

Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en cacahuete

Biological efficiency of native strains of *Trichoderma* spp., in the control of *Sclerotium rolfsii* Sacc., in peanut

Michel-Aceves, A. C.;^{1*} Otero-Sánchez, M. A.;¹ Ariza-Flores, R.;² Barrios-Ayala, A.;² Alarcón-Cruz, N.²

¹ Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO)
Av. Vicente Guerrero No. 81, primer piso (C. P. 40000)
Iguala, Guerrero (México).

² Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias
(INIFAP-Guerrero) Campo Experimental Iguala.
Carr. Iguala-Tuxpan, Km 2
Iguala, Guerrero (México).

*Correspondencia: amichelaceves@yahoo.com.mx

Resumen

En el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., se evaluó el efecto antagonístico de aislados nativos de *Trichoderma* spp., bajo condiciones *in vitro* y de invernadero, en la zona Norte del estado de Guerrero. Se obtuvieron doce aislados nativos de *Trichoderma* spp. (dos de Santa Teresa y diez de Tlaxmalac, Gro.), de los cuales se seleccionaron seis (Tcn-4, Tcn-5, Tcn-6, Tcn-7, Tcn-8 y Tcn-11) mediante el método del papel celofán. En condiciones *in vitro*, el porcentaje de inhibición varió desde 10 a 94.40%; registrándose mediante la técnica de cultivos apareados el antagonismo clase dos en el aislado Tcn-11; en estas condiciones, inhibió el crecimiento del fitopatógeno y evitó su desarrollo en el 80% de la superficie del medio en la caja de Petri. En condiciones de invernadero se evaluó la cepa nativa

Abstract

The antagonistic effect of a native isolate of *Trichoderma* spp., was evaluated for *Sclerotium rolfsii* Sacc. control, under *in vitro* and glasshouse conditions, at the North Region of Guerrero State. Twelve *Trichoderma* spp. native isolates were obtained (2 from Santa Teresa and 10 from Tlaxmalac, Gro.), of which six were selected (Tcn-4, Tcn-5, Tcn-6, Tcn-7, Tcn-8 and Tcn-11) by the cellophane paper method. Under *in vitro* conditions, the percentage of inhibition varied from 10.0 to 94.4%; it was registered using the paired cultures technique, antagonism class two with isolate Tcn-11, in these conditions the growth of the plant pathogen was inhibited and decreased its development over the 80% of the medium culture surface in the Petri box. The native strain Tcn-11 morphologically and genetically

Tcn-11 identificada morfológica y genéticamente como *T. harzianum* Rifai y se comparó con una cepa de la colección (Thzcf-12) y un fungicida comercial en tres tiempos de inoculación. El fitopatógeno *S. rolfisii* no fue suficientemente agresivo para ocasionar la muerte de la planta de cacahuete; sin embargo, se observaron efectos negativos en su desarrollo y producción de semillas. Las cepas Tcn-11 y Thzcf-12 fueron capaces de contribuir al desarrollo de la planta de cacahuete y ayudar a protegerla de la infección de *S. rolfisii* de manera más eficiente que el fungicida pentacloro nitrobenzeno (PCNB).

Palabras clave

Arachis hypogaea L., invernadero, identificación, antagonismo, aislados nativos, Guerrero.

identified as *T. harzianum* Rifai was evaluated under glasshouse conditions and compared with a strain collection (Thzcf-12) and a commercial fungicide at three inoculation times. The plant pathogen *S. rolfisii* was not sufficiently aggressive to cause death of the peanut plant; however, negative effects were observed on plant development and seed production. The strains Tcn-11 and Thzcf-12 were able to contribute to the development of the peanut plant and to help protect it from infection of *S. rolfisii* in a more efficient way than the fungicidal pentachloronitrobenzene (PCNB).

Key words

Arachis hypogaea L., glasshouse, identification, antagonism, native isolates, Guerrero.

Introducción

A nivel mundial, las pérdidas económicas en los cultivos, debido al daño causado por fitopatógenos, son considerables. De los métodos de control, el químico ha demostrado ser eficiente, pero sus efectos secundarios han sido cuestionados por su impacto ambiental, a la salud humana y la resistencia que desarrollan los microorganismos, lo cual ha generado una creciente y justificada preocupación por la contaminación, el deterioro ambiental y el desequilibrio de los ecosistemas (Torres y Capote, 2004).

La finalidad del biocontrol o control biológico (CB) es cambiar el equilibrio en poblaciones de organismos nocivos, normalmente mediante un incremento artificial importante en la población del enemigo natural (Gurr y Wratten, 2000), para favorecer la producción agrícola.

En este sentido, el CB es tan artificial como el control químico aunque con menores impactos en las poblaciones de organismos benéficos, contaminación del medio ambiente y riesgos para la salud de los productores y consumidores de productos obtenidos bajo programas de CB (Gurr y Wratten, 2000). El empleo de microorganismos antagónicos competitivos para la protección de cultivos de patógenos fúngicos del suelo es una realidad; en particular, especies del género *Trichoderma* que han acaparado la atención como agentes de biocontrol (Stefanova, 2007).

El hongo *Sclerotium rolfisii* Sacc., constituye uno de los principales problemas fitosanitarios del cultivo de cacahuete en las áreas productoras del estado de Guerrero (Robles, 1991); aunado a esto, el precio de los fungicidas para el control de la enfermedad aumenta los costos de producción. En este sentido, el uso de *Trichoderma* spp., como agente de biocontrol constituye una buena alternativa al control químico (Agrios, 2007). *Trichoderma* spp. es reconocido por su efectividad en la reducción de enfermedades

causadas por *Fusarium* spp., *S. rolfsii*, *Botrytis cinerea* Pers. (Harman y Kubicek, 1998), y los géneros *Pythium*, *Rhizoctonia*, *Alternaria* y *Phytophthora*, entre otras (Mohiddin *et al.*, 2010).

Con base en lo anterior, y con la finalidad de evaluar el potencial de cepas nativas de *Trichoderma* en la reducción de daños ocasionados por *S. rolfsii*, se plantearon los siguientes objetivos: a) Obtener aislados nativos de *Trichoderma* spp., en suelos de la región productora de cacahuete de la Zona Norte del estado de Guerrero (Gro.); b) Seleccionar los mejores aislados de *Trichoderma* spp., con base en su capacidad antagonica sobre *S. rolfsii*; c) Evaluar la eficiencia biológica de *Trichoderma* spp. en el control de la pudrición del cuello de plantas de cacahuete bajo condiciones de invernadero.

