

**UNIVERSIDAD AUTONOMA AGRARIA ANTONIO NARRO**  
**DIVISIÓN DE AGRONOMÍA**  
**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA**



Efectividad Biológica de Tres Especies de *Bacillus* spp. y Tres Especies de *Trichoderma* spp, Contra *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*

Por:

**AVIGAIL GARCÍA LÓPEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Efectividad Biológica de Tres Especies de *Bacillus* spp. y Tres Especies de *Trichoderma* spp, Contra *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*

Por:

**AVIGAIL GARCÍA LÓPEZ**


TESIS


Presentada como requisito parcial para obtener el título de:


**INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO**

Aprobada por el Comité de Asesoría:

  
Dr. Gabriel Callegos Morales  
Asesor Principal

  
Dr. Melchor Cepeda Siller  
Coasesor

  
Ing. José Osvaldo Aguilar Ramírez  
Coasesor

  
Dr. Gabriel Callegos Morales  
Coordinador de la División de Agronomía  
Coordinación  
División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México.

Diciembre 2017

## **AGRADECIMIENTOS**

**A DIOS:** Por haberme dado la vida, haberme acompañado y guiado a lo largo de mi carrera y permitirme llegar hasta este momento tan importante de mi formación profesional por ser mi fortaleza en momentos de debilidad.

### **A la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro:**

Gracias por permitirme formar parte de tan honorable institución, realizarme profesionalmente dentro de sus instalaciones, formarme con bases firmes, proporcionándome las herramientas necesarias que será mi escudo en el campo laboral.

### **Al Dr. Gabriel Gallegos Morales:**

Gracias por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto pero además darme la motivación para continuar y no rendirme, tenerme paciencia y apoyarme incondicionalmente a largo de mi desarrollo profesional, transmitirme su conocimiento y experiencias a fin de formarme profesionalmente.

**A Osvaldo Aguilar:** Gracias por tu apoyo incondicional en el desarrollo de este trabajo.

### **A mis Amigos: David de la Rosa, Marco Antonio Arredondo, Maximiliano Agustín Huerta, José Molina, Lizviana Santiago, Feliciano Senovio. Edgar Manuel Ibáñez**

Gracias por brindarme su amistad cariño y apoyo incondicional a lo largo de nuestro desarrollo profesional, por haber compartido vivencias únicas, y haber estado en momentos buenos y malos conmigo.

**En especial a David Gustavo Sánchez Reyes:** Gracias por el cariño tan bonito y noble que me has brindado, desde el momento en que Dios te puso en mi camino me has brindado tu cariño comprensión y apoyo incondicional en mi desarrollo profesional confiando en mí y alentándome a lograr las cosas que quiero, me has hecho pasar días llenos de felicidad y mucha confianza, has sido la mayor motivación encaminada al éxito, eres el ingrediente perfecto para poder lograr alcanzar esta dichosa y muy merecida victoria en la vida.

## **DEDICATORIAS**

**A mis Padres:** Por brindarme dos regalos la vida y la libertad de vivirla, por haberme brindado todo su apoyo , amor ternura y comprensión y hacer de mí una persona de bien, por soportar mi ausencia durante la realización de este proyecto de vida, porque aunque no estaban físicamente conmigo, sus bendiciones siempre me acompañaron a lo largo de este trayecto por ser ejemplo de perseverancia y honestidad, guiándome dándome los mejores consejos , por todos los esfuerzos y sacrificios realizados para poder brindarme la oportunidad de realizarme profesionalmente, por haber sido mi fortaleza en todo momento, solo me queda decirle que los amo con todo mi ser y me siento orgullosa y Agradecida con nuestro Padre Dios por haberme bendecido con unos padres tan hermosos como lo son ustedes.

**A mí Madre la Sra. Belarmina López Miguel:** Por ser mi mayor motivación para la culminación de este proyecto de vida, has sido tu mi madre hermosa la que me ha alentado a seguir a pesar de las adversidades, me has enseñado que sí creo en mí puedo lograr todo lo que me proponga agradezco tu cariño desmedido, sobre todo tu paciencia, comprensión y ternura te amo mi madre.

**A mí Padre el Sr. Pablo García Monico.** Por ser un gran hombre y amigo por tu cariño incondicional a mí brindado en todo momento, por aconsejarme siempre para poder salir adelante, por haberme forjado el carácter y personalidad que tengo, por tu confianza pero sobre todo por creer en mí, Te amo mi padre.

**A mis Hermanos: Flor Ivón, José Félix, Pablo, Samaidi, Zurisadai.**

Por ser mis cómplices de travesuras, por brindarme su cariño y confianza, y haber estado apoyándome siempre durante la realización de mi carrera profesional.

## INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS .....	i
DEDICATORIAS .....	ii
INDICE DE TABLAS.....	v
INDICE DE FIGURAS.....	vi
INDICE DE GRAFICAS.....	vii
RESUMEN.....	viii
INTRODUCCIÓN.....	1
Objetivos.....	2
Hipotesis.....	2
REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
Generalidades del Cultivo de Melón.....	3
Ubicación Taxonómica del Melón.....	3
Descripción Biológica.....	4
Condiciones Edafológicas y Climáticas.....	4
Plagas del Cultivo de Melón.....	4
Clasificación Taxonómica de <i>Fusarium</i> .....	5
Características Generales.....	6
Hábitat.....	6
<i>Fusarium oxysporum</i> .....	6
Síntomas.....	6
Importancia Económica.....	7
<i>Fusarium Solani</i> .....	7
Características Generales.....	7
Síntomas.....	8
Importancia Económica.....	8
Métodos de Control de Enfermedades de Suelo.....	8
Aspectos Generales de <i>Trichoderma</i> .....	11
Características Morfológicas.....	11
Generalidades del Género <i>Bacillus</i> .....	11
MATERIALES Y METODOS .....	13
Ubicación del Sitio Experimental.....	13

Obtención de Muestras .....	13
Material Biológico .....	14
Bioensayo <i>in vitro</i> .....	14
Análisis Estadístico .....	16
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	17
Evaluación Antagónica de <i>Trichoderma</i> spp. ....	19
Actividad Antagónica de <i>Bacillus</i> spp Contra <i>Fusarium</i> spp. ....	21
Interacción del Patogeno Respecto a los Tres Antagonicos.....	22
Porcentaje Antagónico de las Diferentes Cepas de <i>Trichoderma</i> spp, <i>Bacillus</i> spp Aplicado a <i>Fusarium</i> spp. ....	23
CONCLUSIONES .....	25
LITERATURA CITADA .....	26

## INDICE DE TABLAS

Tabla 1 . Coordenadas de localización del área de estudio.....	13
Tabla 2. Escala de Bell <i>et al.</i> (1982).....	15
Tabla 3. Antagonismo de <i>Bacillus spp</i> contra especies de <i>Fusarium spp</i> .....	24

## INDICE DE FIGURAS

Figura 1 Desarrollo y crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> en el medio de cultivo PDA, Incubadas a 28°C por 7 días. ....	17
Figura 2.- Crecimiento colonial de <i>Fusarium solani</i> en el medio de cultivo PDA a 7 días de interacción a 28°C .....	18
Figura 3 .- Características morfológicas de <i>Fusarium solani</i> . ....	18
Figura 4.- Crecimiento micelial de <i>Fusarium solani</i> . ....	19
Figura 5.- Restricción de crecimiento de <i>Fusarium</i> spp. por <i>Bacillus</i> spp	21



## INDICE DE GRAFICAS

Grafica 1.- Antagonismo de <i>Trichoderma</i> spp contra diferentes especies de <i>Fusarium</i> de acuerdo a escala de Bell et al. (1982).	20
Grafica 2 Interacción de <i>Fusarium oxysporum</i> (FAF-3;FRE-4; FHA-6), <i>F. solani</i> (FRR-1; FRG-2; FCA-5) vs <i>Bacillus subtilis</i> (Bx), <i>B. amiloliquefaciens</i> (Ba), <i>B. liquefaciens</i> (Bif).....	22

## RESUMEN

La producción de melón con el paso de los años, se ha visto afectada, ocasionando pérdidas y bajos rendimientos en la cosecha. Dentro de ellos se encuentra la marchitez del melón, daño asociado principalmente a especies de *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*. El uso excesivo de fungicidas para el control químico de esta enfermedad ha provocado problemas de resistencia y eficiencia en el control de la enfermedad aunado a la contaminación del medio ambiente. La utilización de microorganismos antagónicos para el manejo de la marchitez del melón es hoy en día una alternativa para reducir la incidencia y la severidad de la enfermedad y así paulatinamente la resistencia. Esta investigación se planteó como estrategia la evaluación de microorganismo antagónicos del tipo *Trichoderma* spp y *Bacillus* spp como biocontrol de la pudrición radical del melón. Para ello se realizó el aislamiento de *Fusarium* partir de la raíz y tallo de plantas de melón que presentaron síntomas de la enfermedad. La identificación se realizó mediante claves taxonómicas y los bioensayos de actividad se realizaron en placas Petri con PDA; para *Bacillus*, el patógeno se colocó en el centro y el antagonista se distribuyó en cuatro puntos cardinales, en el caso de *Trichoderma* spp se colocó en un extremo al antagonista y enfrente al patógeno. Los resultados muestran que para el caso de *Bacillus*, a *B. amyloliquefaciens* con un porcentaje de inhibición de 44.54% mientras que *Trichoderma viride* (*Tv*) *T. asperellum* (*Ta*) y *T.harzianum* (*Th2*), se ubicaron en las categorías I y II de Bell, *T. viride*, creció más de la tercera parte de la superficie de la placa, lo que lo sitúa en la clase 2 de la escala, excepción las cepas de *Th2* y *Ta* que se desarrollaron en toda la placa, lo que hizo que se ubicaran en la clase 1. Los resultados obtenidos son aceptables para el manejo de la enfermedad, teniendo como alternativa el empleo de agentes microbianos para el control de la pudrición radical del cultivo de melón.

