercaptoetanol .02%), reposando en hielo durante 10 minutos y en agitación durante 10 segundos; se agregaron 400 µl de cloroformo alcohol isoamílico 24:1 y empleando el vórtex durante cinco segundos; se centrifugó a 12,000 rpm durante 30 min; se extrajo la fase acuosa cristalina con una micropipeta y se depositó en nuevos tubos ependorff, colocando en hielo durante diez min; a éstos se les agregó el mismo volumen que se extrajo, se precipitaron con isopropanol y centrifugando a 12,000 rpm durante 15 min, se

decantó el sobrenadante y se depositaron los tubos en hielo; se agregó 1 ml de alcohol al 70% para lavar la pastilla, centrifugando a 12,000 durante diez min, decantando el sobrenadante y secando la pastilla a temperatura ambiente durante 15 min; la pastilla se suspendió en 50 μ l de agua desionizada estéril; posteriormente se limpió el ADN con RNasa 2 μ l por reacción e incubando a 37°C durante media hora; se le aplicó Proteína K, se agregó fenol cloroformo isoamílico 24:24:2; los tubos fueron centrifugados a 14,000 rpm durante 10 min, para extraer nuevamente la fase acuosa, precipitando con Etanol absoluto con dos veces el volumen extraído para centrifugar a 14,000 rpm durante 10 min decantando el sobrenadante y lavando nuevamente la pastilla dos veces con alcohol al 70%, centrifugando durante cinco min a 14,000 rpm y secando la pastilla a temperatura ambiente y suspendiéndola en 30 μ l de agua desionizada. Se corrió un gel de agarosa al 1% conteniendo 3 μ l bromuro de etidio en una cámara de electroforesis durante 50 minutos a 60 voltios visualizándose en el foto documentador UVP (marca: Biolumin systems, modelo: 7500) para comprobar la calidad del ADN extraído (Sivaramakrishnan *et al.*, 2002; Hermosa *et al.*, 2004).

3.6. Caracterización de las cepas de *Trichoderma*

La caracterización de las cepas de *Trichoderma*, se realizó por medio de los protocolos establecidos para la amplificación de PCR-RAPD (Cobb y Clarkson, 1994); se emplearon 100 ng de ADN, 0.5 U de Taq polimerasa (Bioselec) y 10 mM dNTPs, 25 mM MgCl₂ 10 mM buffer y 10 mM primers para un volumen 25 μ l por reacción en tubos ependorff (Mastercycler). Las

amplificaciones se realizaron en un termociclador Minicycler R.J. Research. La temperatura de desnaturalización empleada fue de 95° C por cinco min, 94° C por un min, temperatura de alineamiento 37° C un min, a 72° C por dos min durante 35 ciclos, la extensión dos min, a 72° C y a 4° C por 30 min en un solo ciclo hasta extraer los productos del termociclador. La amplificación de los productos se observó en un gel de agarosa al 2% teñido con 3 µl de bromuro de etidio y fotografiado con un fotodocumentador UVP (marca: Biolumin systems, modelo: 7500) Para las amplificaciones de RAPD, se secuenciaron cinco primers universales (Bioselect) OPA1–CAGGCCCTTC, OPA2–TGCCGAGCTG, OPA3–AGTCAGCCAC, OPA4–AATCGGGCTG, OPA9– CGGTAACGCC (Latha *et al.*, 2002).

3.7. Evaluación de *Trichoderma* spp *in vitro*

Las pruebas de antagonismo de *Trichoderma* sobre los fitopatógenos del suelo se realizaron *in vitro* en cajas petri con papa-dextrosa-agar (PDA), empleando la técnica de cultivos duales colocando en el centro de un hemisferio de la caja un disco de PDA de 1.0 cm de diámetro conteniendo *Trichoderma* de 72 horas de desarrollo y en el hemisferio opuesto, se hizo lo mismo con cada uno de los cuatro fitopatógenos que se evaluaron. Se emplearon 28 cepas de *Trichoderma* para cada patógeno utilizado; se uso un testigo que consistió en el crecimiento del patógeno sobre PDA únicamente, las cajas petri se incubaron a una temperatura de 25 °C. Se evaluó el crecimiento de *Trichoderma* por separado sobre cada uno de los siguientes patógenos *R. solani*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *V. dahliae* y *P. omnivora*. La toma de

datos fue realizada cada 24 hrs donde se registró el crecimiento de cada colonia (diámetro en %) tanto del biocontrolador como del patógeno y sus características morfológicas. La confrontación se realizó durante un período de nueve días; sin embargo al cuarto día fue inmovilizado el patógeno por la acción de la cepa de *Trichoderma* (Fernández-Larrea, 2001; Harman, 2001). Para determinar el porcentaje de antagonismo se empleó la formula de Avedaño *et al.* (2006):

$$\% \text{Antagonismo} = [(\text{Crecimiento del antagonista} - \text{crecimiento del patógeno}) / \text{crecimiento del testigo del patógeno}] * 100$$

Se uso un diseño completamente al azar con tres repeticiones, los datos registrados en porcentaje de antagonismo se transformaron con la formula de Arc. Sen \sqrt{X} para su análisis en el software Estadístico SAS versión 8.0 (SAS, 1990). De acuerdo a los datos obtenidos y a la significancia se realizó una comparación de medias entre los tratamientos con la diferencia mínima significativa (DMS).

3.8. Preparación del inóculo de *Trichoderma*

Para los tratamientos con *Trichoderma* se realizaron aislamientos a partir de una hifa para obtener cepas puras y cultivos monospóricos; posteriormente se tomaron muestras del micelio y realizaron diluciones en agua destilada estéril hasta obtener una suspensión de 10^9 conidias por ml de agua, de éstas se realizaron conteos de conidios (inóculo) en una cámara Neubauer, según Santander *et al.* (2003). Para la inoculación de la semilla, ésta se

sumergió durante 60 minutos en la suspensión preparada, la cual se depositó en tubos de ensaye con rosca y conteniendo 10 ml del inóculo de acuerdo a McLean *et al.* (2005). Esta semilla fue depositada en el medio de germinación en bandejas.

El inóculo de *Trichoderma* empleado en el experimento para la evaluación en plántulas de tomate contenía la misma concentración de la solución de 10^9 conidias por ml de agua de cada una de las cepas de *Trichoderma* empleadas en el experimento.

3.9. Aislamientos de los fitopatógenos

Los fitopatógenos *R. solani* y *F. oxysporum* se aislaron de hospedantes de tomate y papa, en tallos y hojas conteniendo los síntomas de la enfermedad, en raíces de nogal se aisló *P. omnivora* y de tallos necróticos de algodónero a *V. dahliae*. Se tomaron plantas con síntomas de la enfermedad de las cuales se recolectaron trozos de tejido, hojas y tallos que se colocaron asépticamente en cámara húmeda para promover el crecimiento del patógeno y poder aislarlo en medio de cultivo PDA, los cuales se incubaron a temperatura de 25°C para posteriormente guardarlos en el refrigerador hasta su uso (Hernández, 1987; Agrios, 1996).

3. 10. Preparación del inóculo de los patógenos empleados

Se creció micelio de *R. solani*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici*, *V. dahliae* y *P. omnivora* en cajas petri conteniendo PDA y sobre éste papel celofán estéril; a los 5 días se raspó el micelio y se depositó en un matraz con

agua destilada estéril; se tomó una alícuota y se midió la concentración del inóculo bajo cama de Neubauer, obteniéndose una concentración de 8×10^6 conidias por ml (Santander *et al.*, 2003) ajustándose a la concentración de *Trichoderma*.

3.11. Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sobre semilla establecida en bandejas

Se empleó semilla de tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) variedad Río Grande tipo saladette para la evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sobre los mismos patógenos empleados en la confrontación *in vitro*; se utilizó peat moss estéril como medio de soporte. La siembra se realizó el día 26 de junio de 2007 en bandejas de 200 cavidades. La aplicación del patógeno consistió en depositar 10 ml del inóculo por cavidad en las bandejas. Cada bandeja correspondió a la evaluación de un patógeno en particular y en cada una de ellas se evaluaron los tratamientos de 28 cepas de *Trichoderma*, con sus repeticiones utilizando un diseño completamente al azar. Adicional a la inoculación inicial de la semilla las cepas de *Trichoderma* se aplicaron nuevamente a los 10, 20 y 30 días después de la sembra, directamente sobre el sustrato de cada cavidad.

Como testigos se utilizaron un tratamiento con un fungicida comercial (PCNB) así como un tratamiento de aplicación del patógeno pero sin la inoculación de *Trichoderma*. Como testigo absoluto se usó la aplicación de agua destilada (Figura, 1). Para la evaluación de los tratamientos sobre semilla, se realizó un análisis no paramétrico empleando la prueba de Kruskal-Wallis,

donde se obtiene la X^2 para determinar si hay o no significancia en los tratamientos (Varese *et al.*, 2003).

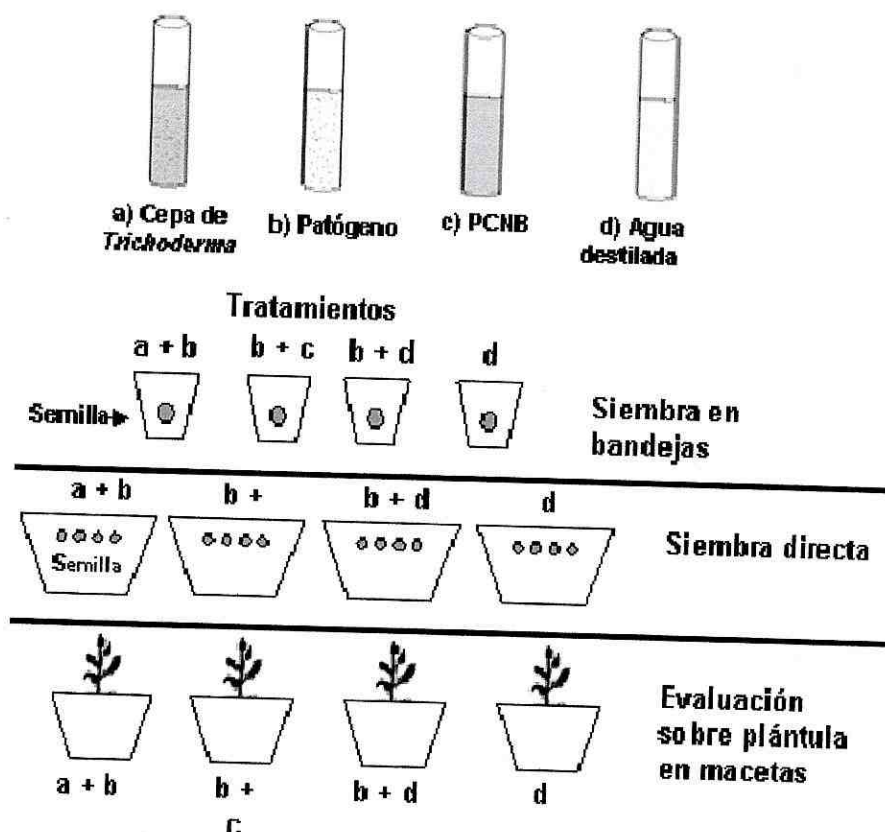


Figura 1. Tratamientos empleados en la evaluación del antagonismo de *Trichoderma* en las distintas pruebas.

3. 12. Evaluación de las cepas de *Trichoderma* sobre tomate sembrado en macetas

En este experimento se realizó una siembra directa de cuatro semillas de tomate variedad Río grande por contenedor de poliestireno de 0.50 kg de capacidad conteniendo como sustrato arena de río desinfectada con una solución de hipoclorito de sodio comercial del 25 % y lavada con agua estéril. Se efectuaron tres inoculaciones de 10 ml cada una llevándose a cabo al mismo

tiempo la aplicación del patógeno. La primera inoculación se realizó al momento de emerger la plántula (21 de julio de 2007), la segunda diez días después de la emergencia y a los 20 días después de la emergencia, la duración del experimento fue de 40 días. Los tratamientos empleados fueron los mismos ya descritos para la evaluación en bandejas, a excepción de que las semillas no fueron inoculadas con *Trichoderma* antes de la siembra (Figura 1).

Las variables evaluadas fueron, el número de semillas que no germinaron, número de plántulas con muerte preemergente, número de plántulas con muerte postemergente y número de plántulas viables. En estas últimas se determinó la longitud del vástago y de la raíz. Para la evaluación de los tratamientos sobre las primeras variables se realizó un análisis no paramétrico empleando la prueba de Kruskal-Wallis, donde se obtuvo la χ^2 determinando si hubo o no diferencias significativas entre los tratamientos (Varese *et al.*, 2003). Posteriormente para la evaluación de las variables en plantas viables se usó un diseño completamente al azar con arreglo factorial con tres repeticiones realizándose una comparación de medias utilizando la prueba de Fisher de diferencia mínima significativa (DMS) en el programa estadístico SAS, (1990).

3.13. Evaluación de las cepas de *Trichoderma* sobre tomate trasplantado en macetas

Se trasplantaron 2 plántulas de tomate variedad Río grande con edad de 28 días después de la siembra en bolsas de polietileno negro de 5 kg de capacidad, conteniendo como sustrato arena de río desinfectada con una solución de hipoclorito de sodio comercial del 25 % y lavada con agua estéril.

Se efectuaron tres inoculaciones una directa sumergiendo el cepellón en la solución de *Trichoderma* al momento del trasplante y dos al suelo con un intervalo de diez días entre cada inoculación. Los tratamientos fueron los descritos anteriormente.

Las variables evaluadas fueron el número de plántulas muertas y vivas; en esta última se evaluó a longitud del vástago y de la raíz, empleándose el mismo criterio de evaluación que en el experimento anterior.

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Muestreo del suelo para aislamiento de *Trichoderma* spp

De las 180 muestras de suelo, provenientes del muestreo de suelo en los distintos cultivos, no se pudo aislar a *Trichoderma* cuando se procedió a sembrar el suelo en el medio, debido a que en los cultivos de tomate, chile, sandía, melón, alfalfa, maíz, algodón y sorgo no se encontraron cepas nativas del biocontrolador; sin embargo en la mayoría de las muestras de suelo obtenidas en las huertas de nogal, se encontraron especies del hongo biocontrolador, obteniéndose 257 aislados.

El análisis de suelo se realizó para determinar la textura, conductividad eléctrica, potencial hidrógeno, materia orgánica, micro y macro nutrientes, los cuales incluyeron N, P, K, S, Cu, determinando que en la mayoría de los suelos con pH de 5.5 a 7.5 y textura arcillosa, se pudo aislar con mayor facilidad a *Trichoderma* resultados que concuerdan con las investigaciones realizadas por Berg *et al.* (2005), y en los suelos con pH arriba de 8.0 con una consistencia franco-arcillosa se lograron aislar pocas cepas del hongo, llegando a la conclusión que éste hongo biocontrolador se desarrolla mejor en suelos ácidos, resultados concluyentes en otras investigaciones realizadas (Castle *et al.*, 1998; Harman, 2001; Samaniego *et al.*, 2000; Ulacio *et al.*, 2002).

En el Cuadro 2 se muestran los sitios muestreados en La comarca Lagunera donde no se aislaron cepas nativas de *Trichoderma*, que pertenecen a cultivos anuales principalmente, incluyendo algunos cultivos perennes como alfalfa, sin embargo es importante mencionar que *Trichoderma* no es un hongo

nativo de la Región por lo que se pudo haber introducido a través de material vegetativo, principalmente en plantas de nogales debido a que no se encuentra en todas las áreas de cultivo, sin embargo en la mayoría de las huertas que se muestrearon se pudo aislar. Se piensa que es un hongo introducido y que este proceso, ha llevado un largo periodo de adaptación a las condiciones extremosas de temperatura y sequía que presenta la Comarca Lagunera.

Cuadro 2. Suelos muestreados en La comarca Lagunera de Coahuila donde no se encontraron especies de *Trichoderma*. UAAAN-UL. Torreón, Coah., 2005-2006.

Municipio	Sitio	Cultivo	No. De Muestra
San Pedro, Coah.	Bolívar	Algodón	31
	Frontera	Tomate	115
	La Antena	Algodón	99
	La Estrella	Algodón	19
	San Miguel 1	Tomate	32
	San Miguel 2	Sandía	100
Matamoros Coah.	Autopista Matamoros-Saltillo	Melón	35
	Matamoros 1	Alfalfa	36
	Matamoros 2	Sorgo	67
	Matamoros 3	Maíz	18
	Matamoros 4	Melón	102

Las especies de *Trichoderma* encontradas en la Comarca Lagunera son cepas que se lograron adaptar a las condiciones ambientales desfavorables así como a los requerimientos nutricionales que presentaba el hongo, hechos que concuerdan con investigaciones realizadas por Harman (2006) y Villegas (2005), donde menciona que *Trichoderma* es uno de los Deuteromicetes de mayor adaptabilidad bajo condiciones adversas de estrés, sequía, pH alcalino y tienen la capacidad para producir secreciones enzimáticas tóxicas

extracelulares causando desintegración y muerte en hongos fitopatógenos; a su vez producen químicos volátiles y antibióticos antifungales que inhiben hongos basidiomicetos.

4.2. Aislamiento de *Trichoderma* spp

Se obtuvieron 180 muestras de suelo, de los cuales a 120 suelos muestreados, se les realizó un análisis físico-químico de suelo incluyendo macro y micro nutrientes; determinando que en la mayoría de los suelos con pH de 5.5 a 7.5 y textura arcillosa, se aisló con mayor facilidad a *Trichoderma*, resultados que concuerdan con las investigaciones realizadas por Berg *et al.* (2005), en suelos con pH superior a 8.0 con una consistencia franco-arcillosa se aislaron pocas cepas del hongo, concluyendo que este hongo biocontrolador se desarrolla mejor en suelos ácidos, resultados que concuerdan con los obtenidos en otras investigaciones (Samaniego-Gaxiola *et al.*, 2002; Ulacio *et al.*, 2002; Harman, 2001; Castle *et al.*, 1998).

Trichoderma es el agente de control biológico mas estudiado y evaluado debido a su ubicuidad, facilidad de aislamiento y cultivo rápido crecimiento en muchos sustratos, encontrándose distribuido por el mundo, y se presenta naturalmente en diferentes hábitats, especialmente los que contienen una buena cantidad de materia orgánica o desechos vegetales en descomposición, así mismo en residuos de cultivos especialmente en aquellos que son atacados por otros hongos. Su desarrollo se ve favorecido por la presencia de altas densidades de raíces, las cuales, son colonizadas rápidamente por estos microorganismos controlando un amplio rango de patógenos, debido a la acción

como micoparásito y alta competencia por alimento y espacio, (Harman 2006; Wells *et al.*, 1972).

Cuadro 3. Muestreo de Suelos en huertas de nogal para aislamiento de *Trichoderma* en la Comarca Lagunera de Coahuila y Durango. UAAAN-UL. Torreón, Coah., 2005-2006.

Municipio	Sitio	Fecha De Muestreo	Obtención De Aislado	Cepas Obtenidas
San Pedro, Coah.	P.P. San Isidro	14-Nov-05	+	10
	San Antonio de Gurza	14-Nov-05	+	21
	San Carlos	14-Nov-05	+	16
	San Ignacio	13-Mar-05	-	0
	P.P. Gámez	17-Mar-05	+	0
Francisco I. Madero, Coah.	P.P. Florida	16-Nov-05	+	22
	P.P. El Roble	18-Nov-05	-	0
	Jaboncillo	13-Oct-05	-	0
	Jauja	14-Abr-05	-	0
Torreón, Coah.	UAAAN	07-Sep-05	+	21
	El Campesino	21-Mar-06	+	12
	Las Villas	21-Mar-06	+	10
	P.P. El Fresno	05-Abr-06	+	6
Matamoros, Coah.	INIFAP	20-May-05	+	16
	Matamoros	05-Jul-06	+	11
	Tierra Blanca	05-Jul-06	+	30
	La Partida	10-Feb-06	+	16
	Hormiguero	06-Jul-05	+	28
Gómez Palacio Dgo.	El Perú	10-Feb-06	+	10
	La Encantada	05-Abr-06	+	8
	El Vergel	10-Feb-06	+	10
Lerdo, Dgo.	Barranca	23-Abr-06	+	10
Total				257

En el siguiente cuadro se las cepas de *Trichoderma* evaluadas *in vitro* con los fitopatógenos *R. solani*, *F. oxysporum*, *V. dahliae* y *P. omnivora*.

Cuadro 4. Aislados de *Trichoderma* evaluadas en antagonismo *in vitro*. UAAAN-UL. Torreón, Coah., 2005-2006.

No. De Cepa	Clave	Sitio de Aislamiento
1	FL53	Pp. Florida
2	SA	San Antonio de Gurza
3	UA21	UAAAN-UL
4	SI44	San Isidro
5	RA	Rancho de Ana
6	IN11	INIFAP
7	MA10	Matamoros
8	SI56	San Isidro
9	NA11	Natividad
10	MA	Matamoros
11	FL11	Florida
12	TB56	Tierra Blanca
13	MA21	Matamoros
14	UA36	UAAAN-UL
15	TB82	Tierra Blanca
16	TB17	Tierra Blanca
17	BA32	Barraca
18	EN31	Encantada
19	FL36	Florida
20	HO15	Hormiguero
21	B10	Barraca
22	BA11	Barraca
23	EN11	Encantada
24	SI32	San Isidro
25	SA45	San Antonio de Gurza
26	SA12	San Antonio de Gurza
27	TB21	Tierra Blanca
28	B12	Barraca

4.3. Observación morfológica e identificación de los aislados

De las 22 huertas de nogal muestreadas se lograron aislar 257 cepas de *Trichoderma*, las cuales se redujeron a 42 cepas de acuerdo a las características y observaciones morfológicas de conidios y clamidosporas. Se les asignó una clave para su empleo en este experimento. Las dos primeras iniciales corresponden al sitio de aislamiento y los números siguientes al número de muestra y repetición.

Cuadro 5. Claves asignadas a las cepas de *Trichoderma*. UAAAN-UL. Torreón, Coah. 2005-2006.

Cepa	Clave	Sitio de aislamiento	Cepa	Clave	Sitio de aislamiento
1	FL36	Florida	22	MA107	Matamoros
2	HO15	Hormiguero	23	NA11	Natividad
3	TB23	Tierra Blanca	24	H11	Hormiguero
4	SI24	San Isidro	25	EN36	Encantada
5	TB82	Tierra Blanca	26	H16	Hormiguero
6	MA10	Matamoros	27	H15	Hormiguero
7	AN11	Rancho de Ana	28	TB23	Tierra Blanca
8	SI56	San Isidro	29	FL24	Florida
9	SC11	San Carlos	30	TB56	Tierra Blanca
10	IN11	INIFAP	31	UA21	UAAAN-UL
11	BA17	Barraca	32	BA17	Barraca
12	SA11	San Antonio de Gurza	33	PE11	Perú
13	SC12	San Carlos	34	B10	Barraca
14	SA45	San Antonio de Gurza	35	SA7	San Antonio de Gurza
15	MA32	Matamoros	36	SA1	San Antonio de Gurza
16	BA61	Barraca	37	VI13	Los Viñedos
17	PA10	Partida	38	SC65	San Carlos
18	TB82	Tierra Blanca	39	MA2	Matamoros
19	UA36	UAAAN-UL	40	H45	Hormiguero
20	FL53	Florida	41	B2	Barraca
21	SI44	San Isidro	42	TB17	Tierra Blanca

4.4. Extracción de ADN

Se logro extraer ADN de las 42 cepas de *Trichoderma* de acuerdo al protocolo establecido para hongos filamentosos de Cobb y Clarkson (1994).

4.5. Caracterización molecular de los aislados

Los resultados para RAPD-PCR, se presentan en las Figura 2, 3 y 4, en las cuales se observa que existe una gran variabilidad genética entre los aislados de acuerdo al patrón desigual de las bandas.

Dubey y Suresh (2006), en estudios recientes encontraron que el número de bandas polimórficas oscilaban en un rango de 2 a 13 y el tamaño de los productos amplificados variaba de .25 a 2 kb, cuando amplificaron algunas cepas de *Trichoderma*.