Materiales y métodos

Muestreo

Los aislados nativos de *Trichoderma* spp., fueron obtenidos del suelo colectado durante los meses de marzo y abril, en 15 parcelas que habían sido sembradas con cacahuete durante varios años, de las localidades de Tlaxmalac y Santa Teresa, Gro. En el cuadro 1 se muestra el análisis de suelo que se realizó.

Santa Teresa, Guerrero, municipio de Iguala, Gro., se ubica geográficamente a 18°23'00"LN y 99°40' 25"LO, a 840 m de altitud (INAFED, 2010). El clima, de acuerdo a la clasificación de Köpen modificado por García (1988), corresponde a: Awo (w)(i') g, subhúmedo-cálido con variaciones a templado con verano fresco largo; presenta lluvias en verano y otoño, y temperatura media anual entre 26.4 y 25.8 0C. Tlaxmalac, Guerrero, municipio de Huitzuc de los Figueroa, Gro., se localiza a 18° 36' 05" LN y 99° 41' 38" LO a 911 m de altitud (INAFED, 2010). El clima que prevalece es muy cálido, de acuerdo a la clasificación de Köpen modificado por García (1988), corresponde a Awo (w)(y) g, cálido-subhúmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual en el municipio varía, de 26 a 30° C. La precipitación media anual es de 1,000 mm.

Aislamiento y selección de *Trichoderma* spp., nativo

De cada sitio de muestreo, se colectaron cinco submuestras de un kg de suelo cada una, las cuales se mezclaron y se homogenizaron, tomándose un kg de la mezcla final como muestra representativa del sitio (Arzate-Vega *et al.*, 2006). Cada submuestra se tomó de los primeros 20 centímetros de profundidad, eliminando la materia orgánica superficial (Michel-Aceves *et al.*, 2001).

En el laboratorio, los aislamientos se realizaron directamente del suelo por el método de dilución en placa (Nelson *et al.*, 1983). Las placas se incubaron a 25°C, 12 h luz/oscuridad y 40% de humedad relativa por siete días (Michel-Aceves *et al.*, 2001). En total, se utilizaron cuatro cajas Petri por cada muestra de suelo bajo un diseño completamente al azar.

Las colonias se reconocieron por su crecimiento rápido y las características morfológicas observadas al microscopio compuesto (Barnett y Hunter, 1998; Druzhinina *et al.*, 2006). Para cada muestra de suelo, se aislaron y contabilizaron las colonias que aparecieron

durante los siete días posteriores a la siembra. De cada aislamiento se realizaron cultivos monospóricos. Las cepas se mantuvieron a 25°C en tubos inclinados con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) hasta su uso.

Se utilizó el método del papel celofán (Dennis y Webster, 1971) para seleccionar aquellos aislados de *Trichoderma* spp. que presentaron mayor habilidad para inhibir el crecimiento de micelio y la formación de esclerocios de *S. rolfsii*. El fitopatógeno que se utilizó en la presente investigación, pertenece al cepario del laboratorio de Fitopatología de la Unidad Académica de Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Autónoma de Guerrero (UACAA-UAG), Campus Tuxpan; el cual fue obtenido a partir de plantas enfermas de cacahuete colectadas en Tlaxmalac, Gro.

Se utilizó papel celofán estéril cortado a la medida de la caja Petri (9 cm de diámetro), el cual se colocó bajo condiciones asépticas sobre el medio de cultivo PDA; inmediatamente, se inoculó cada caja en la parte central con un disco de cinco mm de diámetro en cada una de las diferentes cepas de *Trichoderma* con 10 días de crecimiento en PDA.

Después de la inoculación, las cajas se incubaron a 25°C, 12 h luz/oscuridad y 40% de humedad relativa por dos días. Pasado este período, el papel celofán con el crecimiento del hongo antagonista se retiró cuidadosamente para evitar que esporas del hongo se desarrollaran sobre el PDA. Enseguida, se inoculó nuevamente en el centro de esta misma caja Petri con un disco de cinco mm de *S. rolfsii*. El cultivo se incubó otra vez en las condiciones antes mencionadas; se midió diariamente el diámetro del crecimiento radial, expresado en mm, hasta que el testigo llenó la caja Petri.

El número de tratamientos correspondió a las 12 cepas de *Trichoderma* spp. obtenidas, distribuidos bajo un diseño completamente al azar, con cuatro repeticiones. La unidad experimental consistió en dos cajas Petri. La variable de estudio fue el porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio de *S. rolfsii*, calculado con la siguiente fórmula: porcentaje de inhibición = $[(D1 - D2) / D1] \times 100$ (Worasatit *et al.*, 1994); donde D1 = diámetro de la colonia de *S. rolfsii* creciendo en cajas con PDA libre de inhibidores y D2 = diámetro de la colonia de *S. rolfsii* creciendo en cajas donde antes creció *Trichoderma* spp. sobre el papel celofán. Los aislados con porcentaje de inhibición mayor al 55% (Michel-Aceves *et al.*, 2005a) se seleccionaron para la siguiente prueba *in vitro* en cultivos apareados.

Actividad antagonica de Trichoderma spp., sobre S. rolfsii

Se utilizó la técnica de cultivos apareados (duales) de Cherif y Benhamou (1990). En cajas Petri con PDA para cada tratamiento se depositó en un extremo de la caja un disco de cinco mm de diámetro con micelio activo de colonias fungosas de 10 días de edad de *S. rolfsii*. Posteriormente, en el otro extremo de la caja, a una distancia de cuatro cm, se depositó un disco de cinco mm de *Trichoderma* spp., con micelio activo de colonias de 10 días de edad. Se tomaron lecturas cada 24 horas para determinar el número de días al primer contacto entre las hifas del antagonista y el fitopatógeno, así como el comportamiento en general, midiendo el crecimiento de ambas colonias y el diámetro de la zona de traslape.

También se clasificó el antagonismo según la escala de Bell *et al.* (1982), donde 1 = *Trichoderma* coloniza el 100% de la superficie del medio y crece sobre el fitopatógeno; 2 = *Trichoderma* coloniza dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo y limita el crecimiento del fitopatógeno; 3 = *Trichoderma* y el fitopatógeno colonizan cada uno la mitad de la superficie, ningún hongo domina; 4 = El fitopatógeno coloniza dos terceras partes de la superficie del medio y limita el crecimiento de *Trichoderma*; y 5 = El fitopatógeno coloniza el 100% de la superficie del medio y crece sobre *Trichoderma*. Se evaluaron las seis cepas nativas seleccionadas de la prueba de celofán, distribuidas bajo un diseño experimental completamente al azar, con cuatro repeticiones.