**Palabras clave:** Antagónicos, Inhibición, confrontación

## INTRODUCCIÓN

Las hortalizas constituyen un grupo de cultivos fundamentales en la producción agrícola, representando un renglón fundamental desde el punto de vista tanto económico como social (Pulido *et al.*, 2003). En la República Mexicana el melón desde 1920 es uno de los cultivos de mayor importancia por la superficie dedicada al cultivo como generador de divisas y fuente de empleo (alrededor de 90 millones anuales) en el área rural (Espinoza, 1998). En México la producción de melón se ha incrementado con el paso de los años; entre 2015 y 2016 pasó de 543 mil a 564 mil toneladas. Este frutal se cultiva en 22 estados del país, siendo los principales productores Coahuila, Sonora, Michoacán, Guerrero y Durango (SAGARPA, 2017). Los factores que ocasionan pérdidas y bajos rendimientos, son principales problemas fitosanitarios causados por hongos, bacterias, nematodos y virus (Chew M. *et al.*, 2008).

Entre las enfermedades más graves y extendidas en el cultivo de melón encontramos a la *Fusariosis* o marchitez del melón, esta enfermedad se asocia a especies del hongo *Fusarium*, capaz de acabar con el cultivo en cuestión de semanas al no combatirlo con algún fungicida capaz de parar el daño (Zapata *et al.*, 1989), esta enfermedad es asociada al hongo fitopatógeno *Fusarium* (Zapata *et al.*, 1989).

Riveros *et al.*, (2001) mencionan que el agente causal de la marchitez del melón están asociadas a las especies *F. oxysporum*, *F. semitectum*, *F. solani* y *F. subglutinans*, mostrando la sintomatología típica de la enfermedad. En suelos infestados por el patógeno, es capaz de acabar con todo el cultivo en cuestión de días, el control químico se realiza con la aplicación de moléculas fungicidas como los benzimidazoles, sin embargo el uso excesivo de este ha provocado problemas de resistencia bajando la eficiencia en el control de la enfermedad (Yossen, 2014).

El control de organismos fitopatógenos con microorganismos antagónicos, ha tomando gran importancia dado que los hongos fitopatógenos habitantes del suelo son de lo más difícil de controlar, viéndose en la necesidad de desarrollar nuevos pesticidas para su control, lo que implica un alto costo. La búsqueda de nuevas técnicas de control y métodos que incrementen la productividad agrícola y mantengan el equilibrio ecológico sin agredir los ecosistemas, constituyen hoy en día un gran reto para la agricultura y su desarrollo (Gallegos *et al.*, 2004).

Según Dávila, *et al.*, (2013) actualmente una alternativa para bajar la incidencia y severidad de la enfermedad marchitez del melón y reducir paulatinamente la resistencia a los fungicidas químicos es el caso de microorganismos antagonistas. Se mencionan como agentes microbianos con efecto de biocontrol de la enfermedad a diversas especies de *Bacillus*, *Trichoderma* y *Streptomyces*, los cuales actúan por competencia y producción de metabolitos secundarios que inhiben al patógeno.

En este trabajo se propuso evaluar en laboratorio el efecto antagonista de diversas especies de *Bacillus spp* y *Trichoderma spp* contra dos aislados de *Fusarium spp.*, causantes de la pudrición de raíz en melón.

### **Objetivos**

Aislar e identificar morfológicamente al agente causal de la pudrición radical del cultivo del melón en la zona de Paila, Municipio de Parras de la Fuente, Coahuila.

Determinar la capacidad antagonista in vitro de tres especies de *Trichoderma spp.* y tres de *Bacillus spp.*, para los distintos aislados de *Fusarium spp.*, recuperado del cultivo.

### **Hipotesis**

*Trichoderma spp* y *Bacillus spp* inhiben el desarrollo de *Fusarium spp* en distinta proporción y porcentaje in vitro en medio de cultivo.

## REVISIÓN DE LITERATURA

### Generalidades del Cultivo de Melón

El melón (*Cucumis melo* L.), es una planta cucurbitácea de origen no establecido; algunos autores mencionan que proviene de África, mientras que otros sugieren que es el Oeste de Asia (Zapata, 1989)

La importancia del cultivo para México radica en la superficie sembrada y como generador de divisas, por su gran demanda nacional e internacional (Claridades Agropecuarias, 2000). En el país la producción del 2015 a 2016 se incremento de 543 mil a 564 mil toneladas, dentro de los principales estados productores se encuentra Coahuila, Sonora, Michoacán, Guerrero y Durango, los cuales participan con 21%, 19%, 16.5%, 16.5% y 9.6%, de la producción respectivamente. En particular el estado de Coahuila aporta 119 mil 187 toneladas de la producción nacional (SIAP, 2017).

El melón es un cultivo que requiere de un alto costo de inversión, contribuye a la economía social y genera alrededor de 120 jornales por hectárea (Arellano, 2009). En base al precio del mercado el valor de la producción varía comúnmente desde \$ 25,000 hasta \$75,000 pesos por hectárea.

### Ubicación Taxonómica del Melón

USDA-NRCS (2009), ubica al cultivo de melón de la siguiente manera.

**Reino:** Plantae

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Violales

**Familia:** Cucurbitaceae

**Género:** *Cucumis*

**Especie:** *C. melo* L.

### **Descripción Biológica**

El melón es una planta herbácea anual rastrera con tallos pubescentes, ásperos, provistos de zarcillos. La planta logra desarrollar raíces de entre 30 y 40 cm del suelo, con un tallo herbáceo cubierto de vellosidades, hojas cubiertas de vellosidad de forma entera, pentagonal o lobulada. Las flores son monoicas, ginomonoicas o andromonoicas, se agrupan en inflorescencia de 3 a 5 flores. Las flores masculinas llevan tres estambres, las hermafroditas estambres normales y en la base de los pétalos de ambas flores se hallan unos nectarios y la flor con el ovario que formara el fruto, tiene los pétalos y sépalos por encima de éste. Los frutos son redondos u oblongos, de cascara lisa, verrugosa, o reticulada (Arellano *et al.*, 2009; Zapata, 1989).

### **Condiciones Edafológicas y Climáticas**

El melón se desarrolla en clima cálido, es por eso que las zonas semidesérticas se caracterizan por la producción de melón de alta calidad, con un tamaño variable; dependiendo de la variedad como: Amarillo, Piel de sapo, Rochet, Tendral y Cantalopu, esta última la más cultivada en la región Lagunera. (Zapata, 1989). Las temperaturas óptimas de desarrollo varían por etapas: 28°C a 32°C; para la germinación de 20°C a 23°C; para la floración y de 25°C a 30°C para el desarrollo ideal de la planta. La humedad relativa debe oscilar entre 65 – 75%, en la floración del 60 – 70%, y en la fructificación del 55 – 65% (Zapata, 1989).

### **Plagas del Cultivo de Melón**

Las plagas que atacan al cultivo de melón, se encuentra a: pulgones (*Aphis gossypii*), trips (*Frankliniella occidentalis*), mosca blanca (*Bemisia tabaci*), araña roja (*Oligonychus mexicanus*), minador de la hoja (*Liriomyza zativae*) y gusano trozador (*Agrotis* sp.) (Hortalizas, 2005).

### **Enfermedades del Cultivo de Melón**

Desde épocas remotas el hombre ha padecido con las enfermedades de las plantas (Agrios, 1996).

Las enfermedades son una amenaza constante para los cultivos, en la Comarca Lagunera como en otras regiones de México, los daños más graves se han presentado por enfermedades del suelo causadas por el exceso de humedad e incremento de temperatura que generan los acolchados (Hortalizas, 2005). Como enfermedades de la raíz se describen: ahogamiento que es causado por un conjunto de hongos fitopatógenos como: *Pythium* sp, *Phytophthora* sp., *Rhizoctonia solani* y *Fusarium* sp., además también; marchitez vascular por *Verticillium*, *Fusarium*, *Macrophomina* y enfermedades causadas por nematodos (Chew y Jiménez, 2002).

*Fusarium Oxysporum*, es un hongo que se presenta principalmente como saprofito en el suelo o bien como patógeno especializado, que también podría ubicarse como forma especial (*f* sp.), según la planta hospedante u hospedantes relacionados que afecte, esta especie es la más importante del género *Fusarium* y fue descrita por Link (1915). Este hongo es específico del melón pero puede atacar también cucurbitáceas (Romero, 1988).

### **Clasificación Taxonómica de *Fusarium***

Alexopoulos *et al.* (1996), clasifican al hongo *Fusarium* de la siguiente manera:

Phylum: Deuteromycota

Clase: Hyphomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniciliaceae

Género: *Fusarium*

Especie: *F. oxysporum*; *F. solani*

### ***Fusarium oxysporum***

*Fusarium oxysporum* es una especie distribuida amplia y perjudicialmente para la agricultura, afectando cultivos en todo el mundo, como frijol, chile, tomate, cebolla, pepino, melón, plátano, chícharo. Es un excelente habitante del suelo por lo que una vez establecido permanece ahí indefinidamente (Romero, 1996).