En la figura 2 se muestra el patrón de bandeos de las primeras 19 cepas que se mencionan en el cuadro 5, las cuales se amplificaron con 5 primers universales. La diversidad genética mostrada en los geles de agarosa (Figura 2, 3 y 4) esta directamente relacionada con la textura del suelo, pH, contenido de materia orgánica, cultivo, nutrición mineral, área geográfica, temperatura y competencia de alimentos y nutrimentos por los microorganismos existentes en el suelo (Harman, 2000 y 2006).

En estas Figura 2, 3 y 4 se observa que el tamaño de bandas es más pequeño que el peso de las bandas del marcador molecular, lo que sugiere que en futuras investigaciones se emplee un marcador de 100 pares de bases.

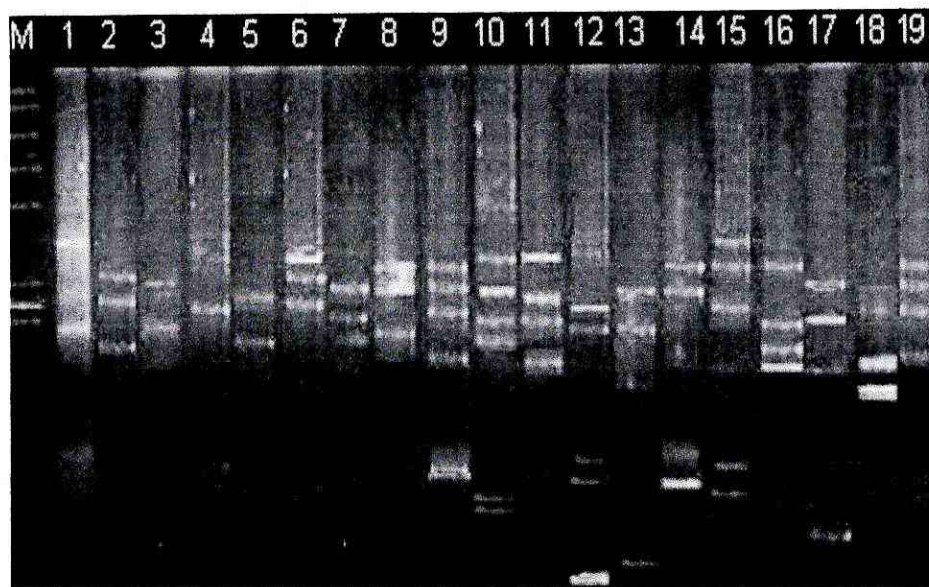


Figura 2. Patrón de bandeo del primer gel de agarosa donde se visualizan 19 de las cepas de *Trichoderma* que fueron aisladas en la Comarca Lagunera.

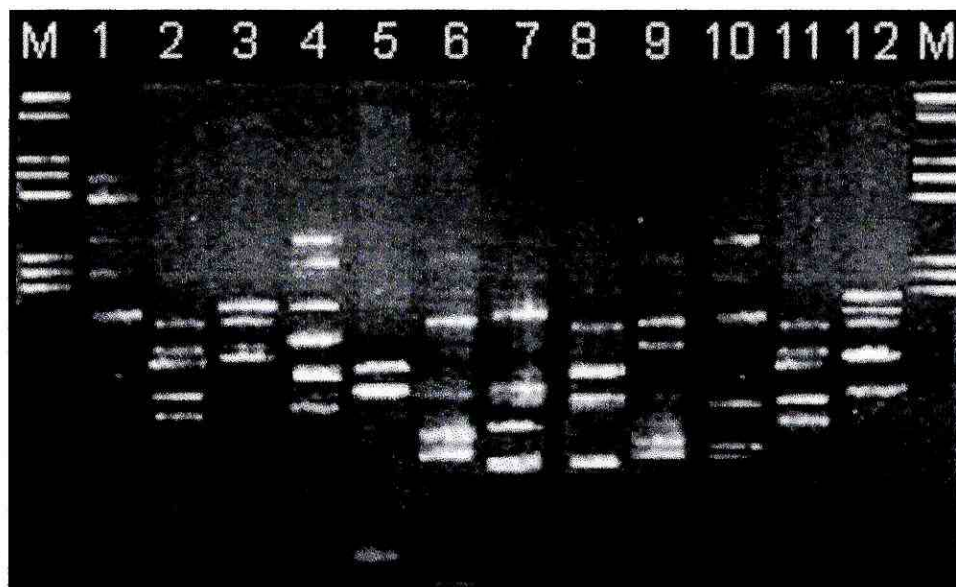


Figura 3. Patrón de bandeo del segundo gel de agarosa donde se visualizan 12 de las cepas de *Trichoderma* que fueron aisladas en la Comarca Lagunera.



Figura 4. Patrón de bandeo del tercer gel de agarosa donde se visualizan 12 cepas de *Trichoderma* aisladas en suelos de La Comarca Lagunera.

Dubey y Suresh (2006), emplearon 20 primers y obtuvieron 26 bandas de cada cepa a través de la técnica de PCR-RAPD con las cuales caracterizaron especies de *Trichoderma*, lo que sugiere que con un número mayor de primers se pueden determinar especies de *Trichoderma*, de acuerdo a una comparación entre las bandas obtenidas de especies previamente identificadas.

En base a los bandeos obtenidos se organizó la matriz general, generando un dendograma a través del programa estadístico The statgraphics 5.1 plus, el cual asoció a las 42 cepas de *Trichoderma* en cinco grupos.

Los datos de PCR-RAPD generados por la amplificación de ADN genómico de los aislamientos de especies de *Trichoderma* sugieren que la variación encontrada es interespecífica, con excepción de los aislados de una de las cepas, correspondiente a Florida, municipio de Francisco I. Madero, Coah., lo cual sugiere que es una cepa distinta a todas las aisladas. Los

resultados del dendograma se pueden consultar en la Figura 5, donde las cepas de *Trichoderma* se concentraron en cinco grupos; en el primero, se ubican cinco cepas pertenecientes a suelos del municipio de San Pedro, Coah., dos cepas a Francisco I. Madero, cuatro cepas a Matamoros y dos cepas a Torreón, lo cual puede ser indicativo de que existen especies de la misma cepa en diferente localidad, posiblemente por la colindancia geográfica de estas áreas y al movimiento de maquinaria agrícola entre las huertas de nogal, siendo un mecanismo de diseminación del inóculo de *Trichoderma*, donde también influye el viento y el trasplante de nogales entre sitios de la misma área geográfica.

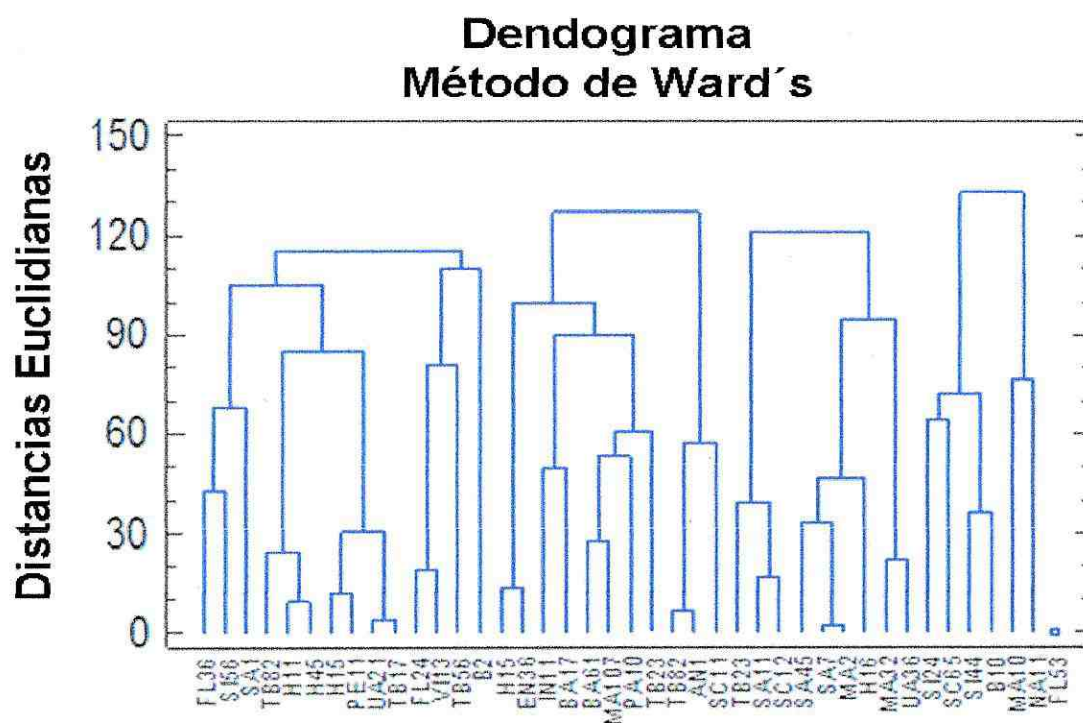


Figura 5. Dendograma derivado de la amplificación al azar de los fragmentos de DNA polimórfico en el análisis de las cepas de *Trichoderma*.

Las cepas aisladas de distintos sitios se agruparon entre sí debido a que la mayoría de ellas se encuentran dentro de un área geográfica donde el clima, la temperatura y hasta el tipo de suelo; así como su textura y pH son similares, lo que hace suponer que existe una gran variedad genética entre las cepas aisladas.

Turoczi *et al.* (1996), también observaron resultados similares al aislar e identificar diferentes cepas de *Trichoderma* con potencial para ser empleadas en biocontrol, las cuales mostraban características genéticas diferentes entre cepas de la misma especie.

El Primer OP1 distinguió de manera eficiente todos los aislamientos de *Trichoderma*, por lo tanto, este ejemplo podría ser utilizado para diferenciar las cinco cepas de *Trichoderma* que se concentraron en los distintos grupos.

La clasificación de *Trichoderma* spp y la capacidad de diferenciar una cepa de otra, son pautas importantes en el campo del control biológico; tradicionalmente, las poblaciones se analizaban por la técnica de recuento de unidades formadoras de colonias en un medio selectivo de *Trichoderma* (TSM) según Elad y Chet, (1983). Sin embargo, este método no distingue entre las especies y el método de identificación específica para especies/cepa, por lo tanto, se hace necesario utilizar técnicas moleculares.

Goes *et al.* (2002), trabajaron con RAPD en especies de *Trichoderma* y obtuvieron resultados similares, donde las cepas se fueron agrupando de acuerdo a su área geográfica.

Este estudio sugiere, que las imprecisiones en la caracterización clásica de *Trichoderma* deben ser investigadas, apoyándose en otros métodos.

Zimand *et al.* (1994), observaron que los aislados de *T. harzianum* y *T. viride* muestran distinto patrón de bandeo en los RAPD, debido a que las amplificaciones son al azar.

Gómez *et al.* (1997), clasificaron las cepas de *T. harzianum* en un grupo separado, siguiendo los perfiles y capacidad antagónica al igual que el análisis de la RAPD.

El avance en la descripción de nuevas especies basada en técnicas moleculares ha modificando las clasificaciones taxonómicas de las especies de plantas, animales, hongos, bacterias, virus, fitoplasmas según lo mencionan Harman y Shores (2007).

Los resultados del presente trabajo, coinciden con otros anteriores realizados por Zimand *et al.* (1994); Arisan-Atac *et al.* (1995) y Goes *et al.* (2002). La técnica de análisis RAPD, podría ser utilizada para la identificación de determinadas especies o cepas de *Trichoderma*. Los RAPD-ADN geonómico, pueden ser utilizado en la estimación de la variación genética según Latha *et al.* (2002).

4.6. Evaluación del antagonismo de *Trichoderma in vitro*

En este experimento se evaluaron 28 de las cepas obtenidas, a través de la técnica de cultivos duales (Figura 6) registrando los datos de crecimiento en diámetro de la colonia tanto del biocontrolador como del patógeno correspondiente. Se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos (cepas), así como entre los patógenos evaluados; la respuesta mostrada por los cuatro fitopatógenos a una misma cepa de *Trichoderma* varió

en cuanto al comportamiento de desarrollo y crecimiento; así como al porcentaje de inhibición de las mismas, ya sea por competencia de espacio, nutrientes y parasitismo al interior de la caja petri, datos que concuerdan con investigaciones realizadas por do Reis *et al.* (2007). Lo cual lleva a la conclusión que el daño que produce *Trichoderma* a sus hospedantes, puede variar como sucedió en el presente estudio.

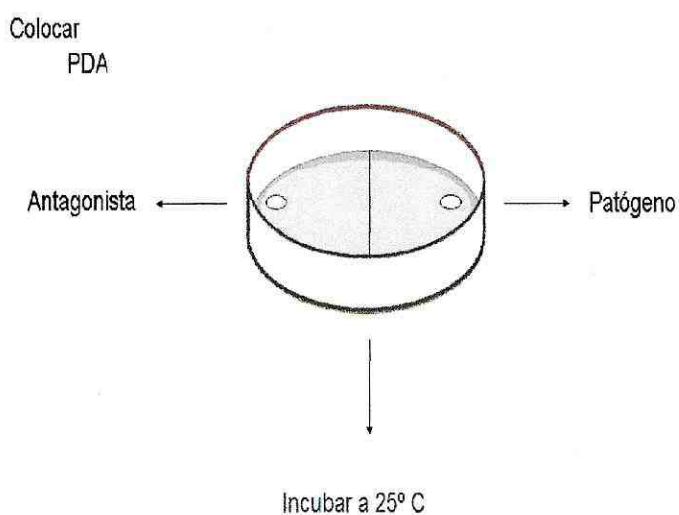


Figura 6. Enfrentamiento dual.

En la Figura 7, se puede observar el crecimiento de cepas de *Trichoderma*, las cuales alcanzaron un de invasión en la caja petri del 86.82% al quinto día después de depositar los discos del biocontrolador y del patógeno en la misma caja, datos que se tomaron cuando *R. solani* alcanzó un máximo de crecimiento en el cultivo dual del 11.33%, no obstante, las cepas del antagonista continuaron creciendo e iniciaron el parasitismo en algunas de las cepas de patógeno, mientras tanto el testigo continuaba su crecimiento normal

al no tener competencia dentro de la caja, alcanzando un llenado en caja del 95% al quinto día.

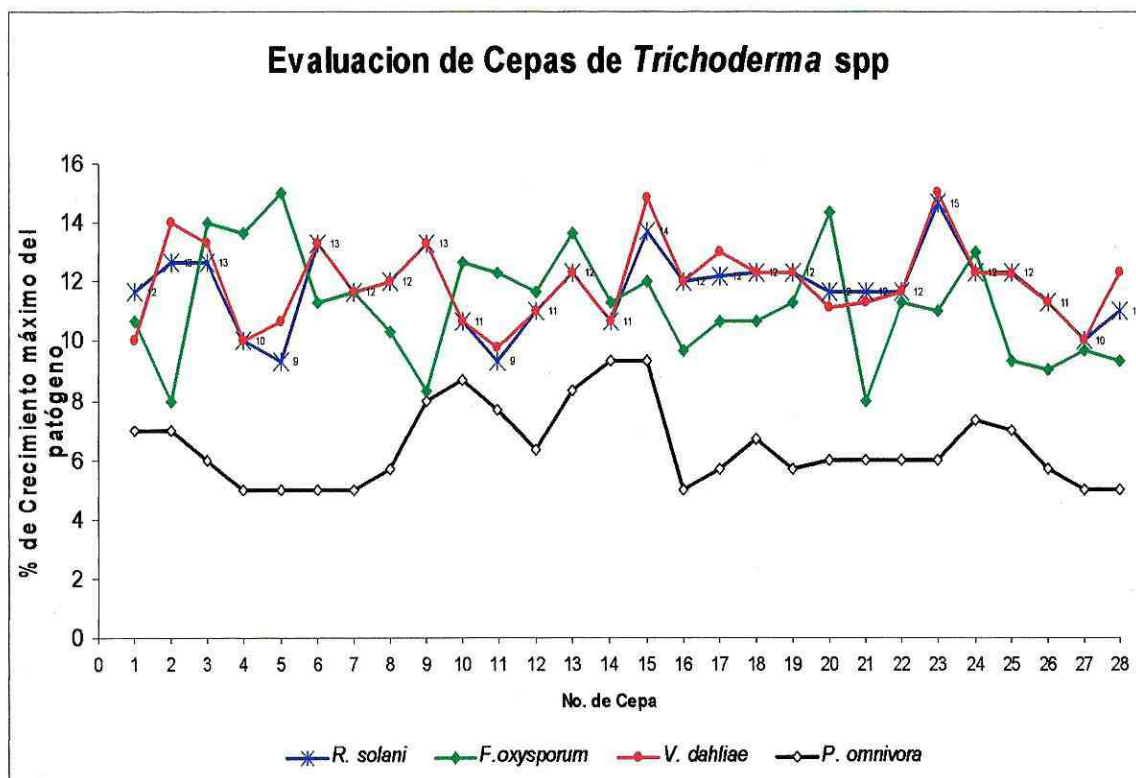


Figura 7. Gráfica comparativa del crecimiento registrado de los cuatro patógenos en antagonismo con las cepas de *Trichoderma*.

4.6.1. Antagonismo de *Trichoderma* confrontado con *R. solani*

De acuerdo a los resultados obtenidos en el experimento de antagonismo *in vitro*, empleando las cepas nativas de *Trichoderma* aisladas en la Región Lagunera y confrontadas con *R. solani*, se encontraron diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos evaluados. Las cepas que se emplearon en el experimento fueron eficientes en inhibir el crecimiento del patógeno dentro de la caja petri hasta en un 92%.

Las cepas que ejercieron un mayor antagonismo e inhibición de los patógenos se muestran en el Cuadro 6, se presentan los resultados de las cepas de *Trichoderma* que ejercieron un sobresaliente antagonismo sobre los cuatro patógenos evaluados y que corresponden a los diferentes experimentos realizados en esta investigación.

Cuadro 6. Cepas de *Trichoderma* potenciales para ser empleadas en biocontrol de hongos fitopatógenos del suelo.

Evaluación	<i>R. solani</i>	<i>F. oxysporum</i>	<i>V. dahliae</i>	<i>P. omnivora</i>
Antagonismo <i>in vitro</i> al momento del contacto.	SI44, FL11, MA11, UA36, SI56	SA11, NA11, SA12, B12, TB21	SI44, FL11, MA11, UA36, SI56	SA12, SI44, BA11, EN11, TB21
Inhibición final <i>in Vitro</i> .	B10, EN11, HO15, BA11, SI56	B10, BA11, HO15, SI56, BA32	BA11, HO15, B10, SI32, TB17	B10, EN11, SI56, BA11, HO15
Inoculación sobre semilla establecida en bandejas.	Cualquier cepa de <i>Trichoderma</i> es efectiva como bioantagonista de los cuatro patógenos evaluados (estadísticamente iguales)			
Inoculación en siembra directa en macetas.	SI32, BA11, FL53, TB17, TB56	SI32, BA11, TB56, TB17, FL53	SI32, BA11, TB56, FL53, B10	B10, BA11, SI32, TB21, SA45
Inoculación a plántulas de tomate en macetas.	BA11, B10, SA45, SA12, TB21	BA11, B10, B12, TB21, FL36	BA11, B10, EN11, EN31, SI32	TB21, SA12, BA11, B10, TB56

En la figura 8 se puede observar el crecimiento de *R. solani* en antagonismo con las cepas de *Trichoderma*.

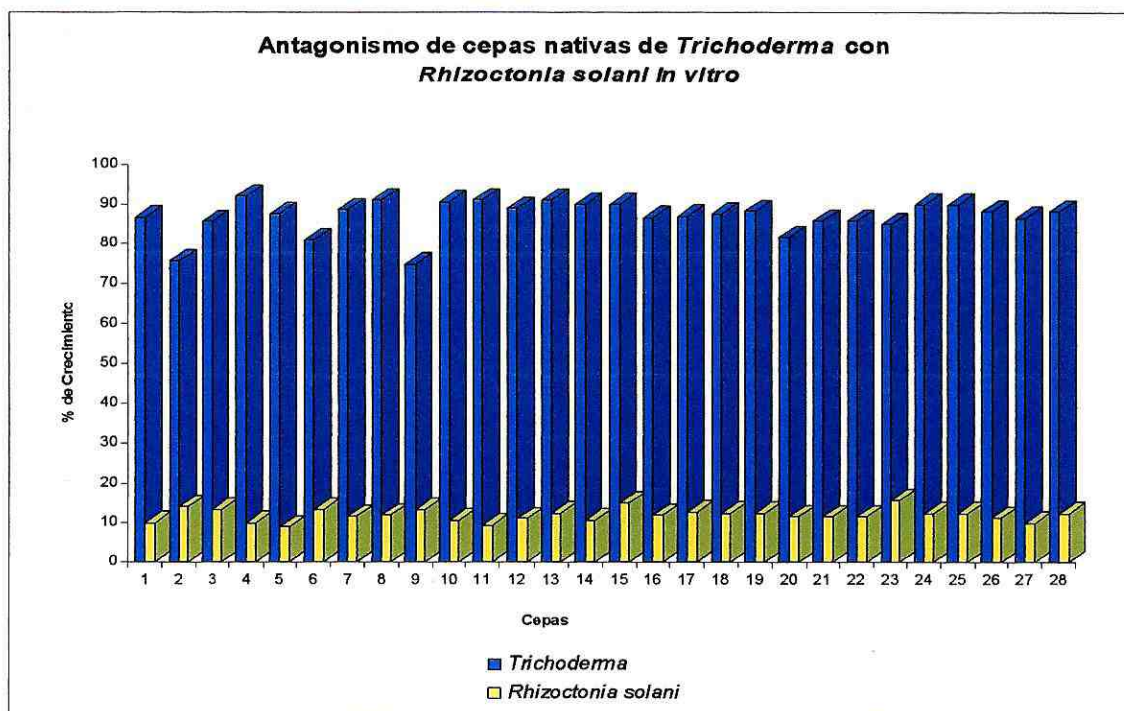


Figura 8. Evaluación de especies de *Trichoderma* con *R. solani* *in vitro*.

Resultados similares fueron publicados por Hermosa *et al.* (2000), mencionando que algunas cepas fueron más eficientes para *R. solani*, mientras que las mismas cepas no funcionaron igual en *F. oxysporum*.

Sandoval *et al.* (1995), encontraron en cultivo dual "*in vitro*", que *T. harzianum* resultó ser un buen antagonista en diferentes aislamientos de *R. solani*.

4.6.2. Antagonismo de *Trichoderma* confrontado con *F. oxysporum*

Los datos obtenidos en el análisis estadístico, muestran que existe diferencia altamente significativa entre los tratamientos. El crecimiento que *Trichoderma* alcanzó al quinto día fue de un 88.2% en promedio mientras que el patógeno logró un 11.86% % de crecimiento promedio dentro de caja. Estos

resultados concuerdan con los descritos en la actividad antagonista de *Trichoderma harzianum* R. frente a determinadas especies fungosas fitopatógenas de importancia agrícola, que han sido estudiadas extensivamente en diferentes partes del mundo (Aranguren *et al.*, 1994; Naar y Kecskès, 1995). El porcentaje mayor de antagonismo con respecto al crecimiento del patógeno lo presentaron las cepas SA11 y B10 con un 92% (Figura 9). Las cepas inhibieron el crecimiento del patógeno a los tres días de haber iniciado el experimento; los datos obtenidos concuerdan con los encontrados por Avedaño *et al.* (2006).