El aislado con mejor antagonismo clase dos se utilizó en la prueba de invernadero, se identificó morfológica y genéticamente a nivel de especie. Para la identificación molecular, primero se realizó la extracción de DNA con la metodología propuesta por Arhens y Seemüller (1992), utilizando micelio crecido en PDA. Las secuencias de nucleótidos obtenidos se compararon con las reportadas en la base de datos del banco de genes del NCBI (National Center for Biotechnology Information; www.ncbi.nih.gov).

Eficiencia biológica de Trichoderma spp., en el control de S. rolfsii en invernadero

En la reproducción del mejor aislado nativo (Tcn-11) y en el otro que fungió como testigo *T. harzianum* cepa Thzcf-12, obtenida de suelo cultivado con Mango en Armería, Colima (Michel-Aceves *et al.*, 2001), se utilizó cascarilla de arroz como sustrato, el cual se lavó y sumergió por 45 minutos en un recipiente con agua destilada que contenía 500 ppm del antibiótico cloranfenicol. Después de este tiempo, la cascarilla se depositó sobre una malla para su escurrimiento, se pesaron 300 g y se colocaron en bolsas de polipapel (poliestireno) de 23 x 33 cm, amarrándose en la parte superior con liga para su posterior esterilización.

Cuando se enfriaron, cada bolsa se inoculó con la cepa del hongo antagonista y se incubaron por 15 días a 25°C, 40% de humedad relativa y 12 horas luz/oscuridad (Michel-Aceves *et al.*, 2005b). Una vez transcurrido ese tiempo, se cosecharon las esporas agregando a cada bolsa con sustrato 500 ml de agua destilada estéril, con la finalidad de sustraer la mayor cantidad posible. Se contabilizó el número de esporas en la suspensión con el apoyo de una cámara hematimétrica de Neubauer (Lumycite, Propper Manufacturing Co. Inc., Long Island, NY) y obtener concentraciones mínimas de 2 X 10⁷ esporas ml⁻¹ para cada cepa, que se utilizaran para las inoculaciones en invernadero. En el caso de *S. rolfsii* este hongo se reprodujo en 10 cajas Petri con PDA y a los 20 días se cosecharon el micelio y los esclerocios.

En este ensayo se utilizó la variedad criolla “Mochitlán”, el cual se sembró en bolsas de polietileno negras; el sustrato fue tierra de monte, materia orgánica y arena previamente esterilizada. Se evaluaron las cepas Tcn-11 y Thzcf-12, el fungicida pentacloronitrobenzeno (PCNB) a dosis de 0.5 g L⁻¹, el testigo con el fitopatógeno solo (20 esclerocios) y el testigo absoluto (sin inoculación), los cuales se inocularon en tres diferentes tiempos: “Antes” (A) se agregó primero el antagonista o fungicida y se sembró el cultivo. A las 24 horas después, se agregó el patógeno; “Al mismo Tiempo” (MT) se adicionó el antagonista

o fungicida o patógeno y se sembró el cultivo; “Después” (D), primero el patógeno, se sembró el cultivo y a las 24 horas posteriores, se agregó antagonista o fungicida.

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con cinco repeticiones. Las variables fueron: peso seco de raíz (Psr), peso seco de tallo (Pst), peso seco de biomasa (Psb), total de vainas (Tv), peso total de vainas (Ptv), total de semillas (Ts), semillas sanas (Ss), y peso total de semilla (Pts). El ensayo se realizó de abril a junio de 2012, con temperaturas máximas mensuales de 40.6, 40.6 y 38°C y humedades relativas de 36, 40 y 50%.

Análisis estadístico

Los datos obtenidos para cada uno de los ensayos se sometieron a un análisis de varianza (ANVA) y una prueba de comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$) y contrastes ortogonales con el paquete estadístico SAS (1999). En el caso de los datos en porcentajes, antes de someterlos al análisis se les realizó la transformación angular.

Resultados

Aislados nativos y selección de Trichoderma spp.

En el 80% de las muestras de suelo dedicadas al cultivo de cacahuate se recuperó al hongo antagonista, obteniéndose 12 aislados nativos: dos de Santa Teresa y 10 de Tlaxmalac, Gro. (cuadro 1). El suelo en Tlaxmalac se caracteriza por presentar una textura de migajón arenoso, franco y arcilla; un contenido de materia orgánica entre 0.26 y 1.34%; el pH de 6.7 a 7.4. En Santa Teresa se tienen suelos con textura de migajón arcillo arenoso, migajón arcilloso y migajón arenoso, un contenido de materia orgánica entre 0.26 a 1.34%; y un pH de 6.4 a 7.1.

El porcentaje de inhibición de las 12 cepas fue muy heterogéneo ($F_{cal.} = 19.98$; $P \leq 0.0001$), con un rango de medias de 10 a 94.40% (cuadro 2). Se seleccionaron los aislados Tcn-4, Tcn-5, Tcn-6, Tcn-7, Tcn-8 y Tcn-11, que presentaron potencial antagonístico sobre *S. rolfsii*, al inhibir al menos en 55% el crecimiento de micelio y formación de esclerocios.

Cuadro 1.
Características físico-químicas de los suelos
y número de aislamiento de *Trichoderma* spp., por sitio de muestreo.

<i>No. de predio</i>	<i>Localidad</i>	<i>Nitrógeno (N) %</i>	<i>Textura^z</i>	<i>pH</i>	<i>M. O. %</i>	<i>No. de aislamientos</i>
1	Santa Teresa	0.06	MA	6.5	1.34	1
2	Santa Teresa	0.06	MA	6.8	1.34	0
3	Santa Teresa	0.01	MAA	7.1	0.26	0
4	Tlaxmalac	0.01	F	7.3	0.26	1
5	Tlaxmalac	0.01	F	7.3	0.26	1
6	Tlaxmalac	0.06	A	7.1	1.34	1
7	Tlaxmalac	0.02	Ma	7.2	0.53	1
8	Tlaxmalac	0.01	Ma	7.4	0.26	1
9	Tlaxmalac	0.06	Ma	7.2	1.34	1
10	Tlaxmalac	0.06	Ma	7.2	1.34	2
11	Tlaxmalac	0.01	Ma	7	0.26	1
12	Tlaxmalac	0.01	Ma	6.7	0.26	1
13	Santa Teresa	0.01	Ma	6.8	0.26	0
14	Santa Teresa	0.01	Ma	6.4	0.26	0
15	Santa Teresa	0.01	Ma	6.7	0.26	1

MA = Migajón Arcilloso; MAA= Migajón Arcillo Arenoso; F= Franco; A= Arcilla; Ma=Migajón arenoso.
 Fuente: Elaboración propia.