## **Características Generales**

Presenta micelio blanco con tintes púrpuras; las Microconidias presentan esporas, unicelulares (sin septas), hialinas, elipsoidales a cilíndricas, rectas o curvadas; se forman sobre fialides laterales, cortas, simples o sobre conidióforos poco ramificados. Los macro conidios son originados sobre fialides laterales, cortas y simples o sobre conidióforos variables, de ovales a elipsoidales cilíndricos, de rectos a curvos, con un tamaño de 5-12.3 x 2.2-3.5  $\mu$ ; con 5 septos, 35-60 x 3-5  $\mu$ ; de 6 a 7 septos, 50-60 x 3.5-5  $\mu$ . Generalmente las clamidosporas se presentan solitarias pero ocasionalmente formadas en pares o grupos de tres (Holliday, 1980; Nelson, 1981).

## **Hábitat**

El patógeno inverna en el suelo en forma de micelio o en cualquiera de sus formas de esporas, con mayor frecuencia en forma de clamidosporas. se propaga a cortas distancias a través de agua y el equipo agrícola contaminado, y a grandes distancias principalmente en los trasplantes infectados o en el suelo que va en ellos. Es frecuente que una vez que un área haya sido infectada por este hongo se mantenga así por un tiempo indefinido (Agrios, 2007). Gracias a ellas el hongo sobrevive en condiciones ambientales desfavorables y en el suelo como saprofito de vida libre en ausencia de plantas hospedantes

## **Propagación de *Fusarium oxysporum***

El hongo se propaga intercelularmente a través de punteaduras, se mantiene en los vasos xilemáticos, se desarrolla a través de ellos, en sentido ascendente hacia el tallo y la corona de la planta (Agrios, 2004).

## **Síntomas**

Este patógeno tiene cuatro razas la 0, 1,2, 1,2 A Y 1.2 W. La raza 1,2 se divide en la 1,2 W (Marchitez) y la 1,2 (Amarillamiento) (Chew y Jiménez, 2002). Este patógeno presenta dos tipos de sintomatología: Tipo Yellow: que se caracteriza por un amarillamiento en las hojas, en los tallos se observan estrías necróticas longitudinales de las que exuda goma, posteriormente el hongo esporula sobre las zonas necróticas



formando esporodoquios rosados. Tipo Wilt: marchitez en verde, muerte de la planta sin que amarillen o desarrollen color (Infoagro, 2009). La enfermedad se inicia por un amarillamiento de las nerviaciones seguida de un marchitamiento de las partes alcanzadas, frecuentemente limitada a una parte de la planta (Marco, 1969).

Agrios, (2004) menciona que se caracteriza por el achaparramiento de las plantas, una clorosis y en poco tiempo se marchita y finalmente mueren, mostrando también una coloración café en el xilema.

### **Importancia Económica**

La economía agrícola mundial sufre anualmente significativo daño debido a enfermedades causadas por agentes de diversas índoles, entre los cuales podemos mencionar a los hongos, las bacterias, los virus y los nematodos. Dando como resultado pérdidas que fluctúan entre el 7 y el 10% de la cosecha total. De los hongos fitopatógenos se conocen actualmente más de 8, 000 especies capaces de provocar alrededor de 80, 000 enfermedades. Sin lugar a dudas *F. oxysporum* es la especie más ampliamente distribuida y perjudicial a la agricultura, es un excelente habitante del suelo; un suelo infestado es inadecuado para el cultivo si no se dispone de variedades resistentes. Ahora bien, es importante mencionar que en prácticamente todos los casos de marchitez por *F. oxysporum* se han encontrado individuos o variedades resistentes al patógeno, los cuales han sido de vital importancia para el desarrollo de variedades resistentes. (Romero, 1988).

### ***Fusarium Solani***

#### **Características Generales**

*Fusarium Solani*, en general produce un solo tipo de espora que son las asexuales, bajo ciertas condiciones se produce una fase peritecial identificada como *Nectria haematococca*. Las esporas asexuales se forman en esporodoquios e incluyen microconidios formados por una o dos células, así como los macroconidios típicos de *Fusarium*, que consisten de 3 a 9 células (a menudo 4 a 5), ligeramente encorvados y con extremos más o menos puntiagudos. *Fusarium* también produce clamidosporas de pared gruesa y formadas por una o dos células que soportan la sequía y las bajas

temperaturas; presentan hifas delgadas intracelulares o intercelulares, vive como parásito sobre plántulas o bien como saprofitos en el suelo (Agrios, 2004).

### **Habitad**

El hongo habita los tejidos vegetales muertos e inverna en forma de micelio o esporas en las semillas o en los tejidos muertos o infectados. Las esporas son fácilmente diseminadas por el viento, el equipo agrícola, el agua, por contacto, entre otros; de ahí que el hongo se encuentre ya en forma de micelio o esporas en muchos suelos (Agrios, 2004; Smith *et al.*, 1992).

### **Síntomas**

Los primeros síntomas de la marchitez por *Fusarium oxysporum* son característicos por un aclareo de venas en los márgenes de las hojas jóvenes, seguido por epinastia en hojas viejas, causado por el doblamiento de los peciolo en ángulo inferior; a consecuencia de esto se presenta una disminución en el desarrollo de la planta, amarillamiento, formación de raíces adventicias, marchitez durante las horas calientes del día pero durante las horas frescas hay una recuperación por la tarde, posterior a esta marchitez se vuelve permanente, seguido de defoliación, necrosis marginal y muerte de la planta (Smith *et al.*, 1992).

### **Importancia Económica**

La enfermedad representa un serio problema en las principales áreas productoras de hortalizas en el mundo, siendo más agresiva en regiones donde prevalecen climas cálidos. Puede causar pérdidas muy severas, principalmente cuando se siembran cultivares susceptibles bajo condiciones favorables para el patógeno. Produce marchitamiento principalmente en flores y hortalizas anuales, plantas de cultivo, entre otras (Agrios, 1988).

### **Métodos de Control de Enfermedades de Suelo**

Existen diferentes métodos de control que ayudan a erradicar o reducir la cantidad de inoculo del patógeno presente en un área. La gran mayoría de esos métodos son de

cultivo, es decir, dependen principalmente de ciertas actividades del agricultor, como la erradicación del hospedante la rotación de cultivos, saneamiento, mejorando de esta manera las condiciones de crecimiento de las plantas, la formación de condiciones desfavorables para los patógenos. Algunos métodos son físicos, es decir, dependen de un factor físico, como el calor o el frío. Algunos métodos son químicos, es decir, dependen del uso y la acción de una sustancia química que reduce la cantidad de inóculo del patógeno. Otros métodos son biológicos, es decir, utilizan organismos vivos para reducir el inóculo del patógeno. (Agrios, 1996).

### **Control Cultural**

Crear condiciones desfavorables al patógeno es una buena estrategia, la rotación de cultivos, saneamiento, ventilación del suelo, buen drenaje, fertilización adecuada, mejoramiento del suelo con materia orgánica estéril, inundación prolongada de las áreas de cultivo, acolchado con polietileno, riego por goteo y ya labranza mínima de la tierra (Agrios, 1996).

### **Control Genético**

El método de control más económico, accesible, seguro y de mayor efectividad para controlar las enfermedades de las plantas en cultivos para los cuales se disponen de esas variedades, con las variedades resistentes que no sólo eliminan las pérdidas que ocasionan las enfermedades, si no también eliminan los gastos debido a aspersiones y a otros métodos de control, no contamina el ambiente con químicos tóxicos que de otra manera tendrían que utilizarse para controlar las enfermedades de las plantas (Agrios, 1996).

### **Control Químico**

Algunos tratamientos químicos tienen como objetivo reducir la cantidad de inóculo antes de que este último entre en contacto con la planta. Dichos tratamientos incluyen tratamientos de suelo (fumigación), desinfección de almacenes y el control de los insectos vectores de los patógenos. Ciertos fungicidas se aplican al suelo en forma de polvos, soluciones o gránulos para controlar el ahogamiento y los tizones de las plántulas, las pudriciones de corona y de la raíz entre otras enfermedades (Agrios,

1996). La aplicación de moléculas fungicidas como los benzimidazoles, sin embargo el uso excesivo de este ha provocado problemas de resistencia bajando la eficiencia en el control de la enfermedad (Torres, 1992).

### **Control Biológico**

A nivel mundial el interés por el control o manejo biológico de enfermedades de las plantas, se incrementó a partir de la década de 1960 al reconocerse los problemas de contaminación ambiental del planeta, en parte resultante del uso excesivo y a veces indiscriminado de los plaguicidas sintéticos (Bettiol *et al.*, 2014).