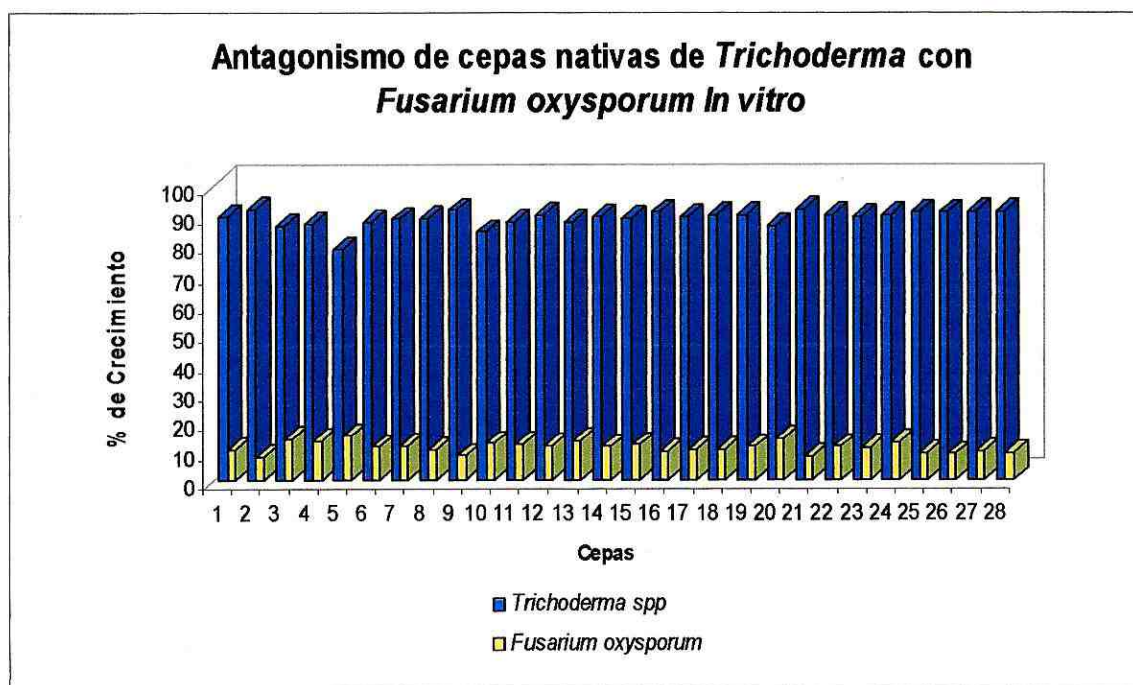


Figura 9. Evaluación de especies de *Trichoderma* con *F. oxysporum* *in vitro*.

Los resultados encontrados por Stefanova *et al.* (1999), concuerdan con la investigación realizada en este experimento, observándose la reducción

de algunas colonias de *F. oxysporum*, ante la presencia de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. Durante el periodo de duración del experimento se observó que el micelio del patógeno dejó de crecer, esto supone que puede ser por alguna sustancia de tipo enzimática ó mediante el mecanismo de antibiosis que pueden ejercer algunas de las cepas de *Trichoderma* (Harman y Shoresh, 2007).

4.6.3. Antagonismo de *Trichoderma* confrontado con *V. dahliae*

Los resultados del análisis de varianza muestran que existen diferencias altamente significativas entre las cepas. En la Figura 10, se observa el crecimiento de las cepas de *V. dahliae*, sobresaliendo las cepas SI44 y SI56 con 92%.

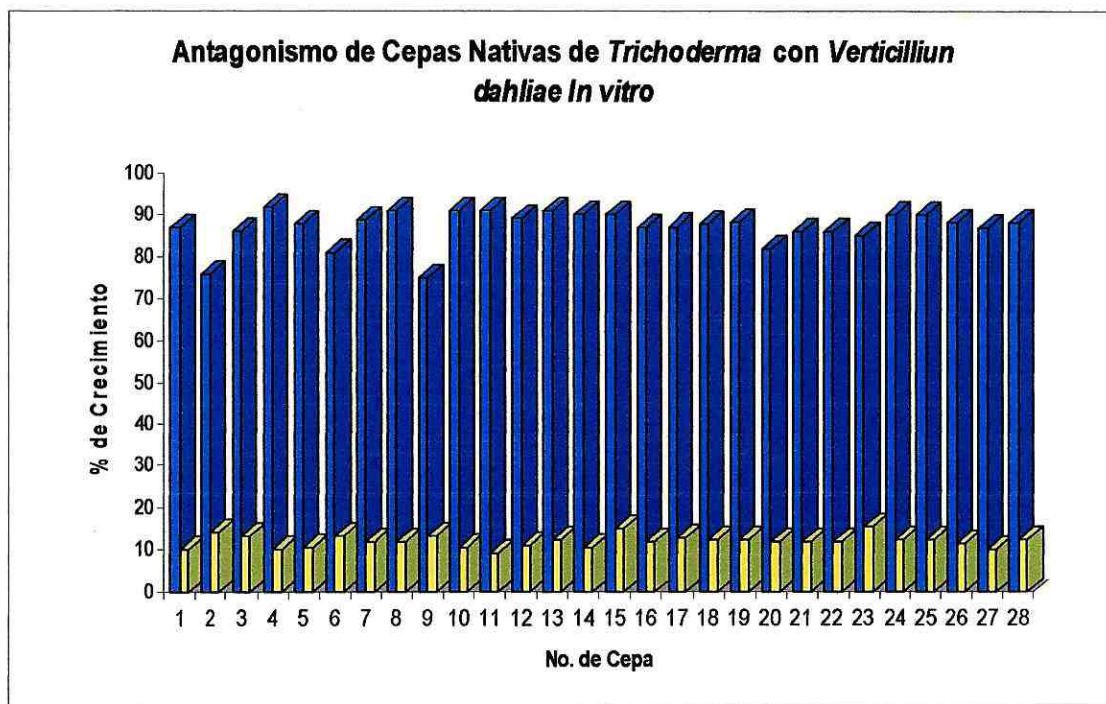


Figura 10. Evaluación de especies de *Trichoderma* con *V. dahliae* in vitro.

El promedio de crecimiento in vitro del patógeno fue del 12 %, mientras que el promedio de crecimiento de *Trichoderma* fue de 87.02%. El testigo (*V. dahliae*) alcanzó un promedio de crecimiento del 90% a los cinco días de establecido.

Las cepas más eficientes, fueron las que se aislaron del mismo lugar que *V. dahliae*, este último se obtuvo de plantas enfermas de algodón en la pequeña propiedad de San Isidro perteneciente al municipio de San Pedro, Coah., lugar donde se aislaron las mejores cepas antagonistas para este patógeno en particular. Lo anterior concuerda con lo obtenido por Mwafaida et al. (2007), donde mencionan que las cepas de *Trichoderma* que ejercieron mejor antagonismo sobre un patógeno particular de la región, fueron las cepas nativas del biocontrolador, debido a la adaptación de factores bióticos y abióticos similares en los que se desarrollaron ambos hongos.

4.6.4. Antagonismo de *Trichoderma* confrontado con *P. omnivora*

Las cepas que mostraron un mayor antagonismo para *P. omnivora* fueron SA12, SI44, BA11, EN11 y TB21 (Cuadro 6). El promedio de crecimiento máximo del patógeno a los cinco días fue de 6.4%, mientras que el testigo mostró un crecimiento del 45% del llenado en caja en el mismo tiempo; las cepas del antagonista registraron un crecimiento promedio del 93.6% en la prueba de confrontación dual. De acuerdo al análisis estadístico, la cepa que mostró un menor grado de antagonismo fue la UA21 aislada de la UAAAN-UL

con un 88.3%, se encontraron diferencias significativas entre las cepas. En la figura 11 se observan los resultados de crecimiento de *P. omnivora* en presencia con las cepas nativas de *Trichoderma*, donde el crecimiento de ambos inicio a la par pero al segundo día el crecimiento del patógeno se vio afectado por el biocontrolador reduciendo su ritmo de crecimiento drásticamente en un 80% en comparación con el testigo del mismo hongo.

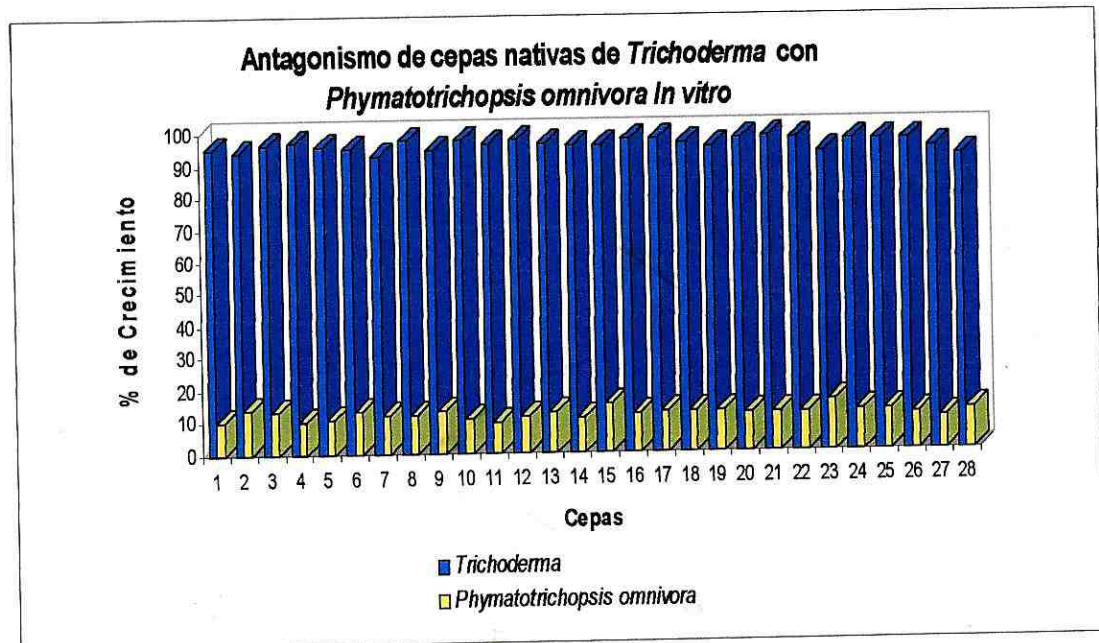


Figura 11. Evaluación de especies de *Trichoderma* con *P. omnivora* in vitro.

En algunas huertas de nogal no se pudo aislar a *P. omnivora* de raíces que mostraban síntomas de la enfermedad, y que en algunos casos mostraban sobre el tallo cordones miceliales del patógeno, sin embargo de este mismo suelo se logró aislar a *Trichoderma*, esto hace suponer que se ejerció un control biológico natural sobre el patógeno dentro del suelo. Posiblemente el establecimiento de *Trichoderma* en huertas de nogal se ve favorecido por las

condiciones propicias del microclima del cultivo, las prácticas culturales y la nutrición mineral que se realiza en huertos mayores a 20 años.

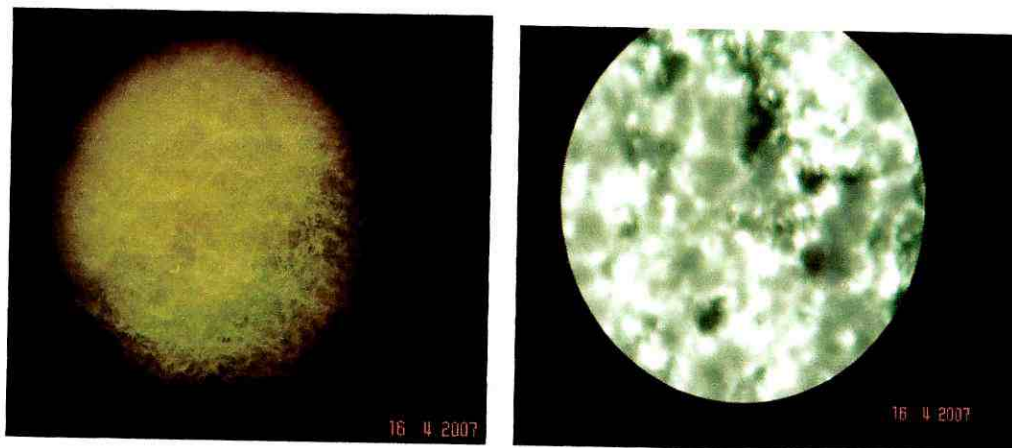
En esta investigación se aislaron algunas cepas de *Trichoderma* en la propiedad de Tierra Blanca y que en estudios recientes sobre cepas aisladas del mismo predio concuerdan con los encontrados por Samaniego-Gaxiola y Chew-Medinaveitia (2007), mencionando que algunas son más eficientes como antagonistas y que no siempre pueden ser aisladas en huertas de nogal, debido a que no son preferentes de este tipo de cultivos.

4.6.5. Resultados de inhibición de *R. solani* con cepas nativas de *Trichoderma*

Los datos obtenidos se transformaron para ser analizados en SAS mediante la fórmula: $\text{Arc. Sen} \sqrt{X}$, posteriormente se aplicó la fórmula de Avedaño *et al.*, (2006):

Inhibición % = [(Crecimiento final del biocontrolador - crecimiento final del patógeno) / crecimiento del testigo del patógeno] * 100

Las cepas mostraron diferencias estadísticas altamente significativas, procediendo a realizar una comparación de medias, las cepas más efectivas se pueden consultar en Cuadro 6. En las figuras 12 y 13 se observa el parasitismo que ejercieron algunas de las cepas de *Trichoderma* sobre el micelio de *R. solani* el cual fue reducido en un 94.6% en promedio.



Figuras 12 Y 13. Parasitismo de *Trichoderma* sobre el micelio de de *Rhizoctonia solani*.

En las figuras 12 Y 13, se aprecian los dos mecanismos de control biológico que ejercen las cepas de *Trichoderma* sobre *R. solani*, se observa que el micelio del biocontrolador empieza a crecer sobre las hifas del patógeno. Posteriormente a los siete días el micelio de *R. solani* desapareció totalmente, debido a la acción de parasitismo y degradación de las paredes celulares que realizó la cepa de *Trichoderma* sobre el fitopatógeno.

4.6.6. Resultados de Inhibición de *F. oxysporum* con cepas nativas de *Trichoderma*

La inhibición de las cepas del biocontrolador con respecto a *F. oxysporum* resultaron con diferencias altamente significativas, sobresaliendo las cepas de BA10 con un 97% de inhibición seguida por BA11, HO15 y BA32 con un 96% cada una. Sin embargo la cepa menos eficiente fue B12 con un 85% sobre el patógeno.



Figura 14. Cepa de *Trichoderma* SI32 con *F. oxysporum*.

4.6.7. Resultados de Inhibición de *V. dahliae* con cepas nativas de *Trichoderma*

Se encontraron diferencias significativas entre las cepas de *Trichoderma* que inhibieron el crecimiento de *V. dahliae in vitro*, la cepa más eficiente fue B10 con un 97%, seguida por BA11, HO15, BA32 y TB17, todas presentaron un 96% de inhibición. Respecto a la cepa que mostró una menor inhibición fue la B12 con 85% (Cuadro 6).

En las Figuras 15 y 16 se observa la inhibición que ejerció la cepa del antagonista sobre el crecimiento de *V. dahliae*, el biocontrolador no limitó su crecimiento como lo hizo el patógeno, mientras tanto el micelio de este último comenzó a ser parasitado.



Figuras 15 Y 16. Cepas de *Trichoderma* y *V. dahliae* a los 5 días de confrontación.

Al identificar las cepas con potencial biocontrolador, estas podrán ser utilizadas en la agricultura de la Comarca Lagunera.

4.6.8. Resultados de inhibición de *P. omnivora* con cepas nativas de *Trichoderma*

El crecimiento de *P. omnivora* en medio de cultivo no es muy recomendable, debido a que el hongo no crece ni se desarrolla como otros hongos del suelo, por los requerimientos bióticos que necesita, por lo que en el experimento mostró un lento crecimiento de las colonias dentro de la caja petri, las cajas testigo, alcanzaron un máximo crecimiento del 55% de llenado de caja a los 11 días, mientras que los empleados en los cultivos duales mostraron crecimientos promedios del 6.6% reduciéndose al 2.2% por efecto de inhibición que ejercieron las cepas de *Trichoderma* sobre el hongo.

Las cepas más efectivas fueron SI56, B10 y EN11 con un 99, 98.5 y 98% de inhibición respectivamente. Sin embargo, la cepa que no alcanzo el promedio fue la MA10 con un 93% de inhibición al final del experimento, no

En la Figura 18, se observa la inhibición ejercida por la misma cepa sobre *R. solani*, *F. oxysporum*, *V. dahliae* y *P. omnivora*, donde el porcentaje promedio de inhibición de cada uno de los patógenos fue del 88.92%, 90%, 90% y 93% respectivamente. Los resultados son similares a los reportados por Rey *et al.* (2000).

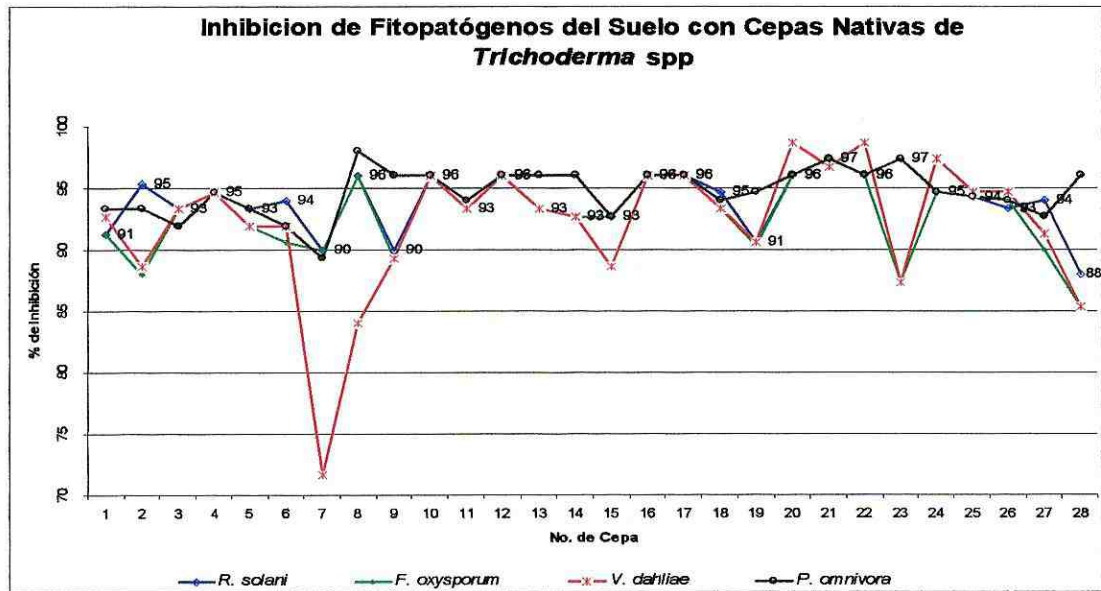


Figura 18. Gráfica comparativa de la evaluación de los cuatro patógenos con cada una de las cepas nativas de *Trichoderma*.

De acuerdo con las observaciones realizadas las cepas de *Trichoderma* empleadas actuaron por medios de dos mecanismos: a) inhibición del crecimiento del patógeno y b) por parasitismo del micelio al momento en que las cepas de *Trichoderma* entraron en contacto con el patógeno (Raaijmakers *et al.*, 2002; Kubicek *et al.*, 2001; Whipps, 2001).

De acuerdo con Howell (2003), la antibiosis es otro de los mecanismos que ejerce *Trichoderma*. Si bien parece predominar un mecanismo, esto no

excluye la posibilidad de que uno o dos mecanismos pueda actuar en los comportamientos antagónicos (Benítez *et al.*, 2004).

Por su parte do Reis *et al.* (2007) reportaron que el primer contacto físico aparente entre *T. harzianum* y *R. solani*, se produjo dentro de 2-3 días después de la inoculación, seguido de inhibición del crecimiento. Resultados similares se encantaron en este experimento y que concuerdan con otras investigaciones (Innocenti *et al.*, 2003; El-Katany *et al.*, 2001; De Marco *et al.*, 2000).

Trichoderma tiene la capacidad de colonizar o adaptarse a varias clases de sustratos; en condiciones controladas (*in vitro*) demostró adaptabilidad al medio de cultivo utilizado y buena competencia por el espacio, dando como resultado una adecuada acción parasitaria inhibiendo o limitando el crecimiento de los organismos que fueron confrontados.

Ezziyani *et al.* (2004), concluyó que la selección previa del antagonista mediante cultivos duales es útil, pero no garantiza el buen comportamiento de ésta en invernadero. El efecto antagonista se ha visto reducido en el experimento desde, prácticamente un 100% *in vitro*, a entre 56 y 22% *in vivo*.

4.7. Evaluación del parasitismo de *Trichoderma* sobre semilla establecida en bandejas para siembra

4.7.1. Evaluación de cepas de *Trichoderma* sobre *R. solani*

En ninguno de los dos experimentos donde fueron evaluadas las cepas nativas de *Trichoderma* con *R. solani* no se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos de acuerdo a la prueba de Kruskal-Wallis, donde la X^2 fue del 0.8007 para emergencia y de 0.1200 para muerte. La

germinación para la primer charola fue de 86.66%. El testigo presentó un 8% de muerte postemergente datos que concuerdan con Harman y Shoresh (2007) y Harman *et al.* (1981), reportan que *T. hamatum*, aplicado como tratamiento a la semilla controla la pudrición causada por "Damping off".

4.7.2. Evaluación de cepas de *Trichoderma* sobre *F. oxysporum*

En la evaluación del segundo patógeno *F. oxysporum*, tampoco se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos para emergencia, pero si se encontraron diferencias para muerte preemergente presentando una X^2 de .0088 siendo los tratamientos de PCNB+ semilla y el testigo Semilla+Patógeno, los que presentaron un mayor porcentaje de muerte preemergente un 66%; sin embargo, esta evaluación arrojó un 88.88% de germinación de las semillas de tomate en los dos experimentos con un promedio del 10% de muerte postemergente de plántulas; se presentaron diferencias altamente significativas sobre la muerte preemergente más no en la muerte postemergente, lo que concluye que cualquiera de las cepas de *Trichoderma* pueden emplearse como fungicidas preventivos en semilla. Datos concordantes por Chet e Inbar. (1994) y Lorito *et al.* (1996).

4.7.3. Evaluación de cepas de *Trichoderma* sobre *V. dahliae*

El experimento se realizó por duplicado para obtener una mejor certeza de los datos recolectados, sin embargo no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre las cepas, pero si con la muerte preemergente del tratamiento de semilla con PCNB y del testigo, lo que hace suponer que en semilla *Trichoderma* puede funcionar mejor que otro fungicida,

ya que no mostró similitud en resultados con respecto a los tratamientos. Para la germinación de la semilla y emergencia se obtuvo un 94.6% y un 5.55% de muerte postemergente.

4.7.4. Evaluación de cepas de *Trichoderma* sobre *P. omnivora*

Con respecto al experimento con *P. omnivora*, los resultados indicaron que no existen diferencias entre cepas y el testigo. Los porcentajes obtenidos fueron 96.6% de emergencia y un 3.33% de muerte postemergente, datos que concuerdan con el testigo, el cual presentó un 96% de emergencia y un 4% de muerte postemergente durante los primeros 5 días después de la siembra. Lo anterior se puede deber a que *P. omnivora* no es un fitopatógeno que afecte a la semilla, sin embargo se realizó el experimento para tener una seguridad total sobre este patógeno, en determinado momento pudiese cambiar sus hábitos infectivos por la facilidad de obtener un hospedante disponible y susceptible.

4.8. Evaluación de las cepas de *Trichoderma* sobre tomate sembrado en macetas

Se evaluaron las mismas 28 cepas de nativas *Trichoderma* que fueron utilizadas en el antagonismo *in vitro* y en semilla, con la finalidad de obtener datos más concluyentes sobre el antagonismo que estas ejercen en los cuatro patógenos evaluados (Figura 6).

4.8.1. Semilla Podrida

Los datos de semillas podridas no presentaron diferencias estadísticamente significativas entre tratamientos; no obstante para emergencia, muerte preemergente y postemergente así como para plántulas viables. Se encontraron diferencias entre tratamientos (Cuadro 8). Los tratamientos más efectivos incluyeron cepas de *Trichoderma*, ya que presentaron un menor índice de muerte pre y post emergente en comparación con los tratamientos con PCNB.