Cuadro 2.
Porcentaje de inhibición
del crecimiento micelial de *S. rolfsii* por *Trichoderma* spp.

Cepa de <i>Trichoderma</i>	% de inhibición <i>S. rolfsii</i>		Cepa de <i>Trichoderma</i>	% de inhibición <i>S. rolfsii</i>
Tcn-7	94.4 a ¹	*	Tcn-1	54.8 bcd
Tcn-5	94.2 a	*	Tcn-9	40.3 cde
Tcn-8	89.7 ab	*	Tcn-12	31.9 cdef
Tcn-6	81.1 ab	*	Tcn-10	31.5 cdef
Tcn-4	66.7 abc	*	Tcn-2	21.4 def
Tcn-11	57.2 bcd	*	Tcn-3	10.0 ef
R ² =0.86		CV=27.85%	Media General=51.8%	

¹ Medias con la misma letra son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha=0.05$). * Cepa seleccionada. Fuente: Elaboración propia.

Actividad antagonica de Trichoderma spp. sobre S. rolfsii en cultivos apareados

Los aislados mostraron un comportamiento heterogéneo en la clasificación de antagonismo y crecimiento de *Trichoderma* y *S. rolfsii*. Para la variable “días a primer contacto” no se registraron diferencias significativas (Fcal. = 1.00; $P \leq 0.4457$); todas las cepas realizaron el contacto entre hifas a los dos días.

Con base en la clasificación de antagonismo de Bell *et al.* (1982), los aislados se ubicaron entre las clases dos y cinco (cuadro 3). El aislado Tcn-11 fue el único agresivo clase dos; logró detener el crecimiento del fitopatógeno e inhibir la formación de esclerocios y el aislado Tcn-7 clase cinco, donde *S. rolfsii* creció sobre *Trichoderma*. Cabe señalar que de los seis aislados que lograron inhibir un buen porcentaje del crecimiento micelial de *S. rolfsii* por metabolitos secundarios en la prueba del celofán, sólo tres fueron capaces de atacarlo en la competencia directa de cultivos apareados. En cambio, el fitopatógeno fue más agresivo en los demás aislados.

Con relación al crecimiento de *Trichoderma* spp. en cultivos apareados, se detectaron diferencias altamente significativas (Fcal. = 8.88; $P \leq 0.0002$); se registró un crecimiento entre 27.50 y 50.80 mm; el aislado Tcn-11 fue el que se desarrolló más rápido, lo que demuestra mayor agresividad hacia el patógeno; mientras que la cepa Tcn-7 no presentó agresividad y creció sólo 27.5 mm (cuadro 3).

El crecimiento de *S. rolfsii* en cultivos apareados fue de 37.50 mm para el aislado Tcn-11 y 62.5 mm para Tcn-6; existieron diferencias estadísticas altamente significativas (Fcal. = 8.63; $P \leq 0.0003$). Cabe señalar que del 50% de los aislados obtenidos que en un principio inhibieron por metabolitos secundarios al fitopatógeno, en la competencia directa algunas no fueron capaces de afectarlo.

Cuadro 3.
Clasificación de antagonismo y crecimiento
de *Trichoderma* spp. y *S. rolfisii* en cultivos apareados.

Cepas	Antagonismo Clase	Crecimiento <i>Trichoderma</i> (mm)	Crecimiento <i>S. rolfisii</i> (mm)
Tcn-7	5 ^y	27.5 c ^z	61.3 a ^z
Tcn-5	3	35.0 bc	54.5 ab
Tcn-8	4	32.8 bc	53.0 ab
Tcn-6	4	27.5 c	62.5 a
Tcn-4	3	41.3 ab	46.3 bc
Tcn-11	2	50.8 a	37.5 c

R²=0.71 CV=16.8% MG=35.8 R²=0.70 CV=12.2% MG=52.5

^z= Medias con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales (Tukey $\alpha = 0.05$).

y²=*Trichoderma* coloniza dos terceras partes de la superficie del medio, limita el crecimiento del patógeno.

y³=*Trichoderma* y el patógeno colonizan cada uno la mitad de la superficie, ningún organismo domina.

y⁴=El patógeno coloniza dos terceras partes de la superficie del medio y limita el crecimiento de *Trichoderma*.

y⁵= El patógeno coloniza el 100% de la superficie del medio y crece sobre *Trichoderma*.

Fuente: Elaboración propia.

Eficiencia biológica de Trichoderma harzianum en invernadero

La concentración del inóculo para Tcn-11 y Thzcf-12 fue de 4.8×10^7 y 5.8×10^7 esporas ml⁻¹, respectivamente. *S. rolfisii* no fue suficientemente agresivo para ocasionar la muerte de la planta en invernadero, aunque se presentaron efectos negativos en su desarrollo vegetativo y la producción de semillas.

Peso seco de raíz (Psr). Se detectaron diferencias altamente significativas (Fcal.=3.46; P≤0.0009), los pesos fluctuaron de 45.90 a 24.10 g (cuadro 4). El tratamiento Thzcf-12 MT fue el más sobresaliente aun sobre el fungicida químico PCNB D, con 36.80 g. Los contrastes ortogonales reportan diferencias altamente significativas (Fcal.=36.82; P≤0.0001) al comparar las cepas Thzcf-12 y Tcn-11 (43.4 g) contra *S. rolfisii* (26.50 g), lo que indica una protección del sistema radicular por parte de los biológicos y un mayor crecimiento radicular.

Peso seco de tallo (Pst). Existen diferencias altamente significativas (Fcal.=12.32; P≤0.0009), el peso más alto fue del tratamiento PCNB A, con 53.30 g

y el peso más bajo *S. rolfsii* MT, con 29.40 g (cuadro 4). El contraste ortogonal de Thzcf-12 y Tcn-11 + *S. rolfsii* "contra" PCNB fue significativo (Fcal.=4.52; $P \leq 0.0383$); el efecto de las cepas más el patógeno fue inferior (45.90 g) al efecto del PCNB (50.50 g), esto indica que el fungicida ayudó ligeramente a proteger al tallo; sin embargo, por los daños que ocasiona éste al medio ambiente y a la salud humana, se deben buscar otras alternativas.

El siguiente contraste altamente significativo (Fcal.=17.55; $P \leq 0.0001$) fue *S. rolfsii* MT "contra" *S. rolfsii* A y D, el promedio más bajo (29.40 g) para el "*S. rolfsii* MT" y el más alto (46.10 g) para *S. rolfsii* A y D; lo anterior pone de manifiesto que el patógeno fue más agresivo cuando se encuentra al mismo tiempo con la planta.