Los métodos de control biológico que se utilizan para proteger directamente a las plantas del ataque que los patógenos incluyen la acción de microorganismos antagonistas en el sitio de infección antes o después de que ocurra la infección (Agrios 1996). Con las nuevas regulaciones y restricciones en el uso de plaguicidas y la demanda de productos orgánicos, crece el interés por el uso de tácticas alternativas a los fungicidas para el manejo de enfermedades, particularmente el uso de microorganismos benéficos (Dávila *et al.*, 2013). De acuerdo con Michel-Aceves *et al.* (2005) *Trichoderma harzianum* tiene un efecto antagonista sobre especies de *Fusarium* en condiciones de laboratorio, bajo condiciones de invernadero y campo por la producción de quitinasas y glucanasas son candidatos potenciales para utilizarse en el control

### **Microorganismos Antagónicos**

En la última década se ha incrementado significativamente el número de trabajos de investigación dedicado al empleo de organismos antagonistas para el control biológico de fitopatógenos. Sobre salen el uso de diferentes especies de *Trichoderma* y *Bacillus* contra hongos fitopatógenos de los géneros *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rizoctonia* y *Phytophthora* (Bettiol *et al.*, 2014). Estos microorganismos benéficos presentan mecanismos o modos de acción que les permiten el control de los fitopatógenos; entre los principales se encuentran: competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de enzimas del patógeno, resistencia inducida entre otros (Infante *et al.*, 2009). Entre los mecanismos de biocontrol mediados por rizobacterias ampliamente reconocidos se encuentran: La competencia por un nicho ecológico o

sustrato, la síntesis de compuestos inhibitorios como sideróforos, antibióticos, enzimas líticas y detoxificadoras (Bais *et al.*, 2004), así como la inducción de resistencia sistémica en la planta (Matiru y Dakora, 2004).

### **Aspectos Generales de *Trichoderma***

Las especies pertenecientes a este género se caracterizan por ser saprofitos, que sobreviven en suelos con diferentes cantidades de materia orgánica, son hongos del suelo y la madera, de crecimiento muy rápido (Martínez, 2009).

*Trichoderma* se ubica taxonómicamente según Villegas (2005) en:

Reino: Fungi.

División: Mycota

Subdivisión: Eumycota

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Trichoderma*

### **Características Morfológicas**

El género de *Trichoderma* presenta micelio con septos simples; haploides y su pared compuesta por quitina y glucano. Su reproducción asexual es por conidios, conidióforos hialinos ramificados, fialides simples o en grupos, conidios de 3 a 5  $\mu$  de diámetro generalmente ovaladas, unicelulares o coloreados. (Martínez *et al.*, 2009).

### **Generalidades del Género *Bacillus***

El género *Bacillus*, pertenece a la familia *Bacillaceae*, una de las familias bacterianas con mayor actividad bioquímica referenciada en la literatura científica que abarca su utilización dentro de las actuales políticas de control biológico como el uso de sus metabolitos para la industria (Layton, 2011). Son bacilos tanto aerobios como anaerobios facultativos, Gram positivos, producen endosporas con morfología oval-cilíndricas, que le permite resistir condiciones desfavorables en el ambiente, presentan flagelos laterales que les permite moverse, en un rango de pH entre 5.5 – 8.5. Dentro de

las especies más representativas de este género con propiedades de antagonismo se encuentran *Bacillus brevis* y *Bacillus subtilis*. En diferentes aislamientos se ha evidenciado la presencia de cepas con actividad biocontroladora sobre patógenos de plantas. La formación de endosporas les permite un alto poder de adaptación a diversos ambientes ante la falta de nutrientes y situaciones adversas, además que las esporas poseen la capacidad de diseminarse en el aire, por tanto pueden migrar grandes distancias y ser ubicuas en el medio ambiente hasta encontrar las condiciones óptimas para su desarrollo (Layton, 2011).

## MATERIALES Y METODOS

### Ubicación del Sitio Experimental

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio de Microbiología del Departamento de Parasitología Agrícola, en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila.

### Obtención de Muestras

Los muestreos se realizaron en 6 puntos representativos de parcelas de melón de la localidad de Paila perteneciente al municipio de Parras, de la Fuente, Coahuila como se menciona en el Cuadro 1. El muestreo se realizó al azar, el cual consistió en obtener 25 plantas con síntomas de marchitez en parcelas comerciales de este cultivo.

**Tabla 1 . Coordenadas de Localización del Área de Muestreo.**

Localización	Coordenadas	Muestras	Muestreo	Cepas
Rancho Raúl Rivera, Paila	25° 42' 39.3" Latitud norte 102° 00' 45.5" Longitud oeste	Melón, primera etapa de siembra	Mayo-Junio del 2015	FRR-1
Rancho La Guadalupana, Paila.	25° 42' 22" Latitud norte 102° 20' 43" Longitud oeste	Melón, segunda etapa de siembra	Mayo-Junio del 2015	FRG-2
Rancho Adolfo Flores, Paila.	25° 45' 57.8" Longitud norte 101° 59' 50" Longitud oeste	Melón, segunda etapa de siembra	Mayo-Junio del 2015	FAF-3
Rancho Elena, Paila.	25° 45' 10" Longitud norte 102° 24' 47" Longitud oeste	Melón, tercera etapa de siembra	Mayo-Junio del 2015	FRE-4
Rancho Chano Alarcón, Paila.	25° 45' 20.2" Longitud norte 102° 10' 48.5" Longitud oeste	Melón, primera etapa de siembra	Mayo-Junio del 2015	FCA-5
Rancho Héctor Alarcón, Paila.	25° 45' 39" Longitud norte 102° 10' 53" Longitud oeste	Melón, siembra de la temporada pasada	Mayo-Junio del 2015	FHA-6

## **Aislamiento del Hongo**

Al microscopio esteroscópico se observó los tejidos radicales y tallos afectados. Para detectar la presencia del patógeno, se seleccionó tejido enfermo, se cortó en pequeños trozos, se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio al 1% por 3 minutos, posteriormente se lavó dos veces en agua destilada estéril y se transfirieron asépticamente en cajas Petri con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) adicionado con ácido láctico (200 µl/L). Las placas fueron incubadas a  $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2$  por siete días, una vez transcurrido el tiempo con base al crecimiento del micelio y en función de los tipos de coloración se diferenciaron los aislamientos para su resiembra y purificación.

## **Purificación e Identificación de *Fusarium***

Una suspensión de conidias en agua destilada estéril se difundió en placas conteniendo PDA, transcurrido 24 hrs, se purificó por punta de hifa a partir de conidios germinados, utilizando placas con el mismo medio. Se mantuvo por 15 días para observar colonias con características diferentes, cada aislado se preparó y colocó en un microscopio compuesto y se observó características similares al patógeno de acuerdo con las claves taxonómicas de Leslie y Summerell (2006).

## **Material Biológico**

Los microorganismos antagónicos utilizados fueron *Bacillus liquefasciens* (BIF); *B. amyloliquefaciens* (BA); *B. subtilis* (BX); *Trichoderma asperellum* (Ta); *T. harzianum* (Th2); *T. viride* (Tv) y fueron obtenidos del cepario del Laboratorio de Microbiología de la Universidad Autónoma Antonio Narro; los cuales fueron sembrados en PDA y conservados a  $5\text{ }^{\circ}\text{C}$  en refrigeración.

## **Bioensayo *in vitro***

Para evaluar la actividad antagónica de *Trichoderma* spp., se utilizó la técnica de Cherif y Benhamou (1990). Para cada tratamiento, se depositó en un extremo de cajas Petri con PDA un explante de 5 mm de diámetro con micelio activo de colonias fungosas de ocho días de edad de cada cepa, posteriormente se colocó en el otro extremo de la caja Petri un explante de 5 mm de especie de *Trichoderma* a evaluar, incubándose a  $28\text{ }^{\circ}\text{C}$  con un



fotoperiodo de 12 h. Las lecturas se tomaron cada 24 horas y se dejó de medir una vez que el testigo desarrollo un diámetro mayor al de los tratamientos con *Trichoderma*.

Para evaluar la competencia por sustrato de los antagonistas se evaluaron de acuerdo a la en la escala de Bell *et al.* (1982). La escala consta de cinco clases como se muestra en la Tabla 1

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

Clase	Característica
Clase 1	<i>Trichoderma</i> sobrecrece completamente al patógeno y al medio.
Clase 2	<i>Trichoderma</i> cubrió dos tercios de la superficie del medio.
Clase 3	<i>Trichoderma</i> y el patógeno, cada uno colonizó aproximadamente la mitad de la superficie del medio (más de un tercio y menos de dos tercios) y ni un organismo parece dominar al otro.
Clase 4	El patógeno colonizó por lo menos dos tercios de la superficie del medio y pareció resistir la invasión por <i>Trichoderma</i> .
Clase 5	El patógeno creció completamente y ocupó toda la superficie del medio.

### Diseño Experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con cuatro tratamientos y cinco repeticiones. La variable a evaluar fue antagonismo (competencia) de *Trichoderma* sobre *Fusarium oxysporum* y *F. solani*. de acorde a la escala de Bell (Tabla 2). Los datos se analizaron con el programa estadístico SAS System Versión 9.1.3, las medias fueron comparadas con la prueba Tukey al 0.05 de significancia.

La evaluación del antagonismo de *Bacillus*, fue por confrontación directa de las especies de *Bacillus vs Fusarium* en placas de PDA, colocando al centro un explante de 4mm de diámetro del cultivo de *Fusarium* y en los 4 puntos cardinales de la placa una siembra por punción de la especie de *Bacillus*. Las placas se incubaron a 28 °C con un fotoperiodo de 12 h. La medición de antibiosis se realizó tomando el radio del crecimiento fúngico con un Vernier digital (PlasticCaliper Modelo 700-130B) en los cuatro puntos cardinales referentes a la inhibición. Con las mediciones obtenidas se obtuvo una media por placa y procedió al cálculo del porcentaje de inhibición: Porcentaje de inhibición =  $((R.D.C - R.C.T) * 100) / R.C.F$ , donde, RDC: radio de la colonia control; RCT: radio de la colonia tratada.