4.8.2. Muerte Preemergente

En la variable de muerte preemergente, se observó una alta significancia en el experimento para *R. solani* y *F. oxysporum* obteniéndose una probabilidad de $X^2 = .0003$ y de $X^2 = .0031$ respectivamente, los mejores tratamientos fueron los que contenían las cepas de *Trichoderma* y PCNB. El tratamiento de inoculación a la semilla con el patógeno resultó en un 50% de muerte preemergente. Para *V. dahliae* y *P. omnivora*, no se encontraron diferencias significativas.

4.8.3. Emergencia

Se encontraron diferencias entre los tratamientos, para *R. solani*, *F. oxysporum*, sin embargo para *V. dahliae* y *P. omnivora* no se encontraron diferencias respecto a emergencia.

4.8.4. Muerte postemergente

Para *R. solani*, *F. oxysporum* y *P. omnivora*, se obtuvieron diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo no entre las cepas de *Trichoderma*, para *V. dahliae* no se encontró significancia entre tratamientos.

4.8.5. Plantas viables

El tratamiento con *Trichoderma* y PCNB fue el mejor, mientras que los tratamientos donde se utilizó únicamente el patógeno, presentaron un porcentaje mínimo de sobrevivencia de plantas.

De acuerdo a los datos de emergencia, muerte postemergente y sobrevivencia de la planta, existen diferencias significativas entre todos los tratamientos igual que para los patógenos empleados en el experimento.

4.8.6. Altura de Planta, longitud de vástago y raíz

A su vez en la evaluación de las variables altura de planta, longitud de vástago y raíz se encontraron diferencias altamente significativas entre los tratamientos sobre siembra directa en macetas y en plántulas trasplantadas, sobresaliendo las cepas BA11 y B10 (Figuras 19, 20, 21 y 22).

4.9. Evaluación de las cepas de *Trichoderma* sobre tomate trasplantado en macetas

Existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos evaluados con *R. solani*, *F. oxysporum*, *V. dahliae* y *P. omnivora*, donde sobresalen dos de las cepas nativas de *Trichoderma* que son potencialmente útiles en biocontrol. En las Figuras 19, 20, 21 y 22, se observa el efecto realizado por las cepas de *Trichoderma* sobre el desarrollo radical y aéreo de las plantas en presencia del patógeno. Paez y Sanabria (2007) mencionan que *Trichoderma*, puede utilizarse por si mismo en el control de *R. solani*, *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* y *F. solani*, en tomate cultivado en invernadero.

En el Cuadro 9, se observa que para la variable muerte de plántulas, existen diferencias altamente significativas entre tratamientos, sobresaliendo los tratamientos en los que se emplearon las cepas de *Trichoderma*.

4.9.1. Muerte de plántulas

De acuerdo a los datos obtenidos de los análisis estadísticos existen diferencias altamente significativas entre los tratamientos a la plántula evaluados con *R. solani*, *F. oxysporum*, *V. dahliae* y *P. omnivora*, los mas efectivos son los que incluyeron cepas de *Trichoderma* reportes similares presentaron Lynch *et al*, (1991).

4.9.2. Altura de Planta, longitud de vástago y raíz

Se encontraron diferencias altamente significativas en las tres variables evaluadas, así como, entre los tratamientos empleados (Figuras 17, 18, 19 y 20).

Reportes similares presentaron Asaka y Shoda (1996), al concluir que las plantas de tomate fueron más vigorosas y mostraron un desarrollo abundante de raicillas, mostrando ser superiores en altura y volumen foliar y que las cepas evaluadas mostraban diferente comportamiento en presencia de determinado fitopatógeno.

Avedaño *et al.* (2006), mencionan que los tratamientos mostraron un buen crecimiento de las raíces, con excepción del tratamiento con el patógeno solo, que presentó al momento de la floración el cual mostraba una longitud de 10,33 cm y de la cosecha tan sólo 4,00 cm, resultado de la infección y del daño generalizado por la presencia del patógeno. En este experimento los daños causados por el patógeno en el tratamiento sin antagonista o fungicida se expresaron en una muerte generalizada de plántulas.

Santander *et al.* (2003), evaluaron el grado de efectividad de los bioantagonistas *Paenibacillus lentimorbus* y *Trichoderma* spp. en el control de *R. solani*, bajo condiciones de invernadero en suelos naturalmente infectados y sometidos a diferentes tratamientos. Los autores encontraron que los mejores tratamientos fueron los que incluyeron bromuro de metilo, observándose el desarrollo de plantas más altas y mayor volumen radical lo que indica que aún las cepas de *Trichoderma* presentan un comportamiento variable sobre los distintos patógenos y condiciones ambientales diversas.

González *et al.*, (2004) encontraron resultados parecidos al controlar a *Fusarium solani* en tomate bajo invernadero, inoculando las plántulas con *Trichoderma* spp y *Paenibacillus lentimorbus*, los resultados indicaron que existe un estímulo del crecimiento de las raíces y de la planta en general, expresándose en un mayor peso seco cuando se aplican cepas de *T. harzianum* y de *P. lentimorbus* 629 para controlar *F. solani*, por lo mismo podría recomendarse la aplicación de estos bioantagonistas dentro de un programa de control integrado de *F. solani* ya sea aplicados por sí solos o en combinación con solarización cuando existe una baja población de este patógeno.

Por otra parte Howell (2003) menciona que existen factores naturales que afectan la producción de enzimas y la condición o predisposición de ataque en que actúa *Trichoderma* cuando parasita a sus hospederos. Los factores bióticos y abióticos que influyen directa e indirectamente en el biocontrol de *Trichoderma* sobre hongos como *V. dahliae*, *F. oxysporum* y otros fitopatógenos del suelo son: el desarrollo o ciclo biológico en el que se encuentra el patógeno, el cultivo establecido, etapa fisiológica de la planta, calidad del suelo, la humedad, pH del suelo, la temperatura y nutrición mineral, prácticas culturales y fitosanitarias así como la ubicación geográfica (Garbeva *et al.*, 2004; Sessitsch *et al.*, 2004; Gomes *et al.*, 2003; Graner *et al.*, 2003; Heuer *et al.*, 2002; Krechel *et al.*, 2002).

Cuadro 7. Evaluación de cepas de *Trichoderma* en experimento de macetas sobre semilla de tomate (*Lycopersicon esculentum*)

Patógeno	Tratamiento en macetas	Semillas podridas %	Muerte preemergente %	Emergencia %	Muerte postemergente %	% plantas viables
<i>R. solani</i>	Semilla+ cepa de <i>Trichoderma</i> + patógeno	2.96	1.34 **	91.67 *	9.41 *	77.15 **
	Semilla+ patógeno + PCNB	0	8.33	86.56	16.67	75
	Semilla + patógeno	0	50	50	41.67	8.33
	Semilla + agua destilada	0	33.33	75	25	50
<i>F. oxysporum</i>	Semilla+ cepa de <i>Trichoderma</i> + patógeno	2.15	2.69 **	91.67*	12.90 *	72.58 **
	Semilla+ patógeno + PCNB	0	8.33	85.48	16.67	75
	Semilla + patógeno	0	58.33	41.67	41.67	0
	Semilla + agua destilada	8.33	0	91.67	25	66.67
<i>V. dahliae</i>	Semilla+ cepa de <i>Trichoderma</i> + patógeno	2.69	4.3	83.33	8.06	75.27
	Semilla+ patógeno + PCNB	0	0	100	16.67	83.33 **
	Semilla + patógeno	0	41.67	58.33	50	8.33
	Semilla + agua destilada	8.33	0	91.67	16.67	75
<i>P. omnivora</i>	Semilla+ cepa de <i>Trichoderma</i> + patógeno	2.96	4.57	82.8	7.80 *	75.00 **
	Semilla+ patógeno + PCNB	8.33	8.33	83.33	33.33	50
	Semilla + patógeno	8.33	25	66.67	58.33	8.33
	Semilla + agua destilada	0	0	100	16.67	83.33

*Significancia al .05 ** Significancia al 0.001 Prueba de Kruskal-Wallis (SAS, 2007)

Cuadro 8. Evaluación de cepas de *Trichoderma* en experimento de macetas sobre plántula de tomate (*Lycopersicon esculentum*)

Patógeno	Tratamiento en macetas	Establecimiento de plántulas %	Muerte de plántulas %	% Plantas viables
<i>R. solani</i>	Plántula + cepa de <i>Trichoderma</i> + patógeno	100	1.19 **	98.81 **
	Plántula + patógeno + PCNB	100	16.67	83.33
	Plántula + patógeno	100	100	0
<i>F. oxysporum</i>	Plántula + agua destilada	100	16.67	83.33
	Plántula + cepa de <i>Trichoderma</i> + patógeno	100	2.98 **	97.02 *
	Plántula + patógeno + PCNB	100	16.67	83.33
<i>V. dahliae</i>	Plántula + patógeno	100	83.33	16.67
	Plántula + agua destilada	100	16.67	83.33
	Plántula + cepa de <i>Trichoderma</i> + patógeno	100	1.79 **	98.21 *
<i>P. omnivora</i>	Plántula + patógeno + PCNB	100	16.67	83.33
	Plántula + patógeno	100	83.33	16.67
	Plántula + agua destilada	100	16.67	83.33
<i>P. omnivora</i>	Plántula + cepa de <i>Trichoderma</i> + patógeno	100	1.79 **	98.21 *
	Plántula + patógeno + PCNB	100	16.67	83.33
	Plántula + patógeno	100	66.67	33.33
	Plántula + agua destilada	100	16.67	83.33

*Significancia al .05

** Significancia al 0.001 Prueba de Kruskal-Wallis (SAS, 2007)

EVALUACION DE *R. solani* EN MACETAS

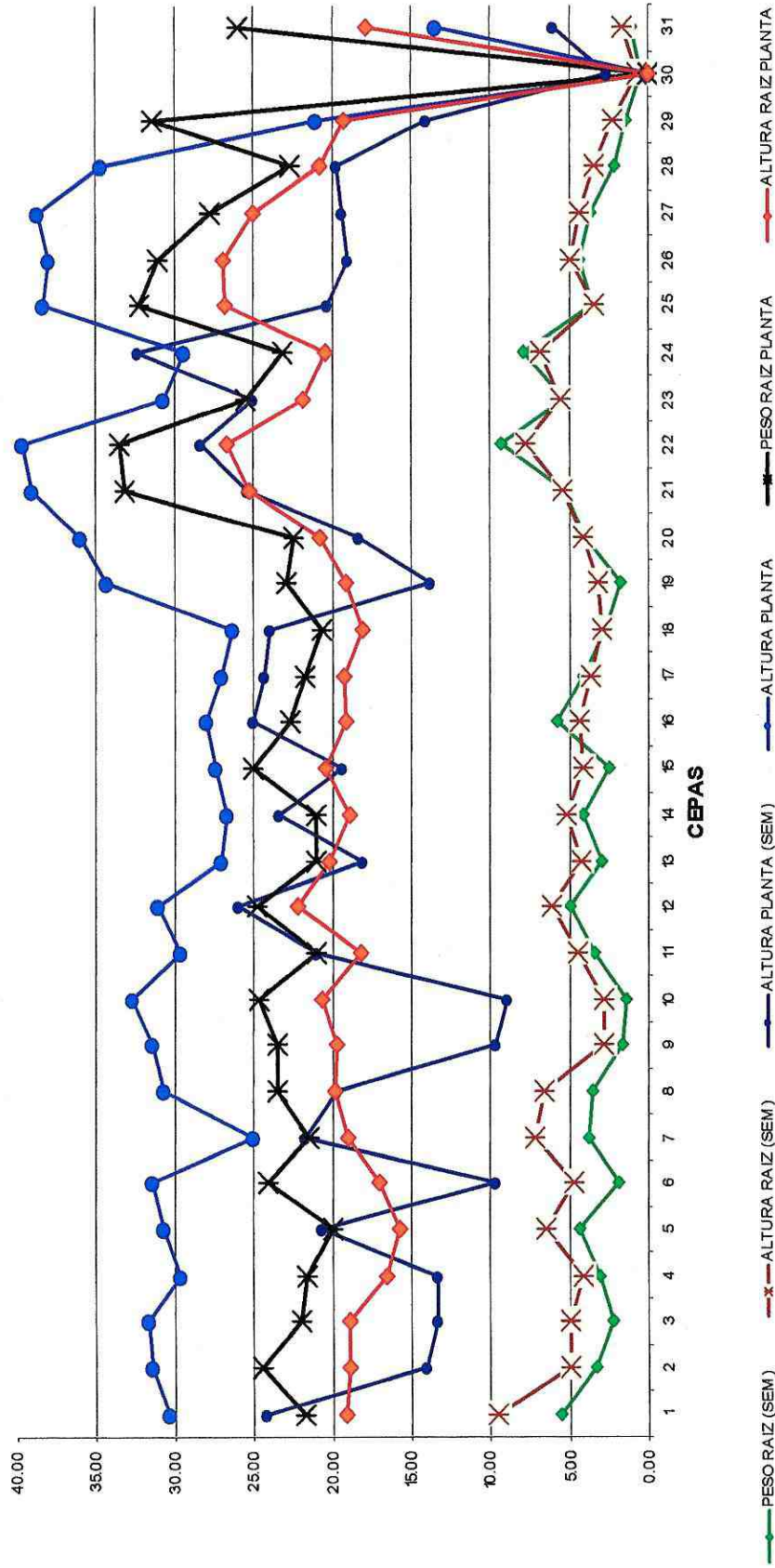


Figura 19. Evaluación de cepas de *Trichoderma* en macetas inoculadas con *R. solani*.

EVALUACION DE *F. oxysporum* EN MACETAS

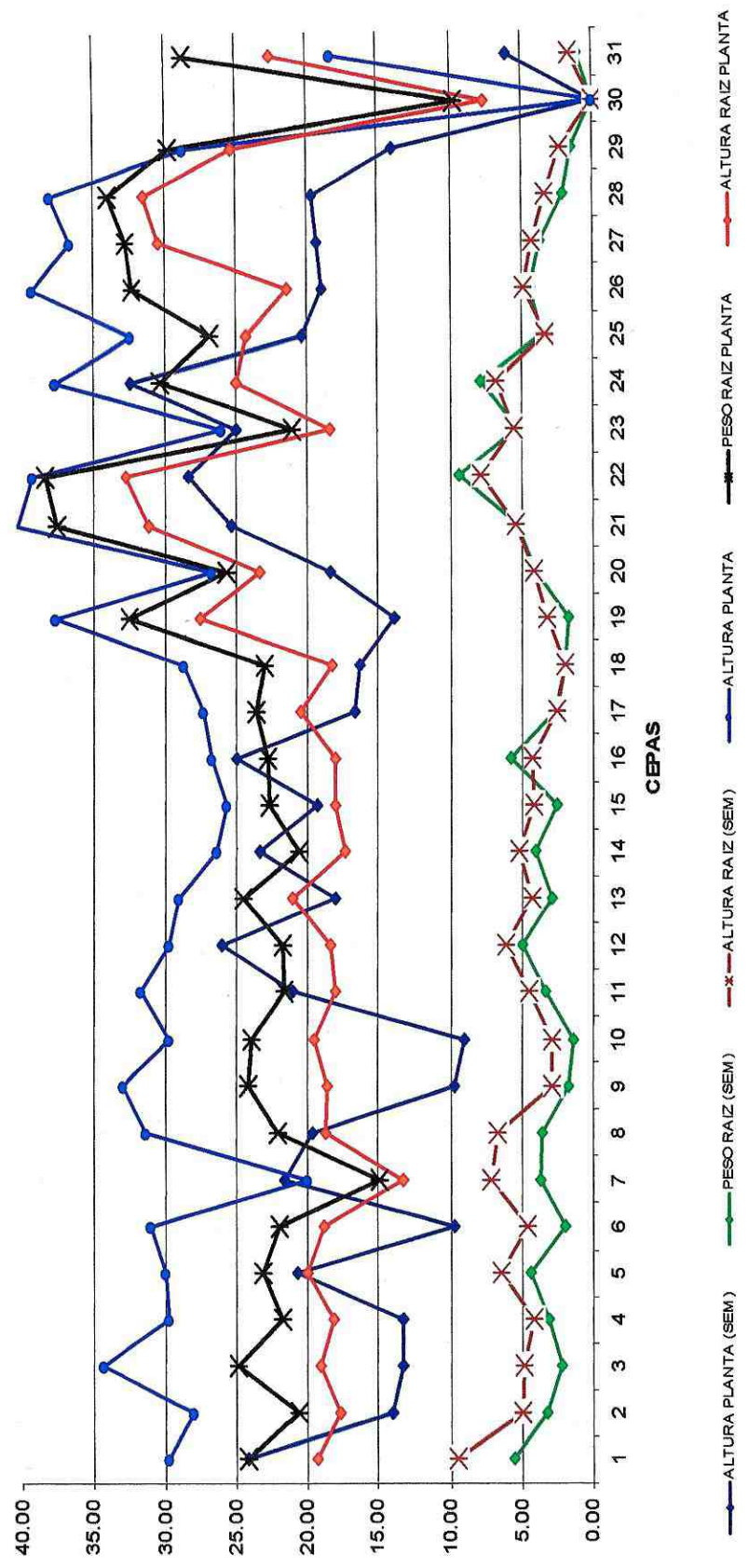


Figura 20. Evaluación de cepas de *Trichoderma* en macetas inoculadas con *F. oxysporum*.

EVALUACION DE *V. dahliae* EN MACETAS

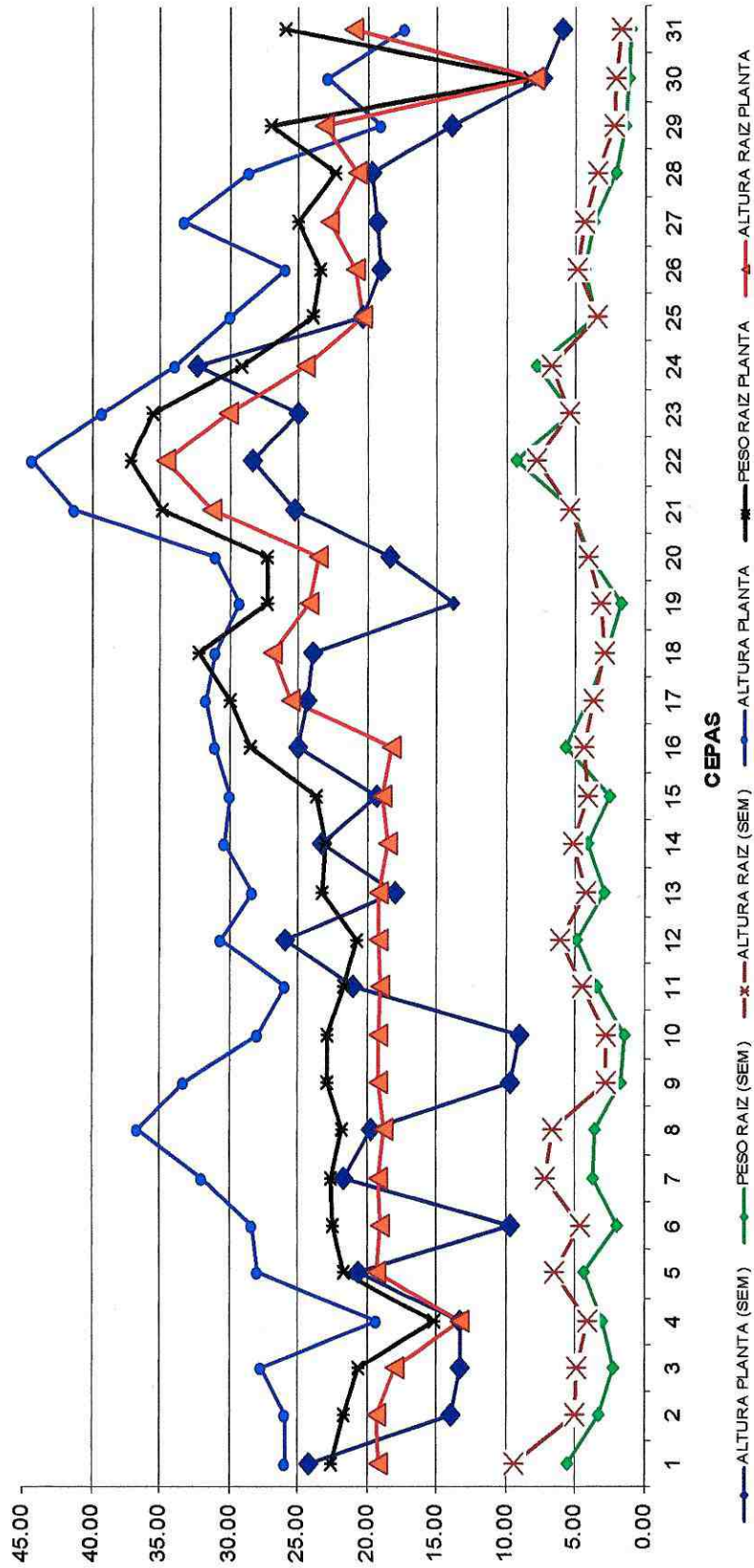


Figura 21. Evaluación de cepas de *Trichoderma* en macetas inoculadas con *V. dahliae*.

EVALUACION DE *P. omnivora* EN MACETAS

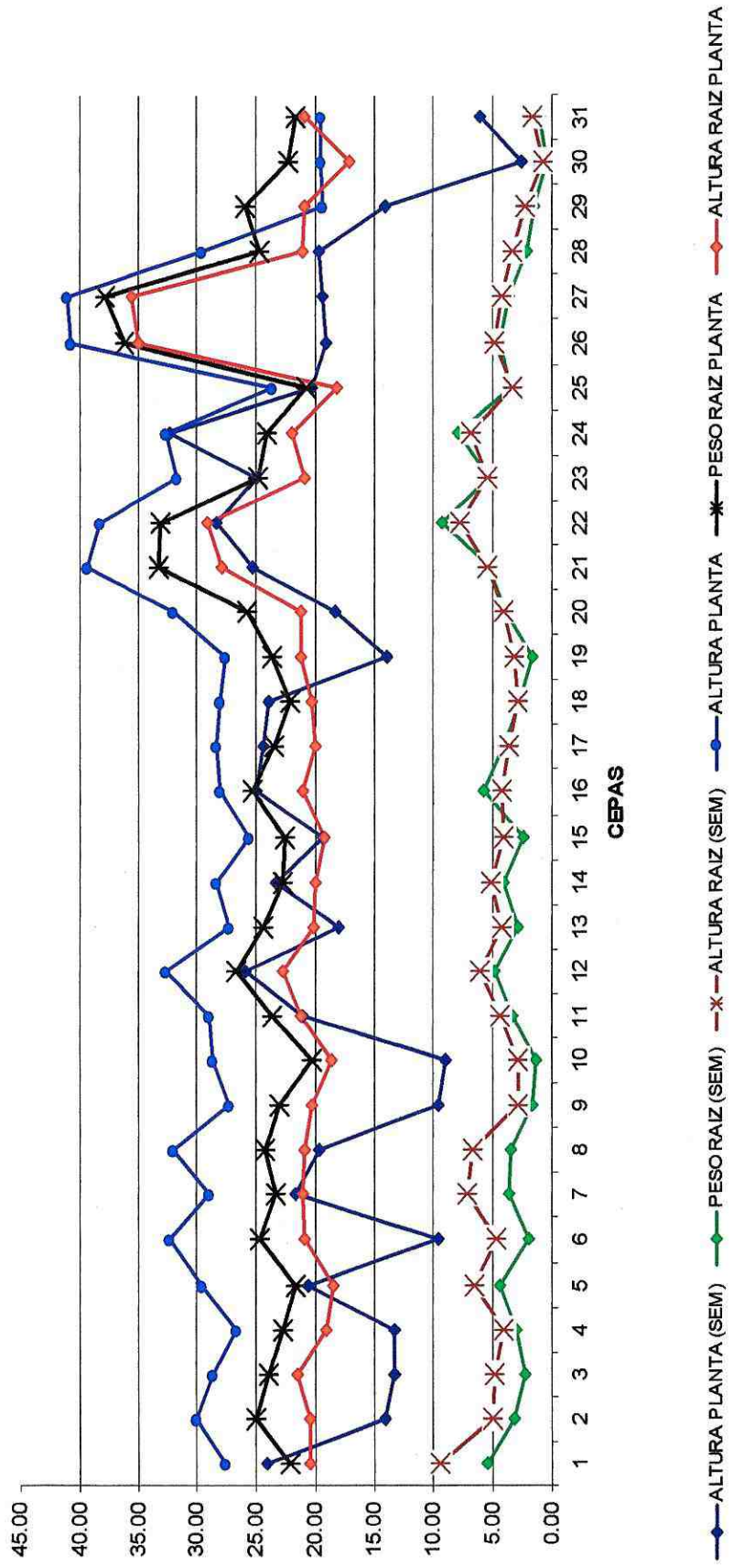


Figura 22. Evaluación de cepas de *Trichoderma* en macetas inoculadas con *P. omnivora*.