Por otra parte, comparar el contraste de las cepas Thzcf-12 y Tcn-11 "contra" *S. rolfsii* fue altamente significativo, pues el peso de las cepas de *Trichoderma* fue superior (48.60 g) al de "*S. rolfsii*" (40.50 g).

Peso seco de biomasa (Psb). Se detectaron diferencias altamente significativas (Fcal.=4.45; $P \leq 0.0001$), los valores más altos fueron para Thzcf-12 MT y Tcn-11 A, con 97 y 94.70 g, respectivamente (cuadro 4); el peso más bajo para "*S. rolfsii* MT", con 52.80 g. En los contrastes ortogonales, la comparación de Thzcf-12 y Tcn-11 "contra" *S. rolfsii* fue altamente significativo (Fcal.=38.33; $P \leq 0.0001$), el peso seco de biomasa de las dos cepas de *Trichoderma* (92.10 g) fue superior al de *S. rolfsii* (67 g), lo cual indica que las cepas de *Trichoderma* protegieron y ayudaron al desarrollo de la planta. El contraste ortogonal cuando se comparó *S. rolfsii* MT "contra" *S. rolfsii* A y D fue altamente significativo (Fcal.=9.17; $P = 0.0038$), el promedio "*S. rolfsii* MT" (52.80 g) fue inferior al grupo de "*S. rolfsii* A y D" (74.10 g).

Total de vainas (Tv). No existieron diferencias significativas entre los tratamientos (Fcal.=1.52; $P \leq 0.1485$). En los contrastes se obtuvieron efectos altamente reveladores (Fcal.=9.04; $P \leq 0.0041$) cuando se comparó Thzcf-12 y Tcn-11 contra *S. rolfsii*. El número total de vainas de las cepas *Trichoderma* fue superior (41.60) al de "*S. rolfsii*" (32.10), lo cual indica que *Trichoderma* contribuyó a un mayor número.

Peso total de vainas (Ptv). Se detectaron diferencias altamente significativas entre los tratamientos (Fcal.=2.75; $P \leq 0.0058$), Thzcf-12 MT mostró el valor más alto 69.70 g y "*S. rolfsii* A" (42.60 g) y "*S. rolfsii* MT" (39.20 g) los más bajos (cuadro 4). En los contrastes ortogonales se detectaron diferencias altamente significativas (Fcal.=1.27; $P \leq 0.0001$) al comparar Thzcf-12 y Tcn-11 + *S. rolfsii* "contra" PCNB. El peso de las cepas de *Trichoderma* más *S. rolfsii* (56.30 g) fue inferior al del fungicida (65 g). Otro contraste con diferencias altamente relevantes corresponde a Thzcf-12 y Tcn-11 contra *S. rolfsii*; el promedio de las cepas de *Trichoderma* fue superior (62.20 g) al de *S. rolfsii* (44.50 g).

Total de semillas (Ts). No se detectaron diferencias importantes (Fcal.=1.35; $P \leq 0.2188$), el único contraste sobresaliente (Fcal.=10.14; $P \leq 0.0025$) fue donde se comparan Thzcf-12 y Tcn-11 (61.30) contra *S. rolfsii* (47.10).

Semillas sanas (Ss). Existieron diferencias altamente significativas (Fcal.=4.36; $P \leq 0.0001$), "Thzcf-12 D" obtuvo la mayor cantidad de semillas (54.0)

en comparación con el fitopatógeno "*S. rolfsii* A" con el menor número (15.60) de semillas sanas (cuadro 4). En los contrastes ortogonales existieron diferencias relevantes ($F_{cal.}=39.66$; $P\leq 0.0001$) entre Thzcf-12 y Tcn-11 contra *S. rolfsii*.

El valor más alto (46.7) correspondió a las dos cepas de *Trichoderma*, mientras que en *S. rolfsii* fue el más bajo (19.90), lo que indica que *Trichoderma* contribuyó para aumentar el número de semillas sanas; por otra parte, al comparar los tratamientos Thzcf-12 contra Tcn-11 el promedio de las semillas sanas en Thzcf-12 con 51.90 fue mayor que la cepa nativa Tcn-11 con 41.50.

Peso total de semilla (Pts). Existieron diferencias altamente significativas ($F_{cal.}=4.05$; $P\leq 0.0002$) y "Thzcf-12 MT" mostró el valor más alto con 46.70 g y en el último nivel "*S. rolfsii* A" con 21.10 g el más bajo (cuadro 4). En la prueba de contrastes ortogonales, al comparar Thzcf-12 y Tcn-11 + *S. rolfsii* contra PCNB, se presentaron diferencias relevantes ($F_{cal.}=34.40$; $P\leq 0.0001$); el peso de las cepas *Trichoderma* más *S. rolfsii* 34.50 g fue inferior del fungicida con 41.20 g. Otro contraste con efectos importantes ($F_{cal.}=5.80$; $P\leq 0.0196$) se presentó al comparar Thzcf-12 y Tcn-11 contra *S. rolfsii*, ya que el peso total de semillas de las cepas de *Trichoderma* fue superior (26.80) a diferencia *S. rolfsii* que fue 22.90.

Cuadro 4.
Eficiencia biológica de *Trichoderma harzianum*
en el control de *S. rolfsii* en cacahuete, bajo condiciones de invernadero.

Tratamientos	<i>P_sr</i> (g)	<i>P_st</i> (g)	<i>P_bb</i> (g)	<i>T_v</i>	<i>P_tv</i> (g)	<i>T_s</i>	<i>S_s</i>	<i>P_ts</i> (g)
Tcn-11 A	44.3 ab ^z	49 a	94.7 ab	38.2 abc	54.3 abc	53.6 ab	38.8 a.e	37.4 ab
Tcn-11 MT	43.6 ab	47 a	90.1 abc	44.2 ab	67.1 a	64 a	45.6 abc	41.9 a
Tcn-11 D	40.8 ab	48 a	88.7 abc	37.8 abc	59.9 ab	57.8 ab	40.2 a.e	35.3 abc
Thzcf-12 A	43.2 ab	48 a	91 abc	40.6 abc	62.5 a	64.6 a	50 abc	41.6 a
Thzcf-12 MT	45.9 a	51 a	97 a	45.6 ab	69.7 a	69.4 a	51.8 ab	46.7 a
Thzcf-12 D	42.8 ab	48 a	91.2 abc	43.4 ab	59.9 ab	58.6 ab	54 a	38.8 a
<i>S. rolfsii</i> A	31.9 bc	44 a	75.7 bc	37.6 abc	42.6 bc	48.6 ab	15.6 f	21.1 d
<i>S. rolfsii</i> MT	23.4 c	29 b	52.8 d	30.8 bc	39.2 c	40.6 b	22.2 ef	24.5 bcd
<i>S. rolfsii</i> D	24.1 c	48 a	72.5 c	28 c	51.6 abc	52 ab	22 ef	23.2 cd
PCNB A	38.1 bc	53 a	91.5 abc	46.2 a	65.5 a	57.4 ab	30.6 c.f	42.4 a
PCNB MT	39.2 ab	53 a	92.4 ab	42.2 abc	66 a	54.4 ab	25.4 def	35.4 abc