Las variables que se midieron fueron: radio de crecimiento del antagonista (RCA), radio de crecimiento del patógeno (RCP)

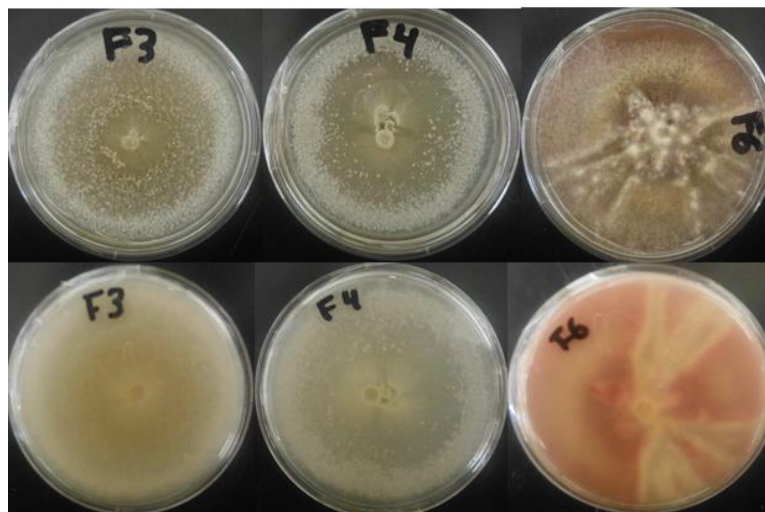
### **Análisis Estadístico**

Se utilizó un diseño estadístico completamente al azar con cinco repeticiones, con un nivel de significancia de 95%. La unidad experimental consistió en una placa de Petri y la variable, cuantificación fue el diámetro de crecimiento del hongo, cada placa fue una repetición efectuándose el experimento por 5 veces. Para estratificar los resultados se realizó una prueba de separación de medias según Tukey ( $p= 0.05$ ) el análisis de los datos se realizó con el programa estadístico SAS Statistical System (2002).

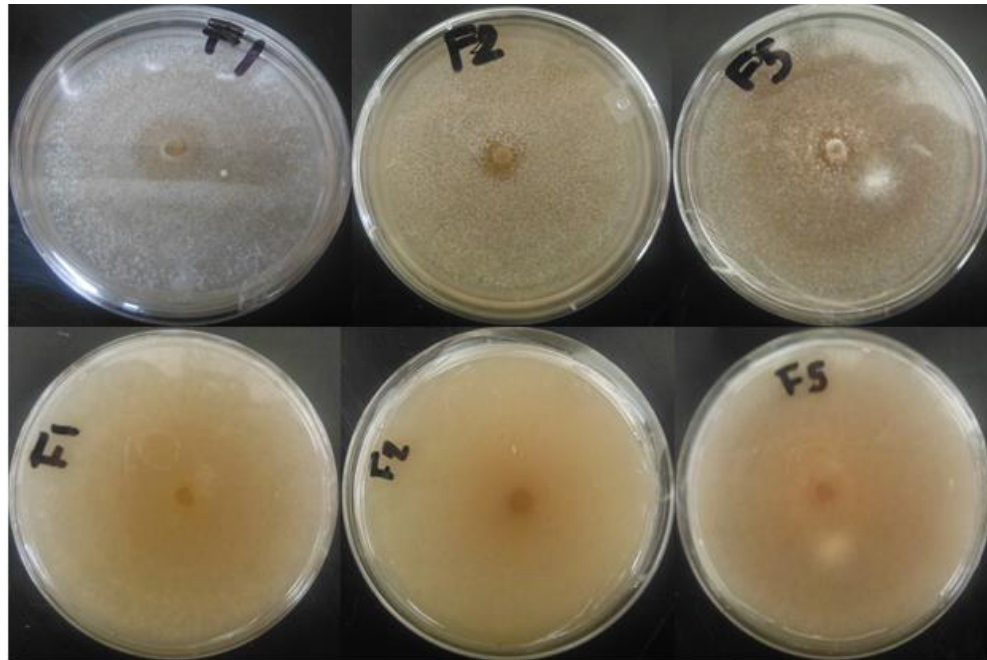
## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### Identificación Taxonómica de *Fusarium*

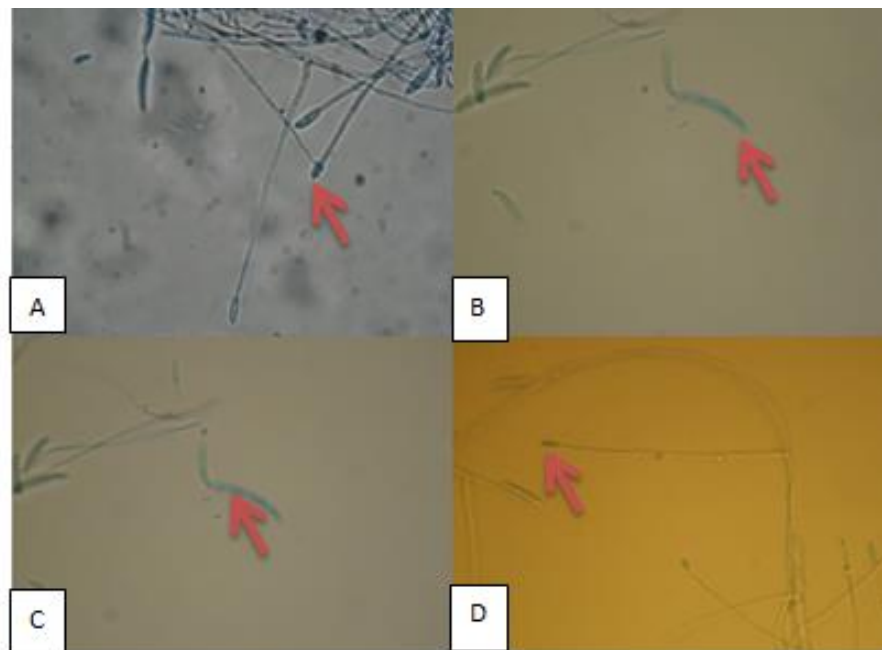
A partir de la colectas realizadas sobre cultivos comerciales de melón establecidos en la región de Paila Coahuila; se obtuvieron 25 muestras de plantas enfermas las cuales se recuperaron 6 del genero *Fusarium* aislamientos a partir de tallo y raíz de plantas que presentaron síntomas típicos de pudrición de raíz y clorosis en follaje. Estos aislamientos presentaron morfologías similares entre sí. De acuerdo a las claves taxonómicas de Leslie y Summerell (2006) se estableció que tres de los aislamientos correspondían a *Fusarium oxysporum* (Figura 1) (FAF-3; FRE-4; FHA-6) y fueron aislamientos que produjeron abundantes microconidias a partir de falsas cabezas, que se transformaron en abundantes macroconidias, la coloración de estos en la superficie del cultivo casi siempre fue purpura oscura, de blanco a violeta pálido, o naranja pálido; Los siguientes tres aislamientos fueron identificadas como *Fusarium solani* (Figura 2) (FRR1, FRG-2, FCA-5) estos aislamientos presentaron características distintivas de *F. oxysporum* que fueron: macroconidias largas, de pared gruesa y producida en menor cantidad, sus macroconidios fueron gruesos y de forma cilíndrica (Figura 3-4) y la formación de colonias presentaron color crema que de acuerdo a las claves taxonómicas de Leslie y Summerell (2006) pertenecen a las cepas que se agrupan como *Fusarium solani*.



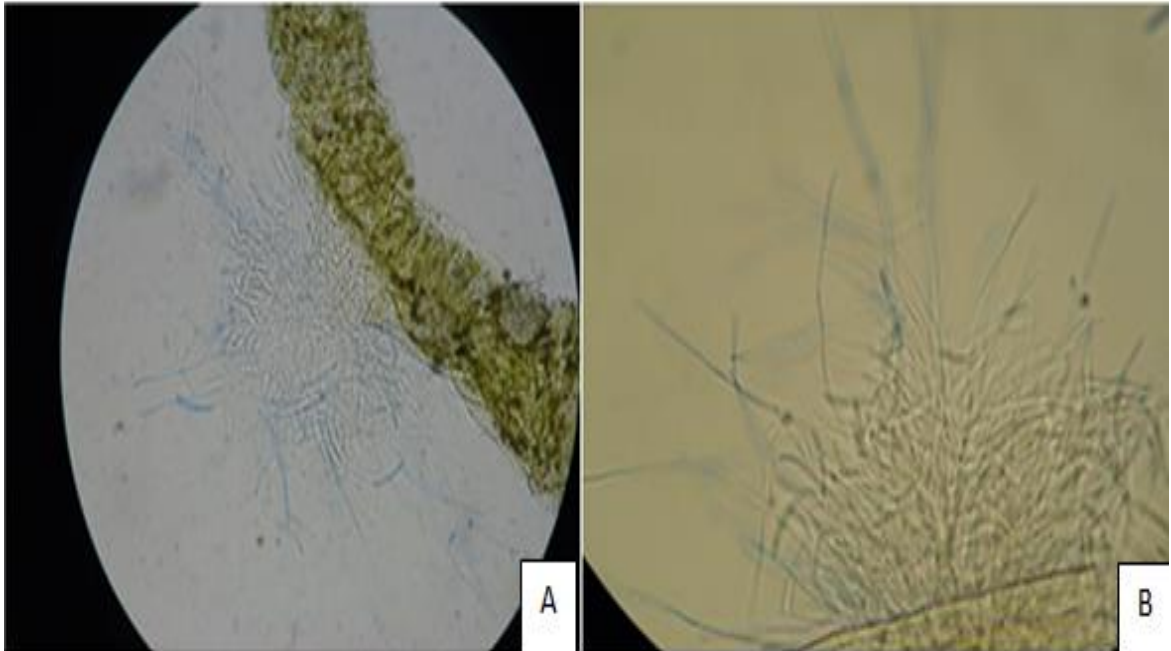
**Figura 1** Desarrollo y crecimiento de *Fusarium oxysporum* en el medio de cultivo PDA. Incubadas a 28°C por 7 días.