5. CONCLUSIONES

- En el grupo de cepas evaluadas de *Trichoderma* se detectaron cuatro de ellas B10, BA11 y TB21 con potencial de uso extensivo como agente bioantagónico.
- Para *R. solani* y *V. dahliae* las pruebas de antagonismo *in vitro* indicaron que el mejor desempeño correspondió a SI44, FL11, MA11, UA36, SI56.
- En la evaluación de *F. oxysporum*, y *P. omnivora in vitro*, se concluyó que las cepas que ejercieron un mayor antagonismo sobre el crecimiento de los patógenos fueron: SA12, TB21 y SI44.
- Las mejores cepas que inhibieron el micelio de los cuatro patógenos *in vitro* fueron B10, BA11, HO15 y SI56.
- Para los experimentos en siembra directa, las mejores cepas que actuaron protegiendo la emergencia y la viabilidad de las plantas así como estimulando el desarrollo de las mismas son: BA11, B10, y SI32.
- En plantas trasplantadas en macetas se obtuvieron los mejores resultados de control en los cuatro patógenos con TB21, BA11 y B10.

6. LITERATURA CITADA

- Acevedo, R. y Arcia, A. 1988. Control Biológico de *Sclerotium cepivorum* por *Trichoderma* sp., in vitro. *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.
- Agrios, N. G. 1996. *Fitopatología*. Ed. Limusa. 2ª Edición. México, D.F. pp 27-33.
- Ahmad, J. S., and Baker, R. 1988. Competitive saprophytic ability and cellulolytic activity of rhizosphere-competent mutants of *Trichoderma harzianum*. *Phytopathol.* 77:358-362.
- Akköprü, A., and Demir, S. 2005. Biological control of Fusarium wilt in tomato caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *licopersici* by AMF *Glomus intraradices* and some rhizobacteria. *J. Phytopathol* 153:544-550.
- Aranguren, M., García, A., y Grillo, H. 1994. Evaluación *In vitro* de tres aislamientos de *Trichoderma* spp. como antagonista de patógenos de post-cosecha de los frutos cítricos. *Centro Agrícola* 21:42-45.
- 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. Seminario en la Universidad Centro Occidental (UCLA). Barquisimeto, Venezuela. 20 pp.
- Arisan-Atac, I., Heidenreich, E., and Kubicek, C. P. 1995. Randomly amplified polymorphic DNA fingerprinting identifies subgroups of *Trichoderma viride* and other *Trichoderma* sp. capable of chestnut blight control. *FEMS Microbiol Lett.* 126:249-255.
- Asaka, O. and Shoda, M. 1996. Biocontrol of *Rhizoctonia solani* damping-off of tomato with *Bacillus subtilis* RB14. *Appl. Environ. Microbiol.* 62: 4081-4085
- Avendaño, C., Arbeláez, G., y Rondón, G. 2006. Control biológico del marchitamiento vascular causado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* en frijol *Phaseolus vulgaris* L., mediante la acción combinada de *Entrophospora colombiana*, *Trichoderma* sp. y *Pseudomonas fluorescens*. *Agronomía Colombiana* 24: 62-67.
- Baker, K. L., and Cook, R. J. 1983. The nature of practice of biological control plant pathogens. The American Phytopathology Society. St. Paul, Minesota, U.S.A. 539 p.
- Bautista Calles, J., García-Espinosa, R., Pérez-Moreno, J., Zavaleta-Mejía, E., Montes-Belmont, R., y Ferrera-Cerrato, R. 2008. Inducción de supresividad a fitopatógenos del suelo. Un enfoque holístico al control biológico. *Interciencia* 33:96-102.
- Bautista, L. y Acevedo, R. 1993. Producción de clamidosporas de *Trichoderma* en medio líquido. *Fitopatol. Venez.* 6:55.
- Benhamou, N., and Chet, I. 1993. Hyphal interaction between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: ultrastructure and gold chemistry of the mycoparasitic process. *Phytopathol.* 83:1062-71.
- Benítez, T., Rincon, A. M., Limon, M. C., and Codon, A. C. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *Int. Microbiol.* 7:249-260.

- Berg, G., C. Zachow, J. Lottmann, M. Götz, R. Costa, and K. Smalla. 2005. Impact of plant species and site on rhizosphere-associated fungi antagonistic to *Verticillium dahliae* Kleb. *Appl. Environ. Microbiol.* 71:203–4213.
- Berg, G., Kurze, S., Buchner, A., Wellington, E. M., and Smalla, K. 2000. Successful strategy for the selection of new strawberry-associated rhizobacteria antagonistic to *Verticillium* wilt. *Can. J. Microbiol.* 46:1128–1137.
- Bissett, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Can. J. Bot.* 69:2357-2372.
- Björkman, T., Blanchard, L. M., and Harman, G. E. 1998. Growth enhancement of shrunken-2 sweet corn by *Trichoderma harzianum* 1295-22: effect of environmental stress. *J. Am. Soc. Hort.* 123:35-40.
- Boosalis, M., and Mankau, R. 1965. Parasitism and predation of soil microorganisms. In: *Ecology of Soil - Borne Plant Pathogens*. R. W. Baker and W. C. Snyder (Eds). University of California press, Berkeley, Los Angeles. 571 pp.
- Brunner, K.I., Zeilinger, S., Ciliento, R., Woo, S.L., Lorito, M., Kubicek, C.P., and March, R.L. 2005. Improvement of the fungal biocontrol agent *Trichoderma atroviride* to enhance both antagonism and induction of plant systemic disease resistance. *App. Environ. Microbiol.* 71:3959-3965.
- Cardona, R., Rodríguez, H., y Nass, H. 2003. Distribución vertical de esclerocios y control del hongo *Macrophomina phaseolina* con el hongo antagonista *Trichoderma* spp. *Fitopatol. Venez.* 11:22-23.
- Cardona, R., y Rodríguez, H. 2006. Efecto del hongo *Trichoderma harzianum* sobre la incidencia de la enfermedad pudrición carbonosa en ajonjolí. *Rev. Fac. Agron. (LUZ)*. 23:42-48.
- Castle, A., Speranzini, D., Rghei, N., Alm, G., Rinker, D., and Bissett, J. 1998. Morphological and molecular identification of *Trichoderma* isolates on North American Mushroom farms. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:133-137.
- Chérif, M., and N. Benhamou. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp on *Fusarium oxysporum* f sp. *radicis - lycopersici*. *Phytopathology* 80:1406-1414.
- Chet, I. 1990. Mycoparasitism: recognition, physiology and ecology. En *New directions in biological control: Alternatives for suppressing agricultural pests and diseases*. Barker, R.R. and Dunn, P.E. (eds). New York, pp. 211-235.
- Chet, I. 1993. Biological control of soil-borne plant pathogens with fungal antagonists in combination with soil treatments. In: *Biological control of soil-borne plant pathogens*. D. Hornby (Ed.). C.A.B. International, Wallingford, UK. pp 15-26.
- Chet, I., and Baker, R. 1981. Isolation and biological potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathol.* 71:268–90.
- Chet, I., and Inbar, J. 1994. Biological control of fungal pathogens. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 48:3743.
- Chet, I., Harman, G. E., and Baker, R. 1981. *Trichoderma hamatum*: its hyphal interactions with *Rhizoctonia solani* and *Pythium* spp. *Microb. Ecol.* 7:29-38.
- Cobb, B. D., and Clarkson, J. M. 1994. A simple procedure for optimizing the polymerase chain reaction (PCR) using modified Tuguchi methods. *Nucleic Acids Res* 22:3801–3805.

- Cohen, S., Lewis, A., Papavizas, G., and Bean, G. 1983. Cytological investigations of chlamydo-spores of *Trichoderma* spp. (Abstracts). *Phytopathol.* 73:965.
- Cook, R. 1993. Making greater use of introduced microorganisms for biological control of plant pathogens. *Annual Review of Phytopathol.* 31:53-80.
- Cook, R. J., and Backer, K. F. 1989. The nature and practice the Biological Control of Pant Phathogenes. The American Phytopathological Society. USA. 539p.
- Cozzi, J., y Gasoni, L. 1995. Producción de biomasa de *Trichoderma harzianum* en distintos medios y condiciones de cultivo. (Resumen). *Revista Forestal Venezolana* 1:27
- Danielson, R., and Davey, C. 1973. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. *Soil Biology and Bioch.* 5:485-494.
- De Marco, J. L., Lima, L. H. C., Valle de Souza, M., and Félix, C. R. 2000. A *Trichoderma harzianum* chitinase destroys the cell wall of the phytopathogen *Crinipellis pernicioso*, the causal agent of witches broom disease of cocoa. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 16:383-386.
- Delgado-Jarana, J., Moreno-Montes, M. A., and Benítez, T. 2003. Glucose uptake in *Trichoderma harzianum*: role of gtt1. *Eukaryot Cell.* 2:708-717.
- dos Reis Almeida, F. B., Menezes Cerqueira, F., Silva, R. N., Ulhoa, C. J., and López Lima, A. 2007. Mycoparasitism studies of *Trichoderma harzianum* strains against *Rhizoctonia solani*: evaluation of coiling and hydrolytic enzyme production. *Biotechnol Lett.* 29:1189-1193.
- Dubey, S. C., and Suresh, M. 2006. Randomly Amplified Polymorphic DNA Markers for *Trichoderma* species and Antagonism Against *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceris* causing Chickpea Wilt. *J. Phytopathol.* 154:663-669.
- Duffy, B., Schouten, A. and Raaijmakers, J. M. 2003. Pathogen self-defense: mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annu. Rev. Phytopathol.* 41:501-38.
- Elad, I., Chet, I., and Katan, J., 1980. *Trichoderma harzianum*: A biocontrol agent effective against *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70:119-121.
- Elad, Y., and Chet, I. 1983. Improved selective media for isolation of *Trichoderma* spp. or *Fusarium* spp. *Phytoparasitica* 11:55-58.
- Elad, Y., Barak, R., and Chet, I. 1984. Parasitism of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum*. *Soil Biol. Biochem.* 16:381-386.
- Elad, Y., Chet, I., and Katan, J. 1980. *Trichoderma harzianum*: A Biocontrol agent affective againt *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*. *Phytopathol.* 70:119-121.
- El-Katany, M. H., Gudelj, M., Robra, K. H., Enaghy, M. A., and Gubitx, G. M. 2001. Characterization of a chitinase and an endo-1,3-glucanase from *Trichoderma harzianum* Rifae T24 involved in control of the phytopathogen *Sclerotium rolfsii*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 56:137-143.
- Esposito, E. and Da Silva, M. 1998. Systematic and environmental application of the genus *Trichoderma*. *Critical Reviews in Microbiology* 24: 89-98.
- Ezziyyani, M., Requena, M. E., Egea-Gilabert C., and Candela, M. E. 2007. Biological control of *Phytophthora* root of pepper using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rocheit* in combination. *J. Phytopathol.* 155:342-349.
- Ezziyyani, M., Pérez-Sánchez, C., Requena, M.E., Sid-Ahmed, A., and Candela, M. E. 2004. Evaluación del biocontrol de *Phytophthora capsici* en pimiento

- (*Capsicum annuum* L.) por tratamiento con *Burkholderia cepacia*. Anal Biol. 26:61–68.
- Fernández-Larrea, V. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 62:96-100.
- Food, Nutrition and Agriculture (FAO). 2003. Organization of the United Nations. Rome, Italy. Pp 26-30.
- Fujimori, F., and T. Okuda. 1993. Application of the random amplified polymorphic DNA using the polymerase chain reaction for efficient elimination of duplicate strains in microbial screening. J. Antibiot. 47:173–182.
- Garbeva, P., van Veen, J. A., and van Elsas, J.D. 2004. Microbial diversity in soil: selection of microbial populations by plant and soil type and implications for disease suppressiveness. Annu. Rev. Phytopathol. 42:243–270.
- Goes, L. B., Costa, A., Freire, B. L., and Oliveria, N. T. 2002. Randomly amplified polymorphic DNA of *Trichoderma* isolates and antagonism against *Rhizoctonia solani*. Brazilian Arch. Biol. Technol. 45:151–160.
- Gomes, N. C., Fagbola, O., Costa, R., Rumjanek, N. G., Buchner, A., Mendonca-Hagler, L., and Smalla, K. 2003. Dynamics of fungal communities in bulk and maize rhizosphere soil in the tropics. Appl. Environ. Microbiol. 69:3758–3766.
- Gómez, I., Chet, I., and Herrera-Estrella, A. 1997. Genetic diversity and vegetative compatibility among *Trichoderma harzianum* isolates. Mol. Gen. Genet. 256:127–135.
- González, R., Montealegre, J., y Herrera, R. 2004. Control biológico de *Fusarium solani* en tomate mediante el empleo de los bioantagonistas *Paenibacillus lentimorbus* y *Trichoderma* spp. Ciencia e Investigación Agraria 31:21-28.
- González Salgado, C. H., Puertas-Arias, A., Fonseca-Flores, M., Suárez-Soto, E., and Blaya-Gómez, R. 1999. Antagonistic activity of *Trichoderma* sp. isolated from a soil of the Granma province, Cuba against *Alternaria solani* Sor. Rev. Fac. Agron. (LUZ) 16:167-173.
- Graner, G., Persson, P., Meijer, J., and Alstrøm, S. 2003. A study on microbial diversity in different cultivars of *Brassica napus* in relation to its wilt pathogen, *Verticillium longisporum*. FEMS Microbiol. Lett. 29:269–276.
- Grishkan, I., Zaady, E. and Nevo, E. 2006. Soil crust microfungi along a southward rainfall gradient in desert ecosystems. European Journal of Soil Biology 42:33–42.
- Gudmestad, N. 1999. *Rhizoctonia* canker of potato [en línea]. Department of Plant Pathology. North Dakota State University. <http://IIIAV.rhizotext.htm>. [fecha de consulta 12/03/2004].
- Handelsman, J., and Stabb, E. V. 1996. Biocontrol of soilborne plant pathogens. Plant Cell 8:1855-1869.
- Harman, G. E., and Shores, M. 2007. The mechanisms and applications of symbiotic opportunistic plant symbionts. Pp 131–155. In: Vurro, M., and J. Gressel (eds.), Novel Biotechnologies for Biocontrol Agent Enhancement and Management. USA.
- Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathol. 96:190-194.
- Harman, G. E., Chet, I., and Baker, R. 1981. Factors affecting *Trichoderma hamatum* applied to seed as a biocontrol agent. Phytopathol. 71:569-572.
- Harman, G. E., Howell, C.R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species—Opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat. Rev. Microbiol. 2:43-56.

- Harman, G. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant Disease* 84:377-393.
- Harman, G. E. 2001. Microbial tools to improve crop performance and profitability and to control plant diseases.p. 71-84. In Tzeng D. D, and Huang, J. W. (Eds.), *Proceedings of International Symposium on Biological Control of Plant Diseases for the New Century. Mode of Action and Application Technology*. Taichung City, Taiwan: National Chung Hsing University.
- Harman, G. E., Haynes, C.K., Lorito, M., Broadway, R.M., di Pietro, A., Peterbauer, C., and Tronsmo, A. 1993. Chitinolytic enzymes of *Trichoderma harzianum*: purification of chitobiosidase and endochitinase. *Phytopathol.* 83:313-318.
- Hermosa, M. R., Grondona, I., Iturriaga, E. A., Diaz-Minguez, J.M., Castro, C., Monte, E., and Garcia-Acha, I. 2000. Molecular characterization and identification of biocontrol Isolates of *Trichoderma* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 66:1890-1898.
- Hermosa, M. R., Keck, E., and Chamorro, I. 2004. Genetic diversity shown in *Trichoderma* biocontrol isolates. *Mycol Res* 108:897-906.
- Hernández H., V. 1987. Effects of cultivar, seed quality, pathogen virulence, inoculum density, and seed 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.
- Heuer, H., Kroppenstedt, R., Lottmann, J., Berg, G., and Smalla, K. 2002. Effects of T4 lysozyme release from transgenic potato roots on bacterial rhizosphere communities are negligible relative to natural factors. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:1325-1335.
- Hjeljord, L. and Tronsmo, A. 1998. *Trichoderma* and *Gliocladium* in biological control: an overview. In Harman G.E., Kubicek CP, ed. *Trichoderma and Gliocladium*. London: Taylor and Francis, p. 131-52.
- Howell, C. R. and Stipanovic, R. D. 1995. Mechanisms in the biocontrol of *Rhizoctonia solani* induced cotton seedlings disease by *Gliocladium virens*: antibiosis. *Phytopathol.* 85:469-472.
- Howell, C.R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: the history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87:4-10.
- Inbar, J. and Chet, I. 1992. Biomimics of fungal cell-cell recognition by use of lectin-coated nylon fibers. *J. Bacteriology* 74:1055-1059.
- Inbar, J. and Chet, I. 1994. A newly Isolated lectin from the plant pathogenic fungus *Sclerotium rolfsii*: purification, characterization and role in mycoparasitism. *Microbiology* 140 (pt 3): 651-657.
- Inbar, J., Abramsky, M., Cohen, D., and Chet, I. 1994. Plant growth enhancement and disease control by *Trichoderma harzianum* in vegetable seedlings grown under commercial conditions. *European Journal of Plant Pathology.* 100: 337-346.
- Innocenti, G., Roberti, R., Montanari, M., and Zakrissom, E. 2003. Efficacy of microorganisms antagonistic to *Rhizoctonia cerealis* and their cell degrading enzymatic activities. *Mycol. Res.* 107:421-427.
- Kendrick, B.W., and Carmichael, J.W. 1973. Hyphomycetes. In *The Fungi; An Advanced Treatrise*. Ed by G.C. Ainsworth. commonwealth mycological institute Kew, Surrey, England. 4:323-352.

- 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
- Krechel, A., Faupel, A., Hallmann, J., Ulrich, A., and Berg, G. 2002. Potato associated bacteria and their antagonistic potential towards plant-pathogenic fungi and the plant-parasitic nematode *Meloidogyne incognita* (Kofoid & White) Chitwood. *Can. J. Microbiol.* 48:772-786.
- Kubicek, C. P., Mach, R. L., Peterbauer, C. K., and Lorito, M. 2001. *Trichoderma*: from genes to biocontrol. *J. Plant Pathol.* 83:11-24.
- Latha, J., Verma, A., and Prasun. K. M. 2002. PCR-fingerprinting of some *Trichoderma* isolates from two Indian type culture collections – a need for re-identification of these economically important fungi. *Current Science* 83:372-374.
- Lifshitz, R., Windham, M.T., and Baker, R. 1985. Mechanism of biological control of preemerge damping-off of pea by seed treatment with *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 76:720-725.
- Lindsey, D. L. and Backer, R. 1967. Effects of certain fungi on dwarf tomatoes grown under gnotobiotic conditions. *Phytopathol.* 57:1262-1263.
- Lorito, M., Woo, S.L., D'Ambrosio, M., Harman, G.E., Hayes, C.K., Kubicek, C.P., and Scala, F. 1996. Synergistic interaction between cell wall degrading enzymes and membrane affecting compounds. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 9:206-213.
- Lorito, M., Harman, G., Hayes, C., Broadway, R., Tronsmo, A., Woo, S., and Di Pietro, A. 1993. Chitinolytic enzymes produced by *Trichoderma harzianum*: antifungal activity of purified endochitinase and chitobiosidase. *Phytopathol.* 83: 302-307.
- Lumsden, R. D., Locke, J. C., Adkins, S. T., Walter, J. F., and Ridout, C. J. 1992. Isolation and localization of the antibiotic gliotoxin produced by *Gliocladium virens* from alginate prill in soil and soilless media. *Phytopathol.* 82: 230- 235.
- Lynch, J. M., Lumsden, R. D., Atkey, P. T. and Ousley, M. A. 1991. Prospects for control of *Pythium* damping-off of lettuce with *Trichoderma*, *Gliocladium*, and *Enterobacter* spp. *Biology and Fertility of Soils* 12: 95-99.
- Matthias, P., Feichtinger, G., De'fago, G., and Duffy, B. 2003. Mycotoxigenic *fusarium* and deoxynivalenol production repress chitinase gene expression in the biocontrol agent *Trichoderma atroviride* p1. *Applied and environmental microbial.* 69:3077-3084.
- McAllister, C. B., García Romera, I., Godeas, A., y Ocampo, J. A. 1994. *In vitro*: interactions between *Trichoderma koningii*, *Fusarium solani* and *Glomus mosseae*. *Soil Biol. Biochem.* 26:1369-1374.
- McLean, K. L., Swaminathan, J., Frampton, C.M., Hunt, J.S., Ridgway, H.J., and Stewart, A. 2005. Effect of formulation on the rhizosphere competence and biocontrol ability of *Trichoderma atroviride* C52. *Plant Pathology* 54:212-218.
- Mwafaida J. M., Takashi, T., Natsuki, K., Mayumi, K., and Mitsuro, H. 2007. Selective accumulation of *Trichoderma* species in soils suppressive. *J. Gen. Plant Pathol.* 73:250-259
- Naar, Z., and Kecskès, M. 1995. A method for selecting *Trichoderma* strains antagonistic against *Sclerotium miror*. *Microbiol. Research* 150:239-46.
- Nelson, E. E., Pearce, M. H., and Malajczuk, N. 1995. Effects of *Trichoderma* spp. and ammonium sulphamate on establishment of *Armillaria luteobubalina* on stumps of *Eucalyptus diversicolor*. *Mycol. Res.* 99: 957-962.