Continúa en la página. 101

Tratamientos	P_{sr} (g)	P_{st} (g)	P_{sb} (g)	T_v	P_{tv} (g)	T_s	S_s	P_{ts} (g)
PCNB D	36.8 ab	45 a	81.7 abc	43.8 ab	63.6 a	56.2 ab	33.6 b.f	45.8 a
Testigo	41.3 ab	49 a	90.2 abc	41.4 abc	63.2 a	59.4 ab	43.8 a.d	38 a
	CV=23.1	CV=15.4	CV=15.1	CV=24.9	CV=21.5	CV=25.0	CV=36.9	CV=25.7
	$R^2=0.44$	$R^2=0.44$	$R^2=0.51$	$R^2=0.26$	$R^2=0.39$	$R^2=0.24$	$R^2=0.50$	$R^2=0.48$

Z = Medias con la misma letra dentro de cada columna son estadísticamente iguales (Duncan $\alpha = 0.05$). T. harzianum cepas Tcn-11 y Thzcf-12.
 PCNB = Pentacloronitrobenzeno; A = Antes; MT = Mismo tiempo; D = Después; P_{sr} = Peso seco de raíz; P_{st} = Peso seco de tallo; P_{sb} = Peso seco de biomasa;
 T_v = Total de vainas; P_v = Peso total de vainas; T_s = Total de semillas; S_s = Semillas sanas; P_{ts} = Peso total de semilla.
 Fuente: Elaboración propia.
 Viene de la página. 100

Discusión

Debido al bajo contenido de materia orgánica, se obtuvo un reducido número de aislamientos de *Trichoderma* spp., ya que este género se desarrolla en suelos con abundante materia orgánica (Howell, 2003). En la textura migajón arenosa se obtuvieron ocho de los doce aislados, a diferencia de Michel-Aceves *et al.* (2001), quienes obtuvieron 65 de 105 aislados de *Trichoderma* spp. en textura arcillosa y migajón arcillosa arenosa.

Por su parte, Roiger *et al.* (1991) reportaron una correlación positiva entre el porcentaje de limo y el número de aislados obtenidos; indicando que en suelos con pH superiores a 6.0 persisten mejor las esporas y valores similares de pH fueron determinados en este estudio (6.5 a 7.4). Comparando el número de aislados, entre otros factores limitantes, puede atribuirse a la época primaveral en que se realizaron los muestreos, los cuales se caracterizan por temperaturas altas y humedades relativas bajas. Harman y Kubicek (1998), mencionan que la temperatura y la humedad son dos parámetros de importancia para la distribución natural de *Trichoderma* spp. en el suelo.

Villegas y Castaño (1999), en un estudio sobre aislamientos de *Trichoderma* para el control de *Phytophthora cactorum* (Lebert et Cohn) Schroter en manzano, obtuvieron 51 aislados de 50 fincas en diferentes épocas del año, aspecto o situación que condicionó el crecimiento de los aislados. En las tierras de cultivo de la región norte de Tamaulipas, el género *Trichoderma* se encuentra en forma natural y no existe relación entre la especie y el origen en donde están presentes.

Aislaron *T. hammatum*, cepa HK701; *T. koningiopsis*, cepa HK702; *T. asperellum*, cepa HK703 de rizósfera de *Helianthus annuus* L., y *Trichoderma* sp, cepa HK704, de la rizósfera de *Pinus cembroides* Zucc. (Hernández *et al.*, 2011). Al respecto, Woo *et al.* (2006), mencionan que se pueden obtener cepas de *Trichoderma* tanto en praderas, bosques, desiertos, o en suelos de diferentes zonas climáticas. De las 15 huertas comerciales de plátano, Arzate-Vega *et al.* (2006), aislaron 25 cepas nativas de *Trichoderma* spp.

Respecto al porcentaje de inhibición en el método del celofán, Michel-Aceves *et al.* (2005b; 2009) reportan resultados similares al evaluar *in vitro* aislados nativos de *Trichoderma*, con inhibiciones de 16.40 a 77.80% en *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* (Snyder y Hansen) y de 13.10 a 94.40 para *S. rolfsii*.

Al respecto, Rodríguez y Arcia (1994b), indicaron que la capacidad antagonista de *Trichoderma* sobre *S. rolfsii* es directamente proporcional a la concentración de conidios utilizados; un tratamiento inhibió el 73% del crecimiento micelial de *S. rolfsii*, mientras que otro tratamiento a menor concentración sólo inhibió el 62% con un aislado obtenido en Venezuela; *Trichoderma* spp. puede utilizarse como agente de biocontrol no sólo contra éstas enfermedades, sino también para otros fitopatógenos de otros cultivos (Rodríguez y Arcia, 1994a; Michel-Aceves *et al.*, 2009).

Es importante destacar que entre menor sea el tiempo de contacto entre antagonista y fitopatógeno, existe mayor agresividad por parte de *Trichoderma* y, en consecuencia, menor resistencia por parte del fitopatógeno (Michel-Aceves *et al.*, 2005b). Los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Benhamou y Chet (1993), quienes

manifestaron que existió contacto al segundo día entre *T. harzianum* y *Rhizoctonia solani* Kunh.

Por otro lado, Michel-Aceves *et al.* (2005b) con *S. rolfsii* reportan tiempo de contacto de uno y dos días después de la siembra (dds); las especies que hicieron contacto más rápido fueron *T. longibrachiatum* Rifai; (Tl-15) y *T. (= Gliocladium) virens* Millar, Giddens y Foster (Tvs-2) con un día después de la siembra; todas las demás especies lo realizaron al segundo día. En un estudio similar, Yates *et al.* (1999) reportan que *T. viride* Pers. realizó el primer contacto con hifas de *Fusarium moniliforme* Sheldon después de seis días de la siembra de ambos hongos.