**Figura 2.-** Crecimiento colonial de *Fusarium solani* en el medio de cultivo PDA a 7 días de interacción a 28°C



**Figura 3 .-** Características morfológicas de *Fusarium solani*, Macroconidias (B-C) microconidias (A-D).

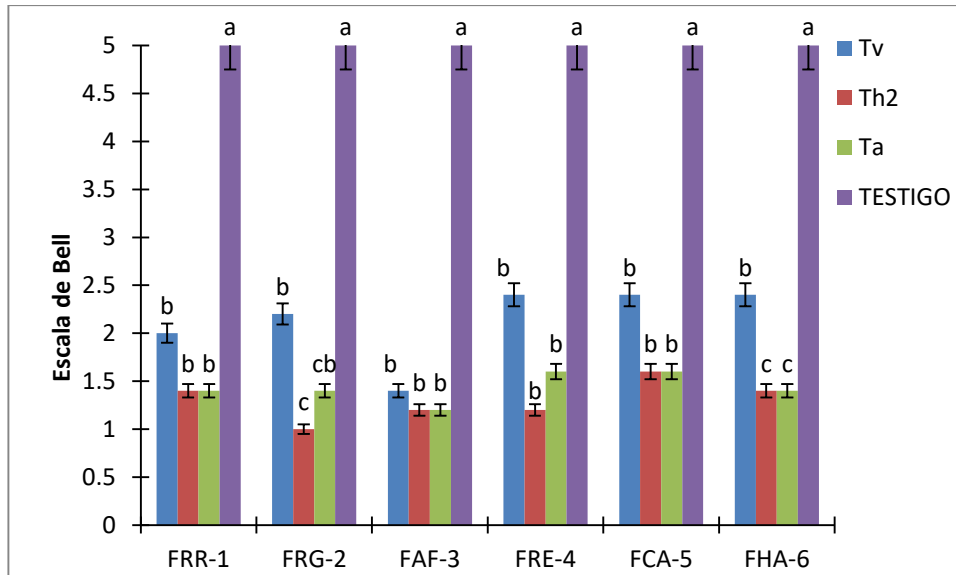


**Figura 4.-** Esporodocio (A), Crecimiento micelial (B) de *Fusarium solani*

#### **Evaluación antagónica de *Trichoderma* spp.**

De acuerdo a la escala de Bell *et al.* (1982), todas las cepas de *Trichoderma viride* (Tv) *T. asperellum* (Ta) y *T.harzianum* (Th2), se ubicaron en las categorías I y II de Bell (Grafica 1). *T. viride*, creció más de la tercera parte de la superficie de la placa, lo que lo sitúa en la clase 2 de la escala, excepción las cepas de Th2 y Ta que se desarrollaron en toda la placa, lo que hizo que se ubicaran en la clase 1. Estos aislados poseen mayor velocidad de crecimiento. No obstante, todos las cepas pueden ser considerados como antagonistas según Bell *et al.* (1982). Las mejores cepas de *Trichoderma* Th2 y Ta presentaron mejor control para las seis cepas de fitopatógenos, ya que ocasionaron micoparasitismo con estrangulamiento y lisis de las paredes de las hifas y con ello la desintegración y degradación de las paredes celulares y el debilitamiento o muerte de los hongos fitopatógenos, destacando la cepa Th2, esto muy posiblemente debido a la producción de enzimas hidrolíticas: quitinasas y glucanasas que de acuerdo a los estudios realizados por Michel-Aceves *et al.*(2005) la quitinasa de *Trichoderma harzianum* inhibe el crecimiento del micelio de *Fusarium* spp hasta un 34%; también pudiera atribuirse atribuir a la cantidad de metabolitos producidos y su efecto sobre los

patógenos (Stefanova *et al.*, 1999) A demás que, a pesar de pertenecer a la misma especie no utilizan los mismos mecanismos de acción tales como micoparasitismo, inhibición enzimática, entre otros (Martínez *et al.*, 2009). De acuerdo con Humeres, (2004) el método de control de *Trichoderma* contra hongos fitopatógenos es principalmente a través de competencia y micoparasitismo, esto concuerda con los resultados que obtuvo Ramos (2008), donde muestra que *Trichoderma* tiene contacto con *F. oxysporum* al segundo día después de la siembra *in vitro* y un sobre crecimiento al doceavo día, tal y como se apreció en los ensayos de antagonismo en este trabajo (Figura 1).



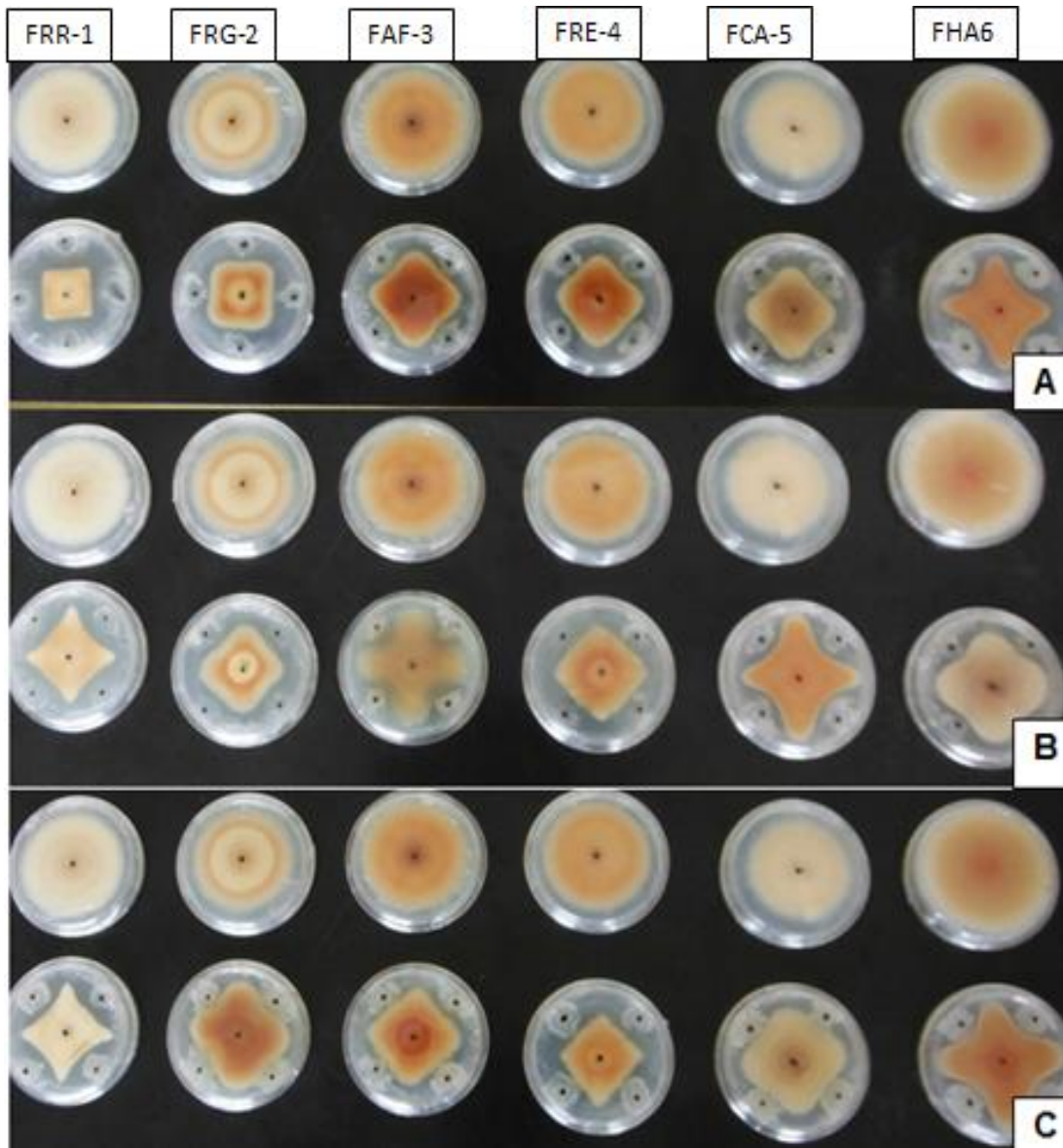
**Grafica 1.-** Antagonismo de *Trichoderma* spp contra diferentes especies de *Fusarium* de acuerdo a escala de Bell et al. (1982). Patógeno: *Fusarium solani* (FRR-1; FRG-2; FCA-5), *Fusarium oxysporum* (FAF-3; FRE-4; FHA-6). Antagonista *Trichoderma viride* (TV); *T. harzianum* (TH2); *T. asperellum* (TA).

La inhibición de los seis aislados de las dos especies de *Fusarium* recuperados de plantas de melón se observa esquemáticamente muy clara en la Grafica 1, ya que las barras del histograma pequeñas corresponden al antagonismo mientras que las grandes son del testigo, lo que ejemplifica la competencia y el parasitismo observado en el fitopatógeno.



### Actividad antagónica de *Bacillus* spp contra *Fusarium* spp.

La siguiente imagen (Figura 5) muestra la inhibición de las diferentes cepas de *Bacillus* spp con respecto a los aislamientos de *Fusarium* spp recuperado de raíz y tallo del cultivo de melón, donde se observan distintos grados de inhibición.