- Olsen, M. W., Hine, R.B., and Dutt, G.R. 1988. Control of *Phymatotrichum* root rot of wine grapes in calcareous soils with ammonium-thiosulfate applied in drip irrigation systems. *Phytopathology* 78:1521.
- Paez, M. E. y Sanabria de Albarracín, N. 2007. Evaluación de la capacidad antagónica de *Trichoderma koningii* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. *Rev. Fav. Agron. (LUZ)*. 24: 27-31.
- Papavizas, G. C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: biology, ecology, and potential for biocontrol. *Ann. Rev. of Phytopathol.* 23: 23-54.
- 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* 1:47.
- Raaijmakers, J. M., Vlami, M., and de Souza, J. T. 2002. Antibiotic production by bacterial biocontrol agents. *Antonie van Leeuwenhoek* 81:537-47.
- Reiter, B., Pfeifer, U., Schwab, H., and Sessitsch, A. 2002. Response of endophytic bacterial communities in potato plants to infection with *Erwinia carotovora* subsp. *atroseptica*. *Appl. Environ. Microbiol.* 68:2261-2268.
- Rey, M., Delgado-Jarana, J., Rincón, A. M., Limón, M. C. y Benítez, T. 2000. Mejora de cepas de *Trichoderma* para su empleo como biofungicidas. *Rev. Iberoam. Micol.* 17: S31-S36.
- Ridout, C. J., Coley-Smith, J. R., and Lynch, J. M. 1986. Enzyme activity and electrophoretic profile of extracellular protein induced in *Trichoderma* spp. By cell walls of *Rhizoctonia solani*. *J. Gen. Microbiol.* 132: 2345-2352.
- Rivera-Cruz, M. A., Ferrera-Cerrato, R., Volke-Haller, V., Rodríguez-Vázquez, R., y Fernández-Linares, L. 2002. Adaptación y selección de microorganismos autóctonos en medios de cultivos enriquecidos con petróleo crudo. *Terra* 20: 423-434.
- Rodríguez, F., Almandoz, J., y Parra, J. 1997. Efectividad de *Trichoderma harzianum* (Hordi) en la reducción de la incidencia de *Pseudoperonospora cubensis* (Berk. y Curt.) Rostow en el cultivo del pepino. Resumen. Libro de Conferencias y Resúmenes cortos del V Encuentro Nacional Científico Técnico de Bioplaguicidas. p. 58. Ciudad de La Habana, Cuba.
- Samaniego Gaxiola, J. A., Ulloa, S. M., y Herrera, S. T. 1988. Micobiota del suelo en huertas de nogal atacadas por *Phymatotrichum omnivorum*. *Revista Mexicana de Micología* 4:43-57.
- Samaniego-Gaxiola, J. A. y Chew-Madinaveitia, Y. 2007. Diversidad de géneros de hongos del suelo en tres campos con diferente condición agrícola en La Laguna, México. *Revista Mexicana de Biodiversidad* 78:383-390.
- Samaniego-Gaxiola, J. A., Chew Madinaveitia, Y. I., y Jiménez Díaz, F. 2000. Control del hongo *Rhizoctonia solani* que afecta la alfalfa en su establecimiento. INIFAP Programa de Fitopatología. Campo Experimental La Laguna, Km 17.5 Carr. Torreón-Matamoros. Matamoros, Coah.
- Sandoval, I., López, M., García, D., and Mendoza, I. 1995. *Trichoderma harzianum* (cepa A-34). Un biopreparado de amplio espectro para micopatologías del tomate y del pimiento. *Boletín Técnico* N° 3. p.7-14.
- Santander, C., Montealegre, J. R., y Herrera, R. 2003. Control biológico de *Rhizoctonia solani* en tomate en suelos previamente sometidos a solarización y bromuro de metilo. *Cien. Inv. Agr.* 30:107-112.
- Sessitsch, A., Reiter, B., and Berg, G. 2004. Endophytic bacterial communities of field-grown potato plants and their plant growth-promoting abilities. *Can. J. Microbiol.* 50:239-249.

- Sivaramakrishnan, S., Kannan, S., and Singh, S. D. 2002. Genetic variability of Fusarium wilt pathogen isolates of chickpea (*Cicer arietinum* L.) assessed by molecular markers. *Mycopathologia* 155:171-178.
- Statistic Analyses system (SAS). 1990. SAS/STAT User's Guide. Version 8.1. Cary, NC, USA: SAS Institute Inc.
- 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.
- Suton, J., and Peng, G. 1993. Manipulation and vectoring of biocontrol organisms to manage foliage and fruit disease in cropping systems. *Ann. Rev. of Phytopathol.* 31:473-493.
- Thrane, C., Lübeck, M., Degefu, Y., Allerup, S., Trane, U., and Funck-Jensen, D. 1997. A tool for monitoring *Trichoderma harzianum*: I transformation with the GUS gene by protoplast technology. *Phytopathology* 85:1428-1435.
- Tjamos, E. C., Tsitsigiannis, D.I., Tjamos, S.E., Antoniou, P., and Katinakis, P. 2004. Selection and screening of endorhizosphere bacteria from solarised soils as biocontrol agents against *Verticillium dahliae* of solanaceous hosts. *Eur. J. Plant Pathol* 110:35-44.
- to radish damping-off disease after repeated inoculations with
- Turoczi, G., Fekete, C., Kerenyi Z., Nagy, R., Ponazi, A., and Hornok, L. 1996. Biological and molecular characterization of potential biocontrol strains of *Trichoderma*. *J. Basic Microbiol* 36:63-72.
- Ulacio, D., Salas, J., Querales, P., y Sanabria, M. E. 2002. Micobiota del suelo de zonas productoras de papa del estado Mérida y su relación con *Rhizoctonia solani*. *Bioagro* 14: 11-16.
- Varese, G. C., Gonthier, P., and Nicolotti, G. 2003. Long-term effects on other fungi are treatments in the fight against. *Mycologia* 95: 379-387.
- Villegas Arenas, M. A. 2005. *Trichoderma* pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. *Fitotecnia* 87:182-189.
- Wan, J., Dunning, F. M., and Bent, A. F. 2002. Probing plant-pathogen interactions and downstream defense signaling using DNA microarrays. *Funct. Integr. Genomics.* 2:259-273.
- Wells, H., Bell, D., and Jaworski, C. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 62:442-447.
- Welsh, J., and McClelland, M. 1990. Fingerprints genomes using PCR with arbitrary primers. *Nucleic Acids Res.* 18:7213-7218.
- Whipps, J. 2001. Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere. *J. Exp. Bot.* 52:487-511.
- Whipps, J. M., and 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. Pp 25-26.
- Whipps, J. M., and Lumsden, R.D. 1991. Biological control of *Pythium* species. *Biocontrol Science and Technology* 1:75-90.
- Wilhite, S.E., Lumsden, R. D., and Straney, D. C. 1994. Mutational analysis of gliotoxin production by the biocontrol fungus *Gliocladium virens* in relation to supression of *Pythium* damping-off. *Phytopathol.* 84: 816-821.
- Williams, J., Kubelik, G.K., Livak, A.R., Rafalski, K.J., and Tingey, S.V. 1990. DNA polymorphisms amplified by arbitrary primers are useful as genetic markers. *Nucleic Acids Res.* 18:6531-6535.

- Windham, M., Elad, T., and Baker, R. 1986. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. *Phytopathology*. 76:518-521.
- Zimand, G., Valinsky, L., Elad, Y., Chet, I., and Manulis, S. 1994. Use of the RAPD procedure for the identification of *Trichoderma* strains. *Mycol. Res.* 98: 531-534.

R. solani antagonismo 20:05 Friday, January 2, 1998 1

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	28	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28

Number of observations 84

R. solani 20:05 Friday, January 2, 1998 2

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: antagonismo

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	27	2.80333690	0.10382729	0.86	0.6607
Error	56	6.77193333	0.12092738		
Corrected Total	83	9.57527024			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	ant Mean
0.292768	6.837865	0.347746	5.085595

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	27	2.80333690	0.10382729	0.86	0.6607

solani 20:05 Friday, January 2, 1998

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	56
Error Mean Square	0.120927
Critical Value of t	2.00324
Least Significant Difference	0.5688

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	trat
A	5.3300	3	4
A			
A	5.3233	3	11

	A				
	A	5.2667	3	10	
	A				
	A	5.2367	3	14	
	A				
	A	5.2367	3	8	
	A				
	A	5.2200	3	13	
	A				
	A	5.2067	3	5	
	A				
	A	5.2000	3	12	
	A				
	A	5.1900	3	25	
	A				
	A	5.1900	3	24	
	A				
B	A	5.1667	3	26	
B	A				
B	A	5.1567	3	7	
B	A				
B	A	5.1567	3	27	
B	A				
B	A	C	5.1300	3	19
B	A	C			
B	A	C	5.1100	3	18
B	A	C			
B	A	C	5.1000	3	15
B	A	C			
B	A	C	5.0967	3	28
B	A	C			
B	A	C	5.0833	3	16
B	A	C			
B	A	C	5.0733	3	22
B	A	C			
B	A	C	5.0700	3	17
B	A	C			
B	A	C	5.0700	3	21
B	A	C			
B	A	C	5.0267	3	3
B	A	C			
B	A	C	4.9667	3	1
B	A	C			
B	A	C	4.9200	3	20
B	A	C			
B	A	C	4.8767	3	23
B	A	C			
B	A	C	4.8067	3	6
B		C			
B		C	4.6133	3	9
		C			
		C	4.5733	3	2

F. oxysporum 20:05 Friday, January 2, 1998 5

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29
ant	19	4.82 5.02 5.21 5.28 5.32 5.35 5.39 5.43 5.46 5.5 5.53 5.57 5.6 5.64 5.67 5.71 5.74 5.77 5.84

Number of observations 87

F. oxysporum 20:05 Friday, January 2, 1998 6

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: antagonismo

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	28	2.29833333	0.08208333	9.24	<.0001
Error	58	0.51540000	0.00888621		
Corrected Total	86	2.81373333			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	ant Mean
0.816827	1.714979	0.094267	5.496667

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	28	2.29833333	0.08208333	9.24	<.0001

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for antagonismo

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	58
Error Mean Square	0.008886
Critical Value of t	2.00172
Least Significant Difference	0.1541

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	trat
A	5.74000	3	29
A			

V. dahliae 20:05 Friday, January 2, 1998 9

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	28	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28

Number of observations 84

V. dahliae 20:05 Friday, January 2, 1998 10

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: antagonismo

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	27	3.04503214	0.11277897	0.99	0.4983
Error	56	6.38866667	0.11408333		
Corrected Total	83	9.43369881			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	ant Mean
0.322782	6.460081	0.337762	5.228452

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	27	3.04503214	0.11277897	0.99	0.4983

t Tests (LSD) for antagonismo

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	56
Error Mean Square	0.114083
Critical Value of t	2.00324
Least Significant Difference	0.5525

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	trat
A	5.4767	3	4
A			
A	5.4667	3	11

	A				
	A	5.4100	3	10	
	A				
	A	5.3800	3	14	
	A				
	A	5.3767	3	8	
	A				
	A	5.3633	3	13	
	A				
	A	5.3433	3	12	
	A				
	A	5.3300	3	25	
	A				
	A	5.3300	3	24	
	A				
	A	5.3067	3	26	
	A				
	A	5.3033	3	5	
	A				
B	A	5.2967	3	27	
B	A				
B	A	5.2933	3	7	
B	A				
B	A	5.2933	3	1	
B	A				
B	A	5.2700	3	19	
B	A				
B	A	5.2700	3	28	
B	A				
B	A	5.2500	3	18	
B	A				
B	A	5.2400	3	15	
B	A				
B	A	5.2233	3	16	
B	A				
B	A	5.2133	3	17	
B	A				
B	A	5.2133	3	22	
B	A				
B	A	5.2100	3	21	
B	A				
B	A	C	5.1433	3	3
B	A	C			
B	A	C	5.0533	3	20
B	A	C			
B	A	C	5.0067	3	23
B	A	C			
B	A	C	4.9333	3	6
B		C			
B		C	4.7467	3	9
		C			
		C	4.6533	3	2

P. omnivoira 20:05 Friday, January 2, 1998 13

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	29	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29
ant	14	5.74 7.52 7.66 7.76 7.81 7.85 7.9 7.95 7.99 8.04 8.08 8.13 8.18 8.22

Number of observations 87

P. omnivore 20:05 Friday, January 2, 1998 14

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: antagonismo

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	28	15.48864828	0.55316601	38.96	<.0001
Error	58	0.82353333	0.01419885		
Corrected Total	86	16.31218161			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	ant Mean
0.949514	1.506981	0.119159	7.907126

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	28	15.48864828	0.55316601	38.96	<.0001

t Tests (LSD) for antagonismo

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	58
Error Mean Square	0.014199
Critical Value of t	2.00172
Least Significant Difference	0.1948

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	trat
A	8.14667	3	26
A			

	B			A				8.11667	3	23
	B			A				8.11333	3	22
	B			A				8.10000	3	4
	B			A		C		8.09667	3	27
	B	D		A		C		8.07000	3	5
E	B	D		A		C		8.07000	3	7
E	B	D		A		C		8.06667	3	17
E	B	D		A		C		8.06667	3	8
E	B	D		A		C		8.05333	3	25
E	B	D		A		C		8.04000	3	28
E	B	D		A		C		8.03667	3	19
E	B	D		A		C		8.02333	3	6
E	B	D		A		C	F	7.99333	3	21
E	B	D		A	G	C	F	7.99000	3	20
E	B	D		A	G	C	F	7.97667	3	16
E	B	D	H	A	G	C	F	7.96333	3	11
E	B	D	H	A	G	C	F	7.96333	3	1
E	B	D	H	A	G	C	F	7.94667	3	10
E	B	D	H		G	C	F	7.92667	3	24
E	B	D	H		G	C	F	7.91667	3	12
E		D	H		G	C	F	7.90333	3	13
E		D	H		G		F	7.90333	3	2
E		D	H		G		F	7.88333	3	18
E		D	H		G		F	7.83667	3	14
			H		G		F	7.80333	3	15
			H		G		F	7.78667	3	9
			H		G		F	7.77333	3	3
			H		G		F	5.74000	3	29
				J						

INHIBICIÓN DE patógenos con cepas de *Trichoderma*
12:45 Monday, May 7, 2007

Procedimiento ANOVA

Información de nivel de clase

Clase	Niveles	Valores
Patógeno	4	1 2 3 4
cepa	28	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28
rep	3	1 2 3

Número de observaciones leídas 336
Número de observaciones usadas 336

INHIBICIÓN DE Patógenos con cepas de *Trichoderma* 94
12:45 Monday, May 7, 2007

Procedimiento ANOVA

Variable dependiente: resp

Fuente	DF	Suma de cuadrados	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	111	1803.144609	16.244546	1.85	<.0001
Error	224	1971.631067	8.801924		
Total correcto	335	3774.775676			

R-cuadrado 0.477683
Coef Var 3.690526
Raiz MSE 2.966804
resp Media 80.38973

Fuente	DF	Anova SS	Cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Patógeno	3	438.3856128	146.1285376	16.60	<.0001
cepa	27	836.1293676	30.9677544	3.52	<.0001
patogeno*cepa	81	528.6296289	6.5262917	0.74	0.9407

Procedimiento ANOVA

t Tests (LSD) para resp

NOTA: Este test controla el índice de error comparisonwise de tipo I, no el índice de error experimentwise.

Alfa

0.05

Error de grados de libertad	224
Error de cuadrado medio	8.801924
Valor crítico de t	1.97061
Diferencia menos significativa	0.9021

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

t Agrupamiento	Media	Número de observaciones	patógeno
A	82.1427	84	4
B	80.6499	84	3
C	79.5440	84	2
C			
C	79.2223	84	1

INHIBICIÓN DE Fitopatógenos del suelo con cepas de *Trichoderma*

96

12:45 Monday, May 7, 2007

Procedimiento ANOVA

t Tests (LSD) para resp

NOTA: Este test controla el índice de error comparisonwise de tipo I, no el índice de error experimentwise.

Alfa	0.05
Error de grados de libertad	224
Error de cuadrado medio	8.801924
Valor crítico de t	1.97061
Diferencia menos significativa	2.3868

Medias con la misma letra no son significativamente diferentes.

t Agrupamiento	Media	Número de observaciones	cepa
A	83.014	12	20
A			
B	82.418	12	17
B			
B	82.418	12	10
B			
B	82.418	12	16
B			
B	82.418	12	12
B			
B	82.256	12	22
B			
B	82.192	12	21
B			

	B		A	C	81.564	12	24
	B		A	C			
	B	D	A	C	81.361	12	4
	B	D	A	C			
E	B	D	A	C	81.047	12	25
E	B	D	A	C			
E	B	D	A	C	80.856	12	8
E	B	D	A	C			
E	B	D	A	C	80.776	12	13
E	B	D	F	C			
E	B	D	F	C	80.588	12	26
E	B	D	F	C			
E	B	D	F	C	80.443	12	14
E	B	D	F	C			
E	B	D	F	C	80.413	12	18
E	B	D	F	C			
E	B	D	F	C	80.328	12	11
E	B	D	F	C			
E	B	D	F	C	80.305	12	3
E	B	D	F	C			
E	H	D	F	C	79.778	12	5
E	H	D	F	C			
E	H	D	F	I	79.425	12	1
E	H	D	F	I			
E	H	D	F	I	79.327	12	6
E	H	D	F	I			
E	H	D	F	I	79.301	12	15
E	H	D	F	I			
E	H	D	F	I	79.201	12	19
E	H	D	F	I			
E	H	D	F	I	79.008	12	27
E	H	D	F	I			
E	H	D	F	I	78.699	12	23
E	H	D	F	I			
E	H	D	F	I	78.278	12	9
E	H	D	F	I			
E	H	D	F	I	78.003	12	7
E	H	D	F	I			
E	H	D	F	I	77.894	12	2
E	H	D	F	I			
E	H	D	F	I	77.188	12	28

Procedimiento ANOVA

Nivel de patógeno	Nivel de cepa	Número de observaciones	-----resp-----	
			Media	Desviación estándar
1	1	3	78.9833333	0.9064399
1	2	3	76.6866667	4.5001593
1	3	3	79.8533333	3.4929691
1	4	3	80.7333333	1.9687644
1	5	3	78.8533333	3.7462559
1	6	3	78.7166667	3.0331557
1	7	3	69.5766667	10.6463390
1	8	3	75.7233333	10.6463390

1	9	3	76.7333333	1.9235731
1	10	3	81.8700000	0.0000000
1	11	3	79.5066667	0.9064399
1	12	3	81.8700000	0.0000000
1	13	3	79.5966667	1.9687644
1	14	3	79.1366667	2.4656507
1	15	3	76.8400000	5.1541925
1	16	3	81.8700000	0.0000000
1	17	3	81.8700000	0.0000000
1	18	3	79.5966667	1.9687644
1	19	3	77.9666667	4.1719340
1	20	3	84.2566667	4.9974627
1	21	3	82.6666667	1.3798671
1	22	3	81.2233333	0.5600298
1	23	3	76.9833333	8.4639549
1	24	3	81.5466667	0.5600298
1	25	3	80.7333333	1.9687644
1	26	3	80.7333333	1.9687644
1	27	3	79.4666667	4.1626954
1	28	3	74.6300000	4.2435245
2	1	3	78.1033333	2.1275416
2	2	3	76.0733333	5.5492912
2	3	3	79.8533333	3.4929691
2	4	3	80.7333333	1.9687644
2	5	3	78.8533333	3.7462559
2	6	3	77.9666667	4.1719340
2	7	3	80.2733333	2.7655078
2	8	3	81.8700000	0.0000000
2	9	3	76.7333333	1.9235731
2	10	3	81.8700000	0.0000000
2	11	3	79.5066667	0.9064399
2	12	3	81.8700000	0.0000000
2	13	3	79.5966667	1.9687644
2	14	3	79.1366667	2.4656507
2	15	3	79.1366667	2.4656507
2	16	3	81.8700000	0.0000000
2	17	3	81.8700000	0.0000000
2	18	3	79.5966667	1.9687644
2	19	3	77.6233333	4.7209356
2	20	3	81.8700000	0.0000000
2	21	3	81.5466667	0.5600298
2	22	3	81.8700000	0.0000000
2	23	3	76.9833333	8.4639549
2	24	3	80.7333333	1.9687644
2	25	3	80.2733333	2.7655078
2	26	3	79.5966667	1.9687644
2	27	3	77.1933333	2.1939310
2	28	3	74.6300000	4.2435245
3	1	3	79.3766667	1.8957936
3	2	3	77.5800000	4.9250076
3	3	3	80.9333333	3.1119180
3	4	3	81.7200000	1.7493713
3	5	3	80.0433333	3.3355259
3	6	3	79.2600000	3.7096226
3	7	3	81.3066667	2.4652856
3	8	3	82.7300000	0.0000000
3	9	3	78.1566667	1.7152356
3	10	3	82.7300000	0.0000000

3	11	3	80.6266667	0.8025169
3	12	3	82.7300000	0.0000000
3	13	3	80.7100000	1.7493713
3	14	3	80.2966667	2.1966414
3	15	3	80.2966667	2.1966414
3	16	3	82.7300000	0.0000000
3	17	3	82.7300000	0.0000000
3	18	3	80.7100000	1.7493713
3	19	3	78.9566667	4.1946911
3	20	3	82.7300000	0.0000000
3	21	3	82.1200000	1.0565510
3	22	3	82.7300000	0.0000000
3	23	3	78.3966667	7.5055535
3	24	3	81.7200000	1.7493713
3	25	3	81.3066667	2.4652856
3	26	3	80.7100000	1.7493713
3	27	3	78.5700000	1.9572174
3	28	3	76.2900000	3.7585503
4	1	3	81.2366667	0.7505553
4	2	3	81.2366667	0.7505553
4	3	3	80.5800000	2.5215670
4	4	3	82.2566667	1.6339013
4	5	3	81.3633333	2.0076437
4	6	3	81.3633333	2.0076437
4	7	3	80.8533333	1.4145082
4	8	3	83.1000000	2.1517435
4	9	3	81.4900000	1.5044268
4	10	3	83.2000000	0.0000000
4	11	3	81.6700000	0.0000000
4	12	3	83.2000000	0.0000000
4	13	3	83.2000000	0.0000000
4	14	3	83.2000000	0.0000000
4	15	3	80.9300000	2.0482431
4	16	3	83.2000000	0.0000000
4	17	3	83.2000000	0.0000000
4	18	3	81.7466667	1.4165569
4	19	3	82.2566667	1.6339013
4	20	3	83.2000000	0.0000000
4	21	3	82.4333333	1.3279056
4	22	3	83.2000000	0.0000000
4	23	3	82.4333333	1.3279056
4	24	3	82.2566667	1.6339013
4	25	3	81.8733333	2.2978541
4	26	3	81.3133333	1.6339013
4	27	3	80.8033333	0.7505553
4	28	3	83.2000000	0.0000000

Evaluación de semilla sembrada en bandejas de 200 cavidades (charolas)

RHIZOCTONIA CHAROLAS 18:33 Friday, January 4, 2008 1
DIAS A EMERGENCIA

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable días a emergencia
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	115.50	141.0	40.723321	38.500000
2	3	150.00	141.0	40.723321	50.000000
3	3	150.00	141.0	40.723321	50.000000
4	3	105.50	141.0	40.723321	35.166667
5	3	115.50	141.0	40.723321	38.500000
6	3	115.50	141.0	40.723321	38.500000
7	3	104.50	141.0	40.723321	34.833333
8	3	221.00	141.0	40.723321	73.666667
9	3	185.50	141.0	40.723321	61.833333
10	3	185.50	141.0	40.723321	61.833333
11	3	151.00	141.0	40.723321	50.333333
12	3	150.00	141.0	40.723321	50.000000
13	3	186.50	141.0	40.723321	62.166667
14	3	105.50	141.0	40.723321	35.166667
15	3	81.00	141.0	40.723321	27.000000
16	3	70.00	141.0	40.723321	23.333333
17	3	150.00	141.0	40.723321	50.000000
18	3	140.00	141.0	40.723321	46.666667
19	3	140.00	141.0	40.723321	46.666667
20	3	150.00	141.0	40.723321	50.000000
21	3	185.50	141.0	40.723321	61.833333
22	3	115.50	141.0	40.723321	38.500000
23	3	70.00	141.0	40.723321	23.333333
24	3	151.00	141.0	40.723321	50.333333
25	3	185.50	141.0	40.723321	61.833333
26	3	140.00	141.0	40.723321	46.666667
27	3	150.00	141.0	40.723321	50.000000
28	3	115.50	141.0	40.723321	38.500000
29	3	150.00	141.0	40.723321	50.000000
30	3	185.50	141.0	40.723321	61.833333
31	3	150.00	141.0	40.723321	50.000000

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	23.3467
DF	30
Pr > Chi-Square	0.8007

RHIZOCTONIA CHAROLAS 18:33 Friday, January 4, 2008 2
 DIAS A EMERGENCIA
 MUERTE

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
 Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
2	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
3	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
4	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
5	3	205.50	141.0	32.118158	68.50
6	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
7	3	205.50	141.0	32.118158	68.50
8	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
9	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
10	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
11	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
12	3	205.50	141.0	32.118158	68.50
13	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
14	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
15	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
16	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
17	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
18	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
19	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
20	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
21	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
22	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
23	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
24	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
25	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
26	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
27	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
28	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
29	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
30	3	252.00	141.0	32.118158	84.00
31	3	112.50	141.0	32.118158	37.50

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square 39.2603
 DF 30
 Pr > Chi-Square 0.1200