En este sentido, Bautista y Acevedo (1994) realizaron pruebas en cultivos duales entre 16 aislamientos de *Trichoderma*, de las cuales cinco presentaron gran potencial de antagonismo por su alta velocidad de crecimiento y capacidad de inhibir la formación de esclerocios. Michel-Aceves *et al.* (2005b), reportan resultados similares encontrando solamente tres aislados de *Trichoderma* de las 20 evaluadas, que detuvieron el crecimiento de *S. rolfsii*, con antagonismo clase uno y dos; mientras que el resto de las cepas el patógeno fueron más agresivas.

Así, se confirma que *Trichoderma* sp. podría destruir no sólo el micelio, sino también las estructuras de resistencia de *Macrophomina phaseolina* (Hernández *et al.*, 2011), lo cual coincide con lo reportado con anterioridad por Vera *et al.* (2005), quienes muestran que *Trichoderma* sp. es capaz de degradar e inhibir la formación de esclerocios (*Sclerotium cepivorum*).

Los resultados del crecimiento de *Trichoderma* spp., difieren a lo indicado por Michel-Aceves *et al.* (2005b), con crecimientos entre 43.30 y 90 mm de *Trichoderma* spp. en cultivo apareado con *S. rolfsii*. En las pruebas de antagonismo realizadas por Hernández *et al.* (2011), el crecimiento de *Trichoderma* spp. es variable frente a *F. oxysporum* y *M. phaseolina*; la cepa HK702 de *Trichoderma koningiopsis* crece más rápido que las otras tres cepas (HK701, HK703 y HK704).

En el caso del crecimiento de *S. rolfsii*, se obtuvieron valores similares a los de Michel-Aceves *et al.* (2005b), comprendidos entre los 30.50 y 41.50 mm frente *Trichoderma* spp. Al compararlo con otros fitopatógenos, el crecimiento de *M. phaseolina* con relación al testigo, a las primeras 24h crece más cuando está frente a *Trichoderma* spp. que cuando está solo; mientras que con *F. oxysporum* no afectó su velocidad de crecimiento, pero sí limitó su desarrollo una vez que entraron en contacto (Hernández *et al.*, 2011). Cook y Baker (1983) afirman que la velocidad de crecimiento presentada por las especies de *Trichoderma* es una característica de agresividad y competitividad que este microorganismo posee como antagonista para el control de fitopatógenos.

Rodríguez y Arcia (1994c) presentaron una tasa de crecimiento micelial mayor de *Trichoderma* que *S. rolfsii*, avanzando sobre el micelio de éste, reduciendo la producción de esclerocios, a una temperatura de 27°C que permitió expresar las habilidades antagónicas de *Trichoderma* spp., con 62% de micoparasitismo. Sin embargo, en las temperaturas altas (30°C) disminuyó la efectividad del control 8%.

Estos investigadores indican que la habilidad antagonica de *Trichoderma* spp. contra *S. rolfsii* es afectada por la temperatura alta y constante. En la presente investigación, la temperatura que prevaleció fue alta (40 a 42°C) y con una humedad relativa baja de 38 a 40%, que, probablemente, influyó de manera negativa en el comportamiento de *Trichoderma*.

Las características morfológicas que presentó la cepa nativa Tcn-11 corresponden a la especie *T. harzianum* con hifas hialinas y conidioforos hialinos muy ramificados no verticilados, fialides individuales o en grupos, de 3.5-7.5 μ x 2.5-3.8 μ de largo por ancho, fuertemente constreñidas en su base, conidias unicelulares, subglobosas, ovoides o elipsoidales, el largo y ancho osciló entre 3.3 μ x 2.9 μ , color verde fuerte a verde olivo; clamidosporas intercalares, terminales o solitarias de 5 μ a 13 μ de diámetro (Bissett, 1991). La identidad de las especies se confirmó con la identificación molecular mediante la comparación de secuencias con el banco de genes ([gi|169117650|gb|EU280129.1|Trichoderma harzianum strain CIB. 1100 0.0](#)).

De los resultados en condiciones de invernadero, Howell (2003) y otros autores como Mohiddin *et al.* (2010), indican que las especies de *Trichoderma* durante interacciones con plantas exhiben entre otras características: aumento de raíz, disparan su crecimiento y contribuyen a la resistencia o tolerancia de enfermedades. En este sentido, Hernández *et al.* (2011) reportan que el aislamiento HK703 de la especie *T. asperellum* mostró capacidad para incrementar significativamente la biomasa de raíz y el follaje de las plantas de maíz (Pionner 30P49®) tratadas.

Al respecto, Mohiddin *et al.* (2010) señalan que *Trichoderma* se localiza fuera y dentro de la rizósfera, donde puede colonizar y proteger las raíces. *Trichoderma* no sólo protege a la planta sino que la ayuda en su desarrollo; en este sentido, Stefanova (2007) menciona que el tratamiento de semillas de tabaco con *Trichoderma* reduce los contaminantes externos como *Rhizopus stolonifer* (Ehrenb.:Fr.) Vuill.; además, incrementa el porcentaje de germinación y estimula el crecimiento.

En un estudio similar con plantas de cacahuate cultivado en invernadero, Wells *et al.* (1972), cuando inocularon *S. rolfsii* sólo obtuvieron 33 plantas sanas en comparación de cuando inocularon *T. harzianum* + *S. rolfsii* o *T. harzianum* solo; en ambos tratamientos obtuvieron 100 plantas sanas. Esto indica que la cepa Thzcf-12 que ha sido evaluada por Michel-Aceves *et al.* (2004; 2005) es más agresiva con el fitopatógeno que la cepa nativa de *Trichoderma*, lo que implica que ésta contribuyó a proteger las plantas de cacahuate para reducir el número de semillas dañadas.

Por su parte, Alonso *et al.* (2002), en un estudio similar con semillas de tomate, indican que inoculando *T. harzianum* en la semilla tuvieron mayor número de plantas sanas y solamente fueron observados síntomas de la pudrición por *S. rolfsii* en las plantas no inoculadas.

A su vez, Elad *et al.* (1983) obtuvieron resultados similares en invernadero con diferentes tipos de inoculación de *T. harzianum* en plantas de frijol (sin inocular, suspensión conidial y preparación en salvado de trigo; además del tiempo de inoculación); estos autores indicaron un efecto de la concentración de *T. harzianum* sobre *S. rolfsii*; a mayor dosis

del antagonico (5 g kg^{-1}) disminuyó el número de las plantas enfermas, aun teniendo la mayor concentración del fitopatógeno.

Otro factor que evaluaron fue la temperatura del suelo que influyó de manera importante para incrementar las plantas enfermas estando *T. harzianum* presente; si fue superior a 30°C se incrementaron un 20% las plantas enfermas (Rodríguez y Arcia, 1994c) y para *S. rolfsii* si se tuvieron temperaturas superiores a los 30°C , se redujo el número de plantas enfermas.