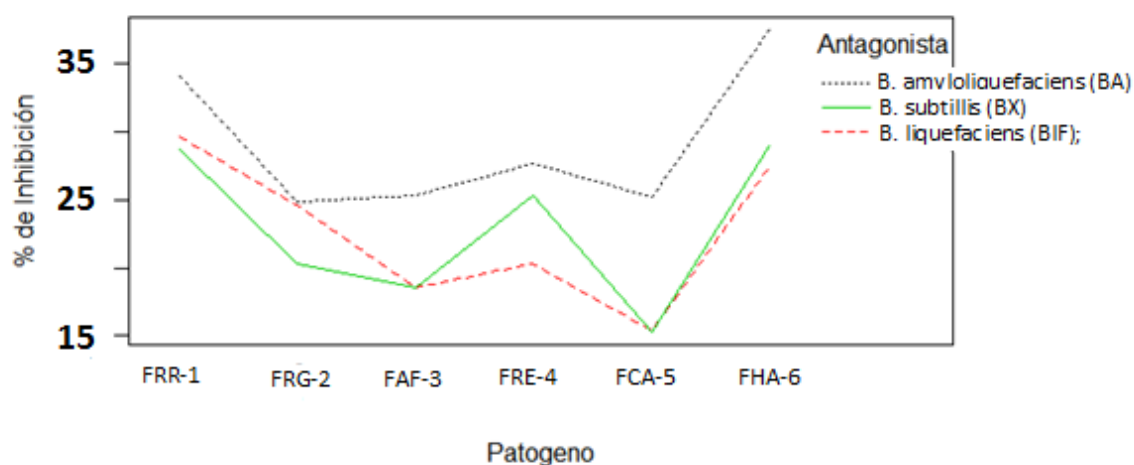


**Figura 5.-** Restricción de crecimiento de *Fusarium* spp. por *Bacillus* spp A). *Fusarium* spp vs *Bacillus liquefaciens* B) *Fusarium* spp vs *B. amyloliquefaciens* C). *Fusarium* spp vs *B. subtilis*. Donde *Fusarium oxysporum* (FAF-3; FRE-4; FHA-6) *Fusarium solani* (FRR-1; FRG-2; FCA-5).

## Interacción del Patógeno respecto a los tres antagonistas

Se evaluó la interacción de los fitopatógenos respecto a *Bacillus subtilis*, *B. liquefaciens*, *B. amyloliquefaciens*. Se pudo apreciar (gráfica 2) que la cepa 5 correspondiente a *Fusarium solani* (FCA-5) es la más agresiva mostrando un mejor control mediante *B. amyloliquefaciens* (BA) se muestra que la interacción entre estos dos organismos, el antagonista (Ba) inhibe el crecimiento del fitopatógeno.

Vanegas *et al.*, (2006). Señalan que existen cepas bacterianas silvestres del género *Bacillus* que son capaces de inhibir el crecimiento *in vitro* de cepas patógenas de *F. solani* y *F. oxysporum*. tal y como se observó en esta investigación. Lo cual de acuerdo con Layton (2011) el efecto biocontrolador, resulta como producto de diversos mecanismos, entre ellos la antibiosis que ejerce *Bacillus* spp con la producción de péptidos, lipopéptidos y fosfolípidos que se utilizan como agentes terapéuticos contra bacterias patógenas y hongos.



**Grafica 2** Interacción de *Fusarium oxysporum* (FAF-3; FRE-4; FHA-6), *F. solani* (FRR-1; FRG-2; FCA-5) vs *Bacillus subtilis* (Bx), *B. amyloliquefaciens* (Ba), *B. liquefaciens* (Bif).



### **Porcentaje antagónico de las diferentes cepas de *Trichoderma spp*, *Bacillus spp* aplicado a *Fusarium spp*.**

Se clasifico el antagonismo de *Trichoderma spp* sobre *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani* de acuerdo a la escala propuesta por Bell *et al*, (1982). (Tabla 3). Los resultados obtenidos entre microorganismos muestran para la cepa FHA-6 un alto nivel de susceptibilidad al antagónico Th2; obteniendo para *Trichoderma harzianum* y *T. asperellum* altos niveles de antagonismo ubicando a ambas especies en la clase 1, seguido de *T. viride* situado en la clase 2 de la escala, en general las diferentes especies de *Trichoderma* evaluados presentaron niveles de control aceptables. de acuerdo a lo reportado por Michel-Aceves *et al* (2005) quienes descubren que las diferentes especies de *Trichoderma* limitan el crecimiento del micelio en *Fusarium oxysporum* en 34 y 27 %. Michel Aceve *et al* (2004), reportaron para *F. oxysporum* porcentajes de antagonismo en un 47.6 y 42.6%, de acuerdo con Sánchez-García *et al* (2017) esto debido a que los metabolitos como quitinasas, glucanasas y otras proteínas de resistencia que producen las cepas antagónicas de *Trichoderma* en el medio de cultivo inhiben el crecimiento de los hongos fitopatógenos.

Con respecto a las cepas de *Bacillus spp*. el mayor efecto fue observado con *Bacillus amiloliquefaciens* presentando niveles de inhibición del 28 y 55% siendo las cepas de *Fusarium* más susceptibles la FHA-6 con un porcentaje de inhibición de 46.38% y para FRR-1 con 46.87%. cabe resaltar que la cepa FCA-5 presento niveles de inhibición bajos con un 28.19%. Existen amplios rangos de control de *Fusarium* reportados in vitro como los de Mejía –Bautista *et al*. (2016), *Bacillus subtilis* en niveles de 37.4 a 69.92 %. Esto debido a los diferentes mecanismos de acción como la competencia por la colonización de la rizosfera (Compant *et al.*, 2005).

**Tabla 3. Antagonismo de *Bacillus spp* contra cepas de *Fusarium***

<b>Antagonista</b>	<b>FRR-1</b>	<b>FRG-2</b>	<b>FAF-3</b>	<b>FRE-4</b>	<b>FCA-5</b>	<b>FHA-6</b>	<b>X</b>
<b>TH2</b>	1.4 b	1 c	1.2 b	1.2 b	1.6 b	1.4 c	1.3
<b>TV</b>	2 b	2.2 b	1.4 b	2.4 b	2.4 b	2.4 b	2.13
<b>TA</b>	1.4 b	1.4 cb	1.2 b	1.6 b	1.6 b	1.4 c	1.43
<b>Bx</b>	45.68a	38.64a	37.16a	42.42a	34.56a	46.38a	40.80
<b>Ba</b>	51.35ab	38.91c	37.79c	42.85bc	41.15bc	55.19a	44.54
<b>Bif</b>	46.87a	38.40abc	31.41bc	34.81bc	28.19c	41.57ab	36.87

\* Valores con letras distintas tienen diferencias estadísticas según Tukey  $p \leq 0.05$

En la parte superior *Trichoderma asperellum* (Ta); *T. harzianum* (Th2); *T. viride* (Tv).se evaluó la clase de antagonismo, según Bell *et al.* (1982)

En la parte inferior Porcentaje de inhibición con diferente letra presentan diferencia significativa  $p \leq 0.05$  esto para *Bacillus spp.* *Bacillus liquefaciens* (Bif); *B. amiloliquefaciens* (Ba); *B. subtilis* (Bx).

## CONCLUSIONES

*Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani* son dos especies que están relacionados con la pudrición radicular en el cultivo de melón para la región agrícola de Paila Coahuila. Las dos especies son vulnerables de control in vitro por los microorganismos antagónicos *Trichoderma harzianum* *Trichoderma asperellum*, al igual por *B. subtilis*, *Bacillus liquefaciens* y *Bacillus amyloliquefaciens* con porcentajes aceptables para el manejo de la enfermedad. Teniendo como alternativa el empleo de agentes microbianos para el control de la pudrición radical del cultivo de melón.

## LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 1996. Fitopatología. Ed. Limusa. Mexico
- Agrios, G. N, 2004, Fitopatología Editorial Limusa, México, D.F. 428- 444pp.
- Agrios, G.N. 2007. Fitopatología. 2.ª edición. Ed. Limusa. México, D.F.
- Alexopoulos, C.J.; Mims, C. W. y Bratwell, H. 1996. Introductory Micology. 4 th Edition. Ed. John Wiley y Soness. Inc. New Cork. Pp 632 y 869.
- Alexopoulos, C.J. . Mims C. W. 1979. Introductory Micology. Fourth Edition. Edit. Jhon Wiley & Sons, Inc. United States of América. p 869 .
- Arellano, J. D. J. E., González, H. S., Castillo, I. O., & Rodríguez, M. P. 2009. Planeación de la investigación de la INIFAP en la Comarca Lagunera en base a la situación de mercado de los principales productos agrícolas de la región. Revista Mexicana de Agronegocios. 13(24), 758-773.
- Bais, H.P., Park, S.W., Weir, T.L., Callaway, R.M., and Vivanco, J.M. 2004. How plants communicate using the underground information superhighway. Trends in Plant Science. 9:26–32
- Bettiol, W., Rivera, M. C., Mondino, P., Montealegre, J. R., & Colmenarez, Y. 2014. Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. Embrapa Meio Ambiente-Livro científico. (ALICE). Pp. 265
- Checa Reinoso Pozo, Y., Vaillant Flores, D., Casadesús Romero, L., García Pérez, E., & Pazos Álvarez-Rivera, V. 2012. Selección de cepas de *Bacillus* y otros géneros relacionados para el control biológico de hongos fitopatógenos. Fitosanidad. 11(1), 35-40.
- Cherif, M., & Benhamou, N. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. radices-lycopersici. Phytopathology. 80(12), 1406-1414.
- Chew M., Y. I., F. Jiménez D. 2002. Enfermedades del melón. In: El Melón: Tecnologías de Producción y Comercialización. CELALA-INIFAP. Matamoros, Coahuila. Libro Técnico. No. 4. 161p