Segundo experimento en charolas con *R. solani*

RHIZOCTONIA CHAROLAS

18:33 Friday, January 4, 2008 3

DIAS A EMERGENCIA

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable diasame
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	206.50	141.0	38.963450	68.833333
2	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
3	3	91.00	141.0	38.963450	30.333333
4	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
5	3	52.00	141.0	38.963450	17.333333
6	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
7	3	132.00	141.0	38.963450	44.000000
8	3	126.50	141.0	38.963450	42.166667
9	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
10	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
11	3	91.00	141.0	38.963450	30.333333
12	3	126.50	141.0	38.963450	42.166667
13	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
14	3	206.50	141.0	38.963450	68.833333
15	3	91.00	141.0	38.963450	30.333333
16	3	206.50	141.0	38.963450	68.833333
17	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
18	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
19	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
20	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
21	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
22	3	132.00	141.0	38.963450	44.000000
23	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
24	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
25	3	91.00	141.0	38.963450	30.333333
26	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
27	3	206.50	141.0	38.963450	68.833333
28	3	206.50	141.0	38.963450	68.833333
29	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
30	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
31	3	85.50	141.0	38.963450	28.500000

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	31.8820
DF	30
Pr > Chi-Square	0.3730

RHIZOCTONIA CHAROLAS

18:33 Friday, January 4, 2008 4

DIAS A EMERGENCIA

MUERTE

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
2	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
3	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
4	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
5	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
6	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
7	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
8	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
9	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
10	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
11	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
12	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
13	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
14	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
15	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
16	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
17	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
18	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
19	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
20	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
21	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
22	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
23	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
24	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
25	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
26	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
27	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
28	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
29	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
30	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
31	3	175.50	141.0	22.336361	58.50

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	24.8941
DF	30
Pr > Chi-Square	0.7302

Primer experimento

F.oxysporum CHAROLAS 18:33 Friday, January 4, 2008 5
DIAS A EMERGENCIA

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable diasame
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	214.00	141.0	40.086600	71.333333
2	3	176.00	141.0	40.086600	58.666667
3	3	214.00	141.0	40.086600	71.333333
4	3	143.00	141.0	40.086600	47.666667
5	3	176.00	141.0	40.086600	58.666667
6	3	138.00	141.0	40.086600	46.000000
7	3	143.00	141.0	40.086600	47.666667
8	3	105.00	141.0	40.086600	35.000000
9	3	176.00	141.0	40.086600	58.666667
10	3	55.00	141.0	40.086600	18.333333
11	3	176.00	141.0	40.086600	58.666667
12	3	143.00	141.0	40.086600	47.666667
13	3	176.00	141.0	40.086600	58.666667
14	3	176.00	141.0	40.086600	58.666667
15	3	138.00	141.0	40.086600	46.000000
16	3	176.00	141.0	40.086600	58.666667
17	3	105.00	141.0	40.086600	35.000000
18	3	214.00	141.0	40.086600	71.333333
19	3	96.50	141.0	40.086600	32.166667
20	3	30.50	141.0	40.086600	10.166667
21	3	138.00	141.0	40.086600	46.000000
22	3	138.00	141.0	40.086600	46.000000
23	3	176.00	141.0	40.086600	58.666667
24	3	93.00	141.0	40.086600	31.000000
25	3	105.00	141.0	40.086600	35.000000
26	3	96.50	141.0	40.086600	32.166667
27	3	96.50	141.0	40.086600	32.166667
28	3	105.00	141.0	40.086600	35.000000
29	3	138.00	141.0	40.086600	46.000000
30	3	138.00	141.0	40.086600	46.000000
31	3	176.00	141.0	40.086600	58.666667

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	36.2017
DF	30
Pr > Chi-Square	0.2015

F.oxysporum CHAROLAS 18:33 Friday, January 4, 2008 6

DIAS A EMERGENCIA

MUERTE

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
2	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
3	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
4	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
5	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
6	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
7	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
8	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
9	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
10	3	205.50	141.0	32.118158	68.50
11	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
12	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
13	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
14	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
15	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
16	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
17	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
18	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
19	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
20	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
21	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
22	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
23	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
24	3	205.50	141.0	32.118158	68.50
25	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
26	3	205.50	141.0	32.118158	68.50
27	3	159.00	141.0	32.118158	53.00
28	3	112.50	141.0	32.118158	37.50
29	3	252.00	141.0	32.118158	84.00
30	3	252.00	141.0	32.118158	84.00
31	3	112.50	141.0	32.118158	37.50

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square 51.4310

DF 30

Pr > Chi-Square 0.0088

Segundo Experimento Fusarium en charolas
F.oxysporum CHAROLAS

18:33 Friday, January 4, 2008 7
DIAS A EMERGENCIA

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable diasaeeme
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	215.50	141.0	39.793868	71.833333
2	3	177.50	141.0	39.793868	59.166667
3	3	215.50	141.0	39.793868	71.833333
4	3	144.00	141.0	39.793868	48.000000
5	3	177.50	141.0	39.793868	59.166667
6	3	139.50	141.0	39.793868	46.500000
7	3	144.00	141.0	39.793868	48.000000
8	3	106.00	141.0	39.793868	35.333333
9	3	177.50	141.0	39.793868	59.166667
10	3	55.50	141.0	39.793868	18.500000
11	3	177.50	141.0	39.793868	59.166667
12	3	144.00	141.0	39.793868	48.000000
13	3	177.50	141.0	39.793868	59.166667
14	3	177.50	141.0	39.793868	59.166667
15	3	139.50	141.0	39.793868	46.500000
16	3	177.50	141.0	39.793868	59.166667
17	3	106.00	141.0	39.793868	35.333333
18	3	215.50	141.0	39.793868	71.833333
19	3	97.50	141.0	39.793868	32.500000
20	3	30.50	141.0	39.793868	10.166667
21	3	139.50	141.0	39.793868	46.500000
22	3	139.50	141.0	39.793868	46.500000
23	3	177.50	141.0	39.793868	59.166667
24	3	93.50	141.0	39.793868	31.166667
25	3	106.00	141.0	39.793868	35.333333
26	3	97.50	141.0	39.793868	32.500000
27	3	97.50	141.0	39.793868	32.500000
28	3	106.00	141.0	39.793868	35.333333
29	3	139.50	141.0	39.793868	46.500000
30	3	139.50	141.0	39.793868	46.500000
31	3	139.50	141.0	39.793868	46.500000

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	36.4870
DF	30
Pr > Chi-Square	0.1926

F.oxysporum CHAROLAS 18:33 Friday, January 4, 2008 8

DIAS A EMERGENCIA

MUERTE

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
2	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
3	3	157.50	141.0	32.729125	52.50
4	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
5	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
6	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
7	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
8	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
9	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
10	3	204.00	141.0	32.729125	68.00
11	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
12	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
13	3	157.50	141.0	32.729125	52.50
14	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
15	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
16	3	157.50	141.0	32.729125	52.50
17	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
18	3	157.50	141.0	32.729125	52.50
19	3	157.50	141.0	32.729125	52.50
20	3	157.50	141.0	32.729125	52.50
21	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
22	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
23	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
24	3	204.00	141.0	32.729125	68.00
25	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
26	3	204.00	141.0	32.729125	68.00
27	3	157.50	141.0	32.729125	52.50
28	3	111.00	141.0	32.729125	37.00
29	3	250.50	141.0	32.729125	83.50
30	3	250.50	141.0	32.729125	83.50
31	3	157.50	141.0	32.729125	52.50

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	49.0247
DF	30
Pr > Chi-Square	0.0156

Primer experimento con *Verticillium* sobre charolas

V.dhaliae CHAROLAS 18:54 Friday, January 4, 2008 1
DIAS A EMERGENCIA

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable diasaeeme
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
2	3	177.50	141.0	35.778288	59.166667
3	3	218.50	141.0	35.778288	72.833333
4	3	177.50	141.0	35.778288	59.166667
5	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
6	3	140.00	141.0	35.778288	46.666667
7	3	177.50	141.0	35.778288	59.166667
8	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
9	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
10	3	134.50	141.0	35.778288	44.833333
11	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
12	3	99.00	141.0	35.778288	33.000000
13	3	140.00	141.0	35.778288	46.666667
14	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
15	3	177.50	141.0	35.778288	59.166667
16	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
17	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
18	3	177.50	141.0	35.778288	59.166667
19	3	134.50	141.0	35.778288	44.833333
20	3	177.50	141.0	35.778288	59.166667
21	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
22	3	177.50	141.0	35.778288	59.166667
23	3	24.00	141.0	35.778288	8.000000
24	3	93.50	141.0	35.778288	31.166667
25	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
26	3	99.00	141.0	35.778288	33.000000
27	3	177.50	141.0	35.778288	59.166667
28	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
29	3	93.50	141.0	35.778288	31.166667
30	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000
31	3	136.50	141.0	35.778288	45.500000

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	29.2900
DF	30
Pr > Chi-Square	0.5024

V.dhaliae CHAROLAS 18:54 Friday, January 4, 2008 2

DIAS A EMERGENCIA

MUERTE

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
2	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
3	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
4	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
5	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
6	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
7	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
8	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
9	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
10	3	166.50	141.0	28.486267	55.50
11	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
12	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
13	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
14	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
15	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
16	3	166.50	141.0	28.486267	55.50
17	3	166.50	141.0	28.486267	55.50
18	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
19	3	166.50	141.0	28.486267	55.50
20	3	166.50	141.0	28.486267	55.50
21	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
22	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
23	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
24	3	166.50	141.0	28.486267	55.50
25	3	259.50	141.0	28.486267	86.50
26	3	259.50	141.0	28.486267	86.50
27	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
28	3	120.00	141.0	28.486267	40.00
29	3	166.50	141.0	28.486267	55.50
30	3	166.50	141.0	28.486267	55.50
31	3	120.00	141.0	28.486267	40.00

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	50.7414
DF	30
Pr > Chi-Square	0.0104

Segundo experimento de Verticillium en charola

V.dhaliae CHAROLAS

18:54 Friday, January 4, 2008 3

DIAS A EMERGENCIA

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable diasaeame
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
2	3	89.50	141.0	37.852828	29.833333
3	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
4	3	51.50	141.0	37.852828	17.166667
5	3	123.00	141.0	37.852828	41.000000
6	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
7	3	123.00	141.0	37.852828	41.000000
8	3	131.50	141.0	37.852828	43.833333
9	3	131.50	141.0	37.852828	43.833333
10	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
11	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
12	3	123.00	141.0	37.852828	41.000000
13	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
14	3	85.00	141.0	37.852828	28.333333
15	3	123.00	141.0	37.852828	41.000000
16	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
17	3	123.00	141.0	37.852828	41.000000
18	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
19	3	127.00	141.0	37.852828	42.333333
20	3	123.00	141.0	37.852828	41.000000
21	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
22	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
23	3	85.00	141.0	37.852828	28.333333
24	3	207.00	141.0	37.852828	69.000000
25	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
26	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
27	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
28	3	85.00	141.0	37.852828	28.333333
29	3	165.00	141.0	37.852828	55.000000
30	3	207.00	141.0	37.852828	69.000000
31	3	123.00	141.0	37.852828	41.000000

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	26.6723
DF	30
Pr > Chi-Square	0.6404

V.dhaliae CHAROLAS 18:54 Friday, January 4, 2008 4

DIAS A EMERGENCIA

MUERTE

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	171.00	141.0	25.725347	57.00
2	3	171.00	141.0	25.725347	57.00
3	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
4	3	171.00	141.0	25.725347	57.00
5	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
6	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
7	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
8	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
9	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
10	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
11	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
12	3	171.00	141.0	25.725347	57.00
13	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
14	3	171.00	141.0	25.725347	57.00
15	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
16	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
17	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
18	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
19	3	171.00	141.0	25.725347	57.00
20	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
21	3	171.00	141.0	25.725347	57.00
22	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
23	3	171.00	141.0	25.725347	57.00
24	3	171.00	141.0	25.725347	57.00
25	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
26	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
27	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
28	3	171.00	141.0	25.725347	57.00
29	3	124.50	141.0	25.725347	41.50
30	3	171.00	141.0	25.725347	57.00
31	3	124.50	141.0	25.725347	41.50

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	22.4390
DF	30
Pr > Chi-Square	0.8376

Primer experimento de phymatotrichopsis en charolas

P. omnivora CHAROLAS 18:54 Friday, January 4, 2008 5
DIAS A EMERGENCIA

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable diasaeame
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	118.50	141.0	38.159006	39.500000
2	3	118.50	141.0	38.159006	39.500000
3	3	203.50	141.0	38.159006	67.833333
4	3	161.00	141.0	38.159006	53.666667
5	3	203.50	141.0	38.159006	67.833333
6	3	203.50	141.0	38.159006	67.833333
7	3	161.00	141.0	38.159006	53.666667
8	3	161.00	141.0	38.159006	53.666667
9	3	161.00	141.0	38.159006	53.666667
10	3	161.00	141.0	38.159006	53.666667
11	3	118.50	141.0	38.159006	39.500000
12	3	161.00	141.0	38.159006	53.666667
13	3	161.00	141.0	38.159006	53.666667
14	3	81.00	141.0	38.159006	27.000000
15	3	81.00	141.0	38.159006	27.000000
16	3	161.00	141.0	38.159006	53.666667
17	3	118.50	141.0	38.159006	39.500000
18	3	246.00	141.0	38.159006	82.000000
19	3	246.00	141.0	38.159006	82.000000
20	3	203.50	141.0	38.159006	67.833333
21	3	118.50	141.0	38.159006	39.500000
22	3	85.00	141.0	38.159006	28.333333
23	3	47.50	141.0	38.159006	15.833333
24	3	118.50	141.0	38.159006	39.500000
25	3	118.50	141.0	38.159006	39.500000
26	3	85.00	141.0	38.159006	28.333333
27	3	118.50	141.0	38.159006	39.500000
28	3	118.50	141.0	38.159006	39.500000
29	3	85.00	141.0	38.159006	28.333333
30	3	127.50	141.0	38.159006	42.500000
31	3	118.50	141.0	38.159006	39.500000

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	47.4995
DF	30
Pr > Chi-Square	0.0222

P. omnivora CHAROLAS 18:54 Friday, January 4, 2008 6

DIAS A EMERGENCIA

MUERTE

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	177.00	141.0	21.016298	59.00
2	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
3	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
4	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
5	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
6	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
7	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
8	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
9	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
10	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
11	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
12	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
13	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
14	3	177.00	141.0	21.016298	59.00
15	3	177.00	141.0	21.016298	59.00
16	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
17	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
18	3	177.00	141.0	21.016298	59.00
19	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
20	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
21	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
22	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
23	3	177.00	141.0	21.016298	59.00
24	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
25	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
26	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
27	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
28	3	130.50	141.0	21.016298	43.50
29	3	177.00	141.0	21.016298	59.00
30	3	177.00	141.0	21.016298	59.00
31	3	130.50	141.0	21.016298	43.50

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	25.6744
DF	30
Pr > Chi-Square	0.6916

Segundo experimento de *Phymatotrichopsis omnivora* sobre charola

P. omnivora CHAROLAS 18:54 Friday, January 4, 2008 7
DIAS A EMERGENCIA

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable diasaeeme
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	206.50	141.0	38.963450	68.833333
2	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
3	3	91.00	141.0	38.963450	30.333333
4	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
5	3	52.00	141.0	38.963450	17.333333
6	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
7	3	132.00	141.0	38.963450	44.000000
8	3	126.50	141.0	38.963450	42.166667
9	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
10	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
11	3	91.00	141.0	38.963450	30.333333
12	3	126.50	141.0	38.963450	42.166667
13	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
14	3	206.50	141.0	38.963450	68.833333
15	3	91.00	141.0	38.963450	30.333333
16	3	206.50	141.0	38.963450	68.833333
17	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
18	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
19	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
20	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
21	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
22	3	132.00	141.0	38.963450	44.000000
23	3	165.50	141.0	38.963450	55.166667
24	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
25	3	91.00	141.0	38.963450	30.333333
26	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
27	3	206.50	141.0	38.963450	68.833333
28	3	206.50	141.0	38.963450	68.833333
29	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
30	3	124.50	141.0	38.963450	41.500000
31	3	85.50	141.0	38.963450	28.500000

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	31.8820
DF	30
Pr > Chi-Square	0.3730

P. omnivora CHAROLAS

18:54 Friday, January 4, 2008 8

DIAS A EMERGENCIA

MUERTE

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
2	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
3	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
4	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
5	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
6	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
7	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
8	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
9	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
10	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
11	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
12	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
13	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
14	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
15	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
16	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
17	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
18	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
19	3	175.50	141.0	22.336361	58.50
20	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
21	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
22	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
23	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
24	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
25	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
26	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
27	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
28	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
29	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
30	3	129.00	141.0	22.336361	43.00
31	3	175.50	141.0	22.336361	58.50

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	24.8941
DF	30
Pr > Chi-Square	0.7302

R. solani macetas

14:32 Friday, January 2, 1998 9

EMERGENCIA

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable emer
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
2	3	123.0	141.0	31.573397	41.0
3	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
4	3	123.0	141.0	31.573397	41.0
5	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
6	3	123.0	141.0	31.573397	41.0
7	3	123.0	141.0	31.573397	41.0
8	3	69.0	141.0	31.573397	23.0
9	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
10	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
11	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
12	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
13	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
14	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
15	3	69.0	141.0	31.573397	23.0
16	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
17	3	123.0	141.0	31.573397	41.0
18	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
19	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
20	3	123.0	141.0	31.573397	41.0
21	3	123.0	141.0	31.573397	41.0
22	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
23	3	123.0	141.0	31.573397	41.0
24	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
25	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
26	3	123.0	141.0	31.573397	41.0
27	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
28	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
29	3	168.0	141.0	31.573397	56.0
30	3	69.0	141.0	31.573397	23.0
31	3	33.0	141.0	31.573397	11.0

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	41.9897
DF	30
Pr > Chi-Square	0.0717

R. solani macetas

14:32 Friday, January 2, 1998 10

MUERTE

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	134.00	141.0	38.499444	44.666667
2	3	94.50	141.0	38.499444	31.500000
3	3	146.00	141.0	38.499444	48.666667
4	3	206.00	141.0	38.499444	68.666667
5	3	152.00	141.0	38.499444	50.666667
6	3	244.00	141.0	38.499444	81.333333
7	3	194.00	141.0	38.499444	64.666667
8	3	94.50	141.0	38.499444	31.500000
9	3	134.00	141.0	38.499444	44.666667
10	3	94.50	141.0	38.499444	31.500000
11	3	134.00	141.0	38.499444	44.666667
12	3	94.50	141.0	38.499444	31.500000
13	3	94.50	141.0	38.499444	31.500000
14	3	94.50	141.0	38.499444	31.500000
15	3	181.50	141.0	38.499444	60.500000
16	3	94.50	141.0	38.499444	31.500000
17	3	94.50	141.0	38.499444	31.500000
18	3	94.50	141.0	38.499444	31.500000
19	3	94.50	141.0	38.499444	31.500000
20	3	134.00	141.0	38.499444	44.666667
21	3	150.00	141.0	38.499444	50.000000
22	3	156.00	141.0	38.499444	52.000000
23	3	126.50	141.0	38.499444	42.166667
24	3	134.00	141.0	38.499444	44.666667
25	3	134.00	141.0	38.499444	44.666667
26	3	126.50	141.0	38.499444	42.166667
27	3	134.00	141.0	38.499444	44.666667
28	3	94.50	141.0	38.499444	31.500000
29	3	225.00	141.0	38.499444	75.000000
30	3	233.00	141.0	38.499444	77.666667
31	3	253.00	141.0	38.499444	84.333333

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	47.2361
DF	30
Pr > Chi-Square	0.0236

Fusarium oxysporum macetas
EMERGENCIA

14:46 Friday, January 2, 1998 3

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable emer
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
2	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
3	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
4	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
5	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
6	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
7	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
8	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
9	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
10	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
11	3	122.50	141.0	30.918955	40.833333
12	3	70.00	141.0	30.918955	23.333333
13	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
14	3	114.00	141.0	30.918955	38.000000
15	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
16	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
17	3	61.50	141.0	30.918955	20.500000
18	3	78.50	141.0	30.918955	26.166667
19	3	122.50	141.0	30.918955	40.833333
20	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
21	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
22	3	122.50	141.0	30.918955	40.833333
23	3	122.50	141.0	30.918955	40.833333
24	3	122.50	141.0	30.918955	40.833333
25	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
26	3	114.00	141.0	30.918955	38.000000
27	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
28	3	166.50	141.0	30.918955	55.500000
29	3	122.50	141.0	30.918955	40.833333
30	3	78.50	141.0	30.918955	26.166667
31	3	122.50	141.0	30.918955	40.833333

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	35.1593
DF	30
Pr > Chi-Square	0.2369

MUERTE

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	187.50	141.0	41.527484	62.500000
2	3	79.50	141.0	41.527484	26.500000
3	3	116.00	141.0	41.527484	38.666667
4	3	116.00	141.0	41.527484	38.666667
5	3	116.00	141.0	41.527484	38.666667
6	3	189.00	141.0	41.527484	63.000000
7	3	182.00	141.0	41.527484	60.666667
8	3	133.50	141.0	41.527484	44.500000
9	3	79.50	141.0	41.527484	26.500000
10	3	116.00	141.0	41.527484	38.666667
11	3	116.00	141.0	41.527484	38.666667
12	3	79.50	141.0	41.527484	26.500000
13	3	170.00	141.0	41.527484	56.666667
14	3	79.50	141.0	41.527484	26.500000
15	3	152.50	141.0	41.527484	50.833333
16	3	133.50	141.0	41.527484	44.500000
17	3	116.00	141.0	41.527484	38.666667
18	3	241.00	141.0	41.527484	80.333333
19	3	79.50	141.0	41.527484	26.500000
20	3	133.50	141.0	41.527484	44.500000
21	3	170.00	141.0	41.527484	56.666667
22	3	116.00	141.0	41.527484	38.666667
23	3	116.00	141.0	41.527484	38.666667
24	3	79.50	141.0	41.527484	26.500000
25	3	116.00	141.0	41.527484	38.666667
26	3	79.50	141.0	41.527484	26.500000
27	3	142.50	141.0	41.527484	47.500000
28	3	245.00	141.0	41.527484	81.666667
29	3	196.50	141.0	41.527484	65.500000
30	3	241.00	141.0	41.527484	80.333333
31	3	253.00	141.0	41.527484	84.333333

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	48.6379
DF	30
Pr > Chi-Square	0.0171

Verticillium dahliae macetas 14:46 Friday, January 2, 1998 5
EMERGENCIA

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable emer
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	124.50	141.0	31.634057	41.50
2	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
3	3	72.00	141.0	31.634057	24.00
4	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
5	3	124.50	141.0	31.634057	41.50
6	3	81.00	141.0	31.634057	27.00
7	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
8	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
9	3	124.50	141.0	31.634057	41.50
10	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
11	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
12	3	124.50	141.0	31.634057	41.50
13	3	115.50	141.0	31.634057	38.50
14	3	124.50	141.0	31.634057	41.50
15	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
16	3	115.50	141.0	31.634057	38.50
17	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
18	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
19	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
20	3	124.50	141.0	31.634057	41.50
21	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
22	3	124.50	141.0	31.634057	41.50
23	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
24	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
25	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
26	3	115.50	141.0	31.634057	38.50
27	3	63.00	141.0	31.634057	21.00
28	3	124.50	141.0	31.634057	41.50
29	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
30	3	168.00	141.0	31.634057	56.00
31	3	124.50	141.0	31.634057	41.50

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square 29.5048
DF 30
Pr > Chi-Square 0.4912

Verticillium dahliae macetas 14:46 Friday, January 2, 1998 6
MUERTE

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
2	3	191.50	141.0	37.236946	63.833333
3	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
4	3	139.00	141.0	37.236946	46.333333
5	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
6	3	247.50	141.0	37.236946	82.500000
7	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
8	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
9	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
10	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
11	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
12	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
13	3	139.00	141.0	37.236946	46.333333
14	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
15	3	179.00	141.0	37.236946	59.666667
16	3	139.00	141.0	37.236946	46.333333
17	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
18	3	151.50	141.0	37.236946	50.500000
19	3	151.50	141.0	37.236946	50.500000
20	3	155.00	141.0	37.236946	51.666667
21	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
22	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
23	3	191.50	141.0	37.236946	63.833333
24	3	99.00	141.0	37.236946	33.000000
25	3	139.00	141.0	37.236946	46.333333
26	3	139.00	141.0	37.236946	46.333333
27	3	132.00	141.0	37.236946	44.000000
28	3	139.00	141.0	37.236946	46.333333
29	3	258.00	141.0	37.236946	86.000000
30	3	236.50	141.0	37.236946	78.833333
31	3	257.00	141.0	37.236946	85.666667

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square 55.3943
DF 30
Pr > Chi-Square 0.0032

P. omnivora macetas 14:46 Friday, January 2, 1998 7
EMERGENCIA

The NPAR1WAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable emer
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000
2	3	92.0	141.0	36.050456	30.666667
3	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000
4	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000
5	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000
6	3	92.0	141.0	36.050456	30.666667
7	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000
8	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000
9	3	66.0	141.0	36.050456	22.000000
10	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000
11	3	136.0	141.0	36.050456	45.333333
12	3	92.0	141.0	36.050456	30.666667
13	3	123.0	141.0	36.050456	41.000000
14	3	136.0	141.0	36.050456	45.333333
15	3	136.0	141.0	36.050456	45.333333
16	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000
17	3	136.0	141.0	36.050456	45.333333
18	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000
19	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000
20	3	136.0	141.0	36.050456	45.333333
21	3	136.0	141.0	36.050456	45.333333
22	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000
23	3	92.0	141.0	36.050456	30.666667
24	3	123.0	141.0	36.050456	41.000000
25	3	123.0	141.0	36.050456	41.000000
26	3	136.0	141.0	36.050456	45.333333
27	3	136.0	141.0	36.050456	45.333333
28	3	92.0	141.0	36.050456	30.666667
29	3	92.0	141.0	36.050456	30.666667
30	3	136.0	141.0	36.050456	45.333333
31	3	180.0	141.0	36.050456	60.000000

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square 29.3978
DF 30
Pr > Chi-Square 0.4968

P. omnivora macetas 14:46 Friday, January 2, 1998 8

MUERTE

The NPARIWAY Procedure

Wilcoxon Scores (Rank Sums) for Variable muerte
Classified by Variable cepa

cepa	N	Sum of Scores	Expected Under H0	Std Dev Under H0	Mean Score
1	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
2	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
3	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
4	3	135.00	141.0	38.880954	45.000000
5	3	135.00	141.0	38.880954	45.000000
6	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
7	3	148.50	141.0	38.880954	49.500000
8	3	135.00	141.0	38.880954	45.000000
9	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
10	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
11	3	210.50	141.0	38.880954	70.166667
12	3	250.50	141.0	38.880954	83.500000
13	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
14	3	210.50	141.0	38.880954	70.166667
15	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
16	3	135.00	141.0	38.880954	45.000000
17	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
18	3	177.00	141.0	38.880954	59.000000
19	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
20	3	199.50	141.0	38.880954	66.500000
21	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
22	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
23	3	160.00	141.0	38.880954	53.333333
24	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
25	3	166.00	141.0	38.880954	55.333333
26	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
27	3	93.00	141.0	38.880954	31.000000
28	3	135.00	141.0	38.880954	45.000000
29	3	237.00	141.0	38.880954	79.000000
30	3	272.00	141.0	38.880954	90.666667
31	3	269.50	141.0	38.880954	89.833333

Average scores were used for ties.