El PCNB contribuyó a mejorar el peso de las semillas de cacahuete; sin embargo, la aplicación afecta a microorganismos benéficos para la planta. En general, *Trichoderma* influyó al incrementar el peso de las vainas, el número de semillas y, por consiguiente, a obtener mayor rendimiento debido al mayor número y peso promedio de semillas en cada vaina.

En este sentido, Mohiddin *et al.* (2010) indican al género *Trichoderma* como promotor del desarrollo y rendimiento de las plantas. Asimismo, Hernández *et al.* (2011) mencionan que algunas especies de *Trichoderma* tienen capacidad para incrementar significativamente la biomasa de raíz y el follaje de las plantas.

Conclusiones

Se obtuvieron 12 aislados nativos, se seleccionó a Tcn-11 el cual se identificó morfológica y genéticamente como *Trichoderma harzianum*. En general, se observó que *Trichoderma* protegió al cultivo del cacahuete del ataque de *S. rolfsii*, tal como demuestran las variables agronómicas y de rendimiento que fueron evaluadas en este trabajo.

Literatura citada

- Agrios, N. G. (2007). *Fitopatología*. Editorial Limusa. Segunda Edición. México. 838 pp.
- Alonso, R. R.; Barranco, M. B.; Gracia, R. G. y Jiménez, M. G. (2002). Actividad *in vivo* de *Trichoderma harzianum* sobre *Sclerotium rolfsii* en plántulas de tomate. Centro Agronómico Tropical de Investigación y Enseñanza (CATIE). *Man. Integ. Plag Agroecol.* 66:45-48.
- Ahrens, U. y Seemuller, N. (1992). Detection of DNA plant pathogenic mycoplasma by a polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16SrRNA gene. *Phytopathology* 82:828-832.
- Arzate-Vega, J.; Michel-Aceves, A. C.; Domínguez-Márquez, V. M. y Santos-Eméstica, O. A. (2006). Antagonismo de *Trichoderma* spp., sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la sigatoka negra del plátano (*Musa* sp.) *in vitro* e invernadero. *Rev. Mex. Fitopatol.* 24:98-104.
- Barnett, H. L. y Hunter, B. B. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi*. Four Edition. APS Press. St. Paul, Minnesota. 241 pp.
- Bautista, I. y Acevedo, R. (1994). Antagonismo *in vitro* de dieciséis aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Sclerotium cepivorum*. *Fitopatol. Venez.* 6:42-68.
- Bissett, J. (1991). A revision of the genus *Trichoderma*. II. Infrageneric classification. *Can. J. Bot.* 69: 2357-2372.
- Bell, D. K.; Well, H. D. y Markham, C. R. (1982). *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Phytopathology* 72: 379-382.
- Benhamou, N. y Chet, I. (1993). Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Rhizoctonia solani*: Ultrastructure and gold cytochemistry of the mycoparasitic process. *Phytopathology* 83: 1062-1071.
- Cherif, M. y Benhamou, N. (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.

- Cook, R. J. y Baker, K. F. (1983). *The nature and practice of biological control of plant pathogens*: American Society of Phytopathology. Stn Paul, Minnesota. 539 pp.
- Dennis, C. y Webster, J. (1971). Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. III. Hyphal interactions. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 57: 363-369.
- Druzhinina, S.I.; Kopchinskiy, G.A. y Kubicek, P.C. (2006). The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience* 47:55-64.
- Elad, Y.; Chet, I.; Boyle, P. y Henis, Y. (1983). Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfii*-Scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. *Phytopathology* 73: 85-88.
- García, E. (1988). *Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen*. Cuarta edición. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. México. D.F. 217 pp.
- Gurr, G. y Wratten, S. (2000). *Measures of success in biological control*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, Netherlands, 448 pp.
- Harman, G. E. y Kubicek, C. P. (1998). *Trichoderma and Gliocladium. Enzymes, Biological Control and Commercial Applications*. Volumen 2. Taylor & Francis, Inc. Bristol, PA. USA. 393 pp.
- Hernández, M. J. L.; Sánchez, P. M. I.; García, O. G. J.; Mayek, P. N.; González, P. J. M. y Quiroz, V. J. di C. (2011). Caracterización molecular y agronómica de aislados de *Trichoderma* spp nativos del noreste de México. *Rev. Colomb. Biotecnol.* XIII (2):176-185
- Howell, C. R. (2003). Mechanism employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Dis.* 87: 4-10.
- INAFED. (2010). Instituto para el Federalismo y el Desarrollo Municipal. Secretaría de Gobernación. Enciclopedia de los municipios y delegaciones de México. Estado de Guerrero. Municipio de Iguala y Huitzucó. En: www.e-local.gob.mx/work/templates/enciclo/EMM12guerrero (Consultado en mayo de 2013).
- Michel-Aceves, A. C.; Rebolledo-Domínguez, O. y Lezama-Gutiérrez, R.; Ochoa-Moreno, M. E.; Mesina-Escamilla, J. C. y Samuels, G. (2001). Especies de *Trichoderma* en suelos cultivados con mango afectados por "Escoba de bruja" y su potencial inhibitorio sobre *Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*. *Rev. Mex. Fitopatol.* 19: 154-160.
- Michel-Aceves, A. C.; Otero-Sánchez, M. A.; Rebolledo-Domínguez, O. y Lezama-Gutiérrez, R. (2004). Producción y actividad antibiótica del 6 pentil-alfa-pyrone de *Trichoderma* spp. Sobre especies de *Fusarium*. *Rev. Mex. Fitopatol.* 22: 14-21.
- Michel-Aceves, A. C.; Otero-Sánchez, M. A.; Rebolledo-Domínguez, O.; Lezama-Gutiérrez, R.; Ariza-Flores, R. y Barrios-Ayala, A. (2005a). Producción y efecto antagónico de quitinasas y glucanasas por *Trichoderma* spp., en la inhibición de *Fusarium subglutinans* y *Fusarium oxysporum* *in vitro*. *Rev. Chapingo, Serie Horticultura* 11: 273-278.
- Michel-Aceves, A. C. ; Reyes-De la Cruz, A.; Otero-Sánchez, M. A.; Rebolledo-Domínguez, O. y Lezama-Gutiérrez, R. (2005b). Potencial antagónico de *Trichoderma* Pers.:Fr. spp., sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Snyder y Hansen) y *Sclerotium rolfii* (Sacc.) *in vitro* e invernadero. *Rev. Mex. Fitopatol.* 23: 284-291.
- Michel