- Chew Madinaveitia, Y. I., Vega Piña, A., Palomo Rodríguez, M., & Jiménez Díaz, F. 2008. Enfermedades del melón (*Cucumis melo* L.) en diferentes fechas de siembra en la Región Lagunera. México. Revista Chapingo Serie Zonas Áridas. 7(2). Pp. 133-138
- Compant, S., Duffy, B., Nowak, J., Clément, C., y Barka, EA 2005. Uso de bacterias promotoras del crecimiento de plantas para el control biológico de enfermedades de plantas: principios, mecanismos de acción y perspectivas de futuro. Microbiología aplicada y ambiental. , 71 (9), 4951-4959.
- Dávila Medina, M. D., Gallegos Morales, G., Hernández Castillo, F. D., Ochoa Fuente, Y. M., & Flores Olivas, A. 2013. Actinomicetos antagónicos contra hongos fitopatógenos de importancia agrícola. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 4(8), 1187-1196.
- Del Pilar Rodríguez, M. 2001. Biodiversidad de los hongos fitopatógenos del suelo de México. Acta Zoológica. Mexicana. (ns) Número especial. 1, 53-78.
- Elías, R., Arcos, O., & G. Arbeláez, 1993. Estudio del antagonismo de algunas especies de *Trichoderma* aisladas de suelos colombianos en el control de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. Agronomía Colombiana. 10(1), 52-61.
- Espinoza A., J. J. 1998. México-U.S Caribbean nations melón trade: A similationn análisis of economics forces and government polices. Ph. D. Dissertation. Texas A&M University. p. 4
- Food and Agriculture Organization of the United Nations. FAO 1990-2000. Anuarios de Producción Roma, Italia. Página web: [www.fao.org](http://www.fao.org)
- Gallegos, M. G., Cepeda, S. M. Olayo, P. R. P. 2003. Entomopatógenos, Editorial, Trillas, Mexico. pp 9-10.
- Holliday, P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. London. Mycological Research. P. 85 Htt://dx.doi.org/10.1094/PDIS-93-12-1317
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Y. Reyes, 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. Revista de Protección vegetal. 24(1), 14-21.

- InfoAgro. 2009: Cultivo de Melón:[en línea]; <http://www.infoagro.com> [Fecha de consulta 12/10/17]
- Layton, C. (2011). *Bacillus spp.*; perspectiva de su efecto biocontrolador mediante antibiosis en cultivos afectados por fitopatógenos. NOVA. 9(16). p. 179
- Marco, M. H. 1969. El melón, economía, producción, comercialización. Ed. Acribia. Zaragoza España. 3p.
- Martínez, B., Infante, D., & Y. Reyes. 2013. *Trichoderma spp.* y su función en el control de plagas en los cultivos. Revista de Protección Vegetal. 28(1), 1-11.
- Matiru, V.N., and Dakora, F. 2004. Potential use of rhizobial bacteria as promoters of plant growth for increased yield in landraces of African cereal crops. African Journal of Biotechnology. 3: 1-7.
- Mejía-Bautista, M. Á., Reyes-Ramírez, A., Cristóbal-Alejo, J., Tun-Suárez, J. M., Borges-Gómez, L. D. C., & Pacheco-Aguilar, J. R. 2016. *Bacillus spp.* en el Control de la Marchitez Causada por *Fusarium spp.* en *Capsicum chinense*. Revista Mexicana de Fitopatología. 34(3), 208-222.
- Mendoza, C. Z. 1996. Enfermedades fungosas y de hortalizas. Universidad Autónoma de Chapingo. Texcoco, México. 1 -2Pp.
- Michel Aceve, A. C., Otero Sánchez, M. A., Rebolledo Domínguez, O., & R. Lezama Gutiérrez, R. 2004. Producción y Actividad Antibiótica del 6 pentil-a-pirona de *Trichoderma spp.*, Sobre Especies de *Fusarium*. Revista Mexicana de Fitopatología. 22(1).
- Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. A., Rebolledo-Domínguez, O., Lezama-Gutiérrez, R., & Ochoa-Moreno, M. E. 2005. Producción y efecto antagónico de quitinasas y glucanasas por *Trichoderma spp.*, en la inhibición de *Fusarium subglutinans* y *Fusarium oxysporum* in vitro. Revista Chapingo Serie Horticultura. 11(2).
- Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. A., Rebolledo-Domínguez, O., Lezama-Gutiérrez, R., & Ochoa-Moreno, M. E. 2005. Producción y efecto antagónico de quitinasas y glucanasas por *Trichoderma spp.*, en la

- inhibición de *Fusarium subglutinans* y *Fusarium oxysporum* in vitro. Revista Chapingo Serie Horticultura. 11(2).
- Pulido, L. E., Medina, N. Cabrera, A. 2003. Biofertilización con rizobacterias y hongos micorrízicos arbusculares en la producción de posturas de tomate (*Lycopersicon sculentum* mil.) y cebolla (*Allium cepa* L.).i. crecimiento vegetativo. 24 (1): 15-24Pp.
- Riveros, B., Muñoz, G., González, L., Rojas, P., Alvarez, A., & Hinrichsen, R. 2001. Comparación entre análisis morfológicos y de ADN para la identificación de especies de *Fusarium* aislados de melón (*Cucumis melo* L.). Agricultura técnica. 61(3), 281-293.
- Romero, C. S. 1988. Hongos Fitopágenos. Universidad Autónoma de Chapingo. 1ª Ed. UACH. México. 361p.
- Romero, C. S 1993. Hongos Fitopatogenos. Universidad Autónoma de Chapingo. 2ª Ed. UACH. México. 361p.
- Romero, C. S. 1996. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma de Chapingo. 3ª Ed. UACH. México. 361p.
- Sánchez-García, B. M., Espinosa-Huerta, E., Villordo-Pineda, E., Rodríguez-Guerra, R., & Mora-Avilés, M. A. (2017). Identificación molecular y evaluación antagónica in vitro de cepas nativas de *Trichoderma* spp. Sobre hongos Fitopatógenos de raíz en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) cv. Montcalm. Agrociencia. 51(1). 69-72 Pp.
- SAS System Copyright. 2002. Version 9.1 by SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Secretaría de Agricultura Ganadería Pesca y Alimentación SAGARPA-Laguna. 2008. Delegación Federal en la Comarca Lagunera. Anuarios Estadísticos. 1980-2007. 595-601 Pp.
- Skidmore, AM; Dickinson, CH. 1976. Colony interactions and hyphal interference between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. Transactions of the British Mycological Society. 66(1):57-64.
- Smith, I. M.; Dunez, J.; Phillips, D, H.; Lelliott R. A.; Archer, S.A. 1992, Manual de enfermedades de las plantas. Mundi Prensa. España. pp 201-329.

- Stefanova, M., Leiva, A., Larrinaga, L., & Coronado, M. 1999. Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma spp* para el control de hongos fitopatógenos del suelo. *Revista de la Facultad de Agronomía*. 16(5).
- Torres, G. A. 1992. Avances en el manejo del marchitamiento vascular del clavel, ocasionado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *dianthi*. *Agronomía Colombiana*. 9(2), 187-191.
- Venegas E, Ciampi L., Collado L., Costa M., Fuentes R., Nissen J., Schobitz R., Schoebitz M. 2005 Aislamiento e identificación de bacterias nativas del género *Bacillus* Cohn antagonistas de cepas patógenas de *Fusarium* link. En *cala. Agro sur*. [en línea]. [Revisado el 17 de noviembre de 2017], vol.33, no.2, p.1-12. Disponible: [http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0304-88022005000200001&lng=es&nr m=iso](http://mingaonline.uach.cl/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0304-88022005000200001&lng=es&nr m=iso). ISSN 0304-8802
- Villegas M. *Trichoderma*. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. 2005. Disponible en: <http://www.oriusbiotecnologia.com/tecnica/128-trichoderma-pers-caracteristicas-y-su-potencial-biologico-en-la-agricultura-sostenible> Consultado 27 de octubre de 2017
- Vuelvas C. A., Gallegos M, G., Galindo C, M. E., & Hernández C. F.D, 2015. Producción y Actividad de Metabolitos Secundarios de Diferentes Especies de *Trichoderma* en la Producción Radicular del Cultivo de Melón (*Cucumis melo L.*).
- Yossen, V. E., & Conles, M. Y. 2014. Eficacia de fungicidas in vitro para el control de *Fusarium oxysporum* y *F. proliferatum*, agentes causales de marchitamiento en el cultivo de orégano en la Argentina. *Revista industrial y agrícola de Tucumán*. 91(1), 19-25.
- Zapata M., P. Cabrera, S. Bañon y P. Rooth. 1989. *El melón*. Ediciones Mundi Prensa. Madrid España
- Zhang, J. X., Xue, a. g., and Tambong, J. T. 2009. Evaluation of seed and soil treatments with novel *Bacillus subtilis* strains for control of soybean root rot



caused by *Fusarium oxysporum* and *F. graminearum*. Plant Disease.  
93(12): 1317-13231