Kruskal-Wallis Test

Chi-Square	67.2423
DF	30
Pr > Chi-Square	0.0001

Análisis de plantas sembradas

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 21

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	31	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
		Number of observations 93

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: altura de planta inoculada con *R. solani*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	53.52646245	1.78421542	25.34	<.0001
Error	62	4.36580600	0.07041623		
Corrected Total	92	57.89226845			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	alpl Mean
0.924587	6.047593	0.265361	4.387871

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	53.52646245	1.78421542	25.34	<.0001

The SAS System 15:22 Friday, January 2, 2008 23

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: Peso de Raíz inoculada con AG3 de *R. solani*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	16.61902652	0.55396755	21.71	<.0001
Error	62	1.58193667	0.02551511		
Corrected Total	92	18.20096318			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pesr Mean
0.913085	7.561300	0.159734	2.112527

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	16.61902652	0.55396755	21.71	<.0001

The SAS System 15:22 Friday, January 4, 2008 24

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: altura de raíz inoculada con *R. solani*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	12.04986125	0.40166204	27.54	<.0001
Error	62	0.90411400	0.01458248		
Corrected Total	92	12.95397525			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	altr Mean
0.930206	5.139013	0.120758	2.349828

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	12.04986125	0.40166204	27.54	<.0001

The SAS System 15:22 Friday, January 4, 2008 25

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for altura de planta inoculada con *R. solani*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.070416
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.4331

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	trat
A	5.7710	3	24
A			
B A	5.3970	3	22
B			
B C	5.1957	3	12
B C			
B C D	5.1313	3	21
B C D			
B E C D	5.0990	3	16
B E C D			
B E C D	5.0983	3	23

	B	E	C	D			
F	B	E	C	D	5.0323	3	17
F	B	E	C	D			
F	B	E	C	D	5.0113	3	1
F	B	E	C	D			
F	B	E	C	D	4.9993	3	18
F	B	E	C	D			
F	G	E	C	D	4.9313	3	14
F	G	E		D			
F	G	E	H	D	4.7303	3	7
F	G	E	H				
F	G	E	H		4.6667	3	11
F	G		H				
F	G		H		4.6503	3	5
F	G		H				
F	G		H		4.6170	3	25
	G		H				
	G		H		4.5423	3	28
	G		H				
	G		H		4.5117	3	8
	G		H				
	G		H		4.5090	3	27
	G		H				
	G		H		4.5090	3	15
			H				
			H		4.4713	3	26
			H				
			H		4.3967	3	20
			H				
			H		4.3580	3	13
				I			
				I	3.8717	3	2
				I			
				I	3.8717	3	29
				I			
				I	3.8500	3	19
				I			
				I	3.7857	3	4
				I			
				I	3.7857	3	3
				J	3.2603	3	9
				J			
				J	3.2560	3	6
				J			
				J	3.1597	3	10
				J			
				J			
K				J	2.9030	3	30
K							
K					2.6513	3	31

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 27

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Peso de raíz inoculada con *R. solani*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.025515
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.2607

Means with the same letter are not significantly different.

t	Grouping	Mean	N	trat
	A	3.2040	3	22
	A			
B	A	2.9827	3	24
B				
B	C	2.7420	3	1
	C			
D	C	2.5947	3	16
D	C			
D	C	2.5167	3	21
D	C			
D	F	2.5027	3	23
D	F			
D	F	2.4297	3	12
	F			
	F	2.3233	3	26
	F			
	F	2.3117	3	5
	F			
H	F	2.2650	3	17
H	F			
H	F	2.2580	3	14
H	F			
H	F	2.2430	3	20
H				
H	J	2.1593	3	27
H	J			
H	J	2.1583	3	7
H	J			
K	H	2.1287	3	25
K	H			
K	H	2.1037	3	8
K	H			
K	H	2.0867	3	11
K	H			
K	H	2.0647	3	2
K	H			
K	H	2.0143	3	4
K	J			
K	J	1.9827	3	13
K	J			

K	M	J	L		1.9400	3	18
K	M		L				
K	M		L	N	1.8710	3	15
	M		L	N			
	M	O	L	N	1.7980	3	3
	M	O	L	N			
	M	O	L	N	1.7593	3	28
	M	O		N			
	M	O	P	N	1.7123	3	6
		O	P	N			
	Q	O	P	N	1.6520	3	19
	Q	O	P	N			
	Q	O	P	N	1.6423	3	9
	Q	O	P				
	Q	O	P		1.5690	3	29
	Q	O	P				
	Q	O	P		1.5490	3	10
	Q		P				
	Q		P		1.4927	3	30
	Q						
	Q				1.4310	3	31

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 29

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Altura de raíz inoculada con *R. solani*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.014582
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.1971

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	trat
A	3.23967	3	1
B	2.97167	3	22
B			
C B	2.84367	3	7
C B			
C B	2.79267	3	24
C			
C	2.75667	3	8
C			
C D	2.73767	3	5
C D			
C D E	2.67700	3	12
D E			
F D E	2.54567	3	23
F D E			

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	31	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31

Number of observations 93

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: altura de planta inoculada con *F. oxysporum*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	29.33430047	0.97781002	81.92	<.0001
Error	62	0.74006200	0.01193648		
Corrected Total	92	30.07436247			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	alpl Mean
0.975392	2.472416	0.109254	4.418925

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	29.33430047	0.97781002	81.92	<.0001

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: Peso de raíz inoculada con *F.oxysporum*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	13.96456981	0.46548566	238.13	<.0001
Error	62	0.12119467	0.00195475		
Corrected Total	92	14.08576447			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pesr Mean
0.991396	2.016009	0.044213	2.193075

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	13.96456981	0.46548566	238.13	<.0001

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 34

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: altura de raíz inoculada con *F. oxysporum*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	7.27946213	0.24264874	46.20	<.0001
Error	62	0.32565400	0.00525248		
Corrected Total	92	7.60511613			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	altr Mean
0.957180	3.385208	0.072474	2.140903

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	7.27946213	0.24264874	46.20	<.0001

t Tests (LSD) for Altura de planta inoculada con *F. oxysporum*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.011936
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.1783

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	trat
A	5.47667	3	22
A			
A	5.44633	3	28
B	5.19567	3	23
C	4.99800	3	4
C			
C	4.93133	3	17
C			
C	4.93133	3	9
C			
D	4.89833	3	18
D			

D	C	E	4.83033	3	21
D		E			
D	F	E	4.72500	3	16
	F	E			
G	F	E	4.68967	3	2
G	F				
G	F	H	4.61867	3	15
G	F	H			
G	F	H	4.61867	3	8
G	F	H			
G	F	H	4.61700	3	1
G		H			
G	I	H	4.54600	3	26
G	I	H			
G	I	H	4.54600	3	12
	I	H			
	I	H	4.50900	3	20
	I				
J	I		4.43433	3	3
J	I				
J	I		4.43433	3	27
J	I				
J	I		4.39667	3	5
J					
J	K		4.28167	3	11
J	K				
J	K		4.28167	3	25
	K				
L	K		4.20067	3	13
L					
L	M		4.04100	3	6
	M				
	M		3.99867	3	24
	M				
N	M		3.95767	3	7
N	M				
N	M		3.91400	3	19
N					
N	O		3.78400	3	14
	O				
	O		3.65133	3	29
	P		3.46233	3	10
	P				
	P		3.46233	3	30
	Q		3.10800	3	31

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 37

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Peso de raíz inoculada con *F. oxysporum*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.001955
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.0722

Means with the same letter are not significantly different.

t	Grouping	Mean	N	trat
	A	3.07133	3	22
	B	2.73900	3	28
	B	2.71433	3	23
	B	2.68933	3	17
	C	2.60067	3	2
	C	2.53500	3	16
D	C	2.53500	3	16
D	E	2.51667	3	9
D	E	2.49000	3	4
D	E	2.46967	3	8
D	E F	2.44900	3	18
	E F	2.40067	3	1
	G	2.35167	3	3
	G	2.34467	3	21
	G	2.34433	3	7
	H	2.21367	3	5
	I	2.10533	3	12
	I	2.09700	3	20
	I	2.05733	3	26
J	I	2.05733	3	26
J	K	2.02467	3	24
J	K	2.02467	3	24

J	K		2.02433	3	6
J	K				
J	K	L	1.99100	3	15
	K	L			
M	K	L	1.98333	3	25
M		L			
M	N	L	1.94000	3	13
M	N				
M	N	O	1.91467	3	11
M	N	O			
M	N	O	1.91467	3	27
	N	O			
	N	O	1.89733	3	14
	N	O			
	N	O	1.87967	3	19
		O			
		O	1.85300	3	10
	P		1.54900	3	29
	Q		1.44833	3	30
	R		1.37567	3	31

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Altura de raíz inoculada con *F. oxysporum*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.005252
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.1183

Means with the same letter are not significantly different.

t	Grouping	Mean	N	trat
	A	2.88600	3	22
	B	2.53500	3	23
	B			
C	B	2.50967	3	16
C				
C	D	2.40700	3	28
	D			
E	D	2.35900	3	8
E	D			
E	D	2.35867	3	4
E	D			
E	D F	2.35167	3	15
E	D F			
E	D F	2.35100	3	24
E	D F			
E	G D F	2.34367	3	1
E	G D F			
E	G D F	2.30867	3	26
E	G F			
E	G H F	2.28733	3	7
	G H F			
I	G H F	2.23600	3	9
I	G H			
I	G H	2.22867	3	5
I	H			
I	H J	2.18267	3	17
I	H J			
I	H J	2.17500	3	12
I	J			
I	J	2.15233	3	2
I	J			
I	J	2.15200	3	21
I	J			
I	K J	2.12100	3	27
	K J			
	K J	2.08133	3	18
	K J			
	K J	2.07300	3	20
	K			

L	K	2.01667	3	11
L	K			
L	K	2.01667	3	6
L				
L	M	1.93167	3	3
L	M			
L	M	1.92333	3	14
L	M			
L	M	1.90500	3	19
	M			
	M	1.85067	3	13
	M			
	M	1.83500	3	10
	M			
	M	1.81633	3	29
	M			
	M	1.81500	3	25
	N	1.64233	3	30
	O	1.51567	3	31

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 41

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	31	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31
		Number of observations 93

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 42

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: altura de planta inoculada con *Verticillium dhaliae*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	42.44963047	1.41498768	10.09	<.0001
Error	62	8.69286200	0.14020745		
Corrected Total	92	51.14249247			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	alp1 Mean
0.830027	8.747830	0.374443	4.280409

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	42.44963047	1.41498768	10.09	<.0001

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 43

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: Peso de raíz inoculada con *Verticillium dhaliae*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	12.61969424	0.42065647	30.90	<.0001
Error	62	0.84415333	0.01361538		
Corrected Total	92	13.46384757			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pesr Mean
0.937302	5.508421	0.116685	2.118301

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	12.61969424	0.42065647	30.90	<.0001

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 44

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: altura de Raíz inoculada con *Verticillium dhaliae*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	6.83286181	0.22776206	12.69	<.0001
Error	62	1.11277267	0.01794795		
Corrected Total	92	7.94563447			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	altr Mean
0.859952	6.489507	0.133970	2.064409

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	6.83286181	0.22776206	12.69	<.0001

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 45

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Altura de planta inoculada con *Verticillium dhaliae*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.140207
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.6111

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping		Mean	N	trat
	A	5.6510	3	22
	A			
B	A	5.4150	3	23
B	A			
B	A	5.2267	3	8
B	A			
B	D	5.0660	3	1
B	D			
B	D	4.9313	3	28
B	D			
B	D	4.8970	3	15
B	D			

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Peso de raíz inoculada con *Verticillium dhaliae*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.013615
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.1904

Means with the same letter are not significantly different.

	t Grouping	Mean	N	trat
	A	3.02733	3	1
	B	2.82800	3	2
	C	2.63333	3	23
	C	2.62567	3	22
	C	2.50900	3	15
D	C	2.46967	3	5
D	C	2.39367	3	8
D	F	2.36533	3	12
D	F	2.30900	3	3
D	F	2.28000	3	10
D	F	2.28000	3	14
D	F	2.22100	3	24
D	F	2.19033	3	4
D	F	2.15167	3	28
D	F	2.10500	3	13
D	F	2.09700	3	21
D	F	2.03300	3	18
D	F	2.00833	3	27

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 48

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Peso de raíz inoculada con *Verticillium dhaliae*

Means with the same letter are not significantly different.

t		Grouping	Mean	N	trat
M	L				
M	L	N	1.97467	3	26
M		N			
M		N	1.95767	3	17
M		N	1.95767	3	29
M		N	1.95767	3	29
M	P	N	1.94867	3	19
	P	N			
Q	P	N	1.80700	3	25
Q	P	N			
Q	P	N	1.79700	3	11
Q	P	N			
Q	P	N	1.78767	3	16
Q	P				
Q	P		1.76900	3	9
Q	P				
Q	P		1.76033	3	7
Q					
Q			1.72100	3	6
Q					
Q			1.71267	3	20
		R	1.48800	3	31
		R			
		R	1.45867	3	30

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Altura de raíz inoculada con *Verticillium dhaliae*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.017948
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.2187

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping		Mean	N	trat
	A	2.6683	3	23
	A			
B	A	2.5360	3	2
B	A			
B	A C	2.4760	3	22
B	C			
B	D C	2.3940	3	15
B	D C			
B	E D C	2.3517	3	1
	E D C			
	E D C	2.3017	3	5
	E D C			
F	E D C	2.2723	3	7
F	E D C			
G	F E D C	2.2580	3	13
G	F E D			
G	F E D H	2.2137	3	14
G	F E H			
G	F E H	2.1753	3	24
G	F E H			
G	F E I H	2.1600	3	3
G	F E I H			
G	F E I H J	2.1593	3	28
G	F I H J			
G	F K I H J	2.0807	3	21
G	K I H J			
G	L K I H J	2.0493	3	27
G	L K I H J			
G	L K I H J	2.0403	3	25
L	K I H J			
M	L K I H J	2.0320	3	9
M	L K I H J			
M	L K I H J	2.0103	3	8
M	L K I H J			
M	L K I H J	2.0000	3	18

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 50

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Altura de raíz inoculada con *Verticillium dhaliae*

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping					Mean	N	trat
M	L	K	I	J			
M	L	K	I	J	1.9487	3	4
M	L	K	I	J			
M	L	K	I	J	1.9487	3	17
M	L	K		J			
M	L	K		J	1.9413	3	6
M	L	K					
M	L	K			1.9400	3	12
M	L	K					
M	L	K			1.9230	3	26
M	L	K					
M	L	K			1.8970	3	19
M	L	K					
M	L	K			1.8960	3	16
M	L	K					
M	L	K			1.8937	3	11
M	L	K					
M	L	K			1.8710	3	20
M	L						
M	L				1.8530	3	10
M							
M			N		1.8140	3	29
			N				
			N		1.6153	3	30
			O		1.2760	3	31

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 51

The ANOVA Procedure

Class Level Information

Class	Levels	Values
trat	31	1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 20 21 22 23 24 25 26 27 28 29 30 31

Number of observations 93

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 52

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: Altura de planta inoculada con *Phymatotrichopsis omnivora*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	25.49183957	0.84972799	75.07	<.0001
Error	62	0.70174200	0.01131842		
Corrected Total	92	26.19358157			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	alpl Mean
0.973209	2.416977	0.106388	4.401699

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	25.49183957	0.84972799	75.07	<.0001

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: Peso de raíz inoculada con *Phymatotrichopsis omnivora*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	6.84667112	0.22822237	83.60	<.0001
Error	62	0.16924600	0.00272977		
Corrected Total	92	7.01591712			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	pesr Mean
----------	-----------	----------	-----------

0.975877 2.432976 0.052247 2.147462

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	6.84667112	0.22822237	83.60	<.0001

The SAS System 15:22 Friday, January 4, 2008 54

The ANOVA Procedure

Dependent Variable: Altura de raíz inoculada con *Phymatotrichopsis omnivora*

Source	DF	Sum of Squares	Mean Square	F Value	Pr > F
Model	30	6.78498770	0.22616626	90.55	<.0001
Error	62	0.15485133	0.00249760		
Corrected Total	92	6.93983903			

R-Square	Coeff Var	Root MSE	altr Mean
0.977687	2.381456	0.049976	2.098548

Source	DF	Anova SS	Mean Square	F Value	Pr > F
trat	30	6.78498770	0.22616626	90.55	<.0001

The SAS System 15:22 Friday, January 4, 2008 55

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Altura de planta inoculada con *Phymatotrichopsis omnivora*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.011318
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.1736

Means with the same letter are not significantly different.

t Grouping	Mean	N	trat
A	5.71200	3	23
B	5.35400	3	22
B			
B	5.35400	3	1

	B				
	B	5.35400	3	24	
	C	4.89833	3	5	
	C				
D	C	4.76067	3	20	
D					
D		4.68967	3	9	
D					
D	E	4.61733	3	14	
	E				
F	E	4.50900	3	13	
F	E				
F	E	4.50900	3	6	
F	E				
F	E	4.50900	3	25	
F	E				
F	E	4.47133	3	21	
F					
F	G	4.43433	3	16	
F	G				
F	G	4.43433	3	19	
F	G				
F	G	4.43367	3	28	
F	G				
F	G	H	4.35800	3	8
F	G	H			
F	G	H	4.35800	3	4
	G	H			
I	G	H	4.28167	3	10
I	G	H			
I	G	H	4.28167	3	12
I		H			
I		H	4.24167	3	2
I					
I			4.16200	3	18
I					
I			4.16200	3	26
I					
I	J		4.12200	3	7
	J				
K	J	3.95767	3	11	
K	J				
K	J	3.95767	3	30	
K					
K		3.91533	3	29	
K					
K		3.87167	3	3	
K					
K		3.87167	3	27	
K					
K		3.82933	3	15	
K					
K		3.82800	3	17	
	L				
	L	3.21367	3	31	

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Peso de raíz inoculada con *Phymatotrichopsis omnivora*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.00273
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.0853

Means with the same letter are not significantly different.

t	Grouping	Mean	N	trat
	A	2.73867	3	23
	A			
	A	2.68300	3	24
	B	2.57533	3	1
	B			
C	B	2.51600	3	9
C				
C	D	2.46967	3	21
C	D			
C	D E	2.44933	3	22
	D E			
	D E	2.40100	3	25
	D E			
	D E	2.38700	3	5
	E			
	E	2.38000	3	20
	F	2.28000	3	17
	G	2.16033	3	6
	G			
	G	2.15967	3	8
	G			
H	G	2.14467	3	26
H				
H	I	2.07367	3	13
H	I			
H	I	2.07300	3	18
H	I			
H	I	2.07300	3	28
H	I			
H	I	2.07300	3	7
H	I			
H	I	2.07300	3	4
	I			
J	I	2.05667	3	2
J	I			
J	I	2.04067	3	16
J	I			
J	I	2.02467	3	14

The SAS System

15:22 Friday, January 4, 2008 59

The ANOVA Procedure

t Tests (LSD) for Altura de raíz inoculada con *Phymatotrichopsis omnivora*

NOTE: This test controls the Type I comparisonwise error rate, not the experimentwise error rate.

Alpha	0.05
Error Degrees of Freedom	62
Error Mean Square	0.002498
Critical Value of t	1.99897
Least Significant Difference	0.0816

Means with the same letter are not significantly different.

t	Grouping	Mean	N	trat
	A	2.70167	3	22
	A			
	A	2.65800	3	23
	B	2.51633	3	21
	B			
	B	2.50333	3	24
	C	2.40800	3	9
	C			
D	C	2.35900	3	5
D				
D	E	2.28700	3	20
	E			
	E	2.23600	3	1
	E			
	E	2.23600	3	17
	E			
	E	2.23600	3	25
	F	2.15133	3	4
	F			
G	F	2.14467	3	26
G				
G	F	2.12133	3	6
G				
G	F	2.11967	3	18
G				
G	F	2.11267	3	2
G				
G	F	2.10467	3	8
G				
G	F	2.07333	3	12
G				
G	H	2.06500	3	28
	H			
	H	2.01633	3	3
	H			
	H			
	H			
I	H	2.00000	3	19
I				
	H			

	I	H	2.00000	3	7
	I				
J	I		1.93167	3	10
J					
J	K		1.89667	3	13
J	K				
J	K		1.88867	3	29
	K				
L	K		1.84400	3	16
L					
L	M		1.79700	3	27
L	M				
L	M	N	1.77000	3	11
L	M	N			
L	M	N	1.76867	3	15
	M	N			
O	M	N	1.72233	3	14
O		N			
O		N	1.71267	3	30
O					
O			1.67300	3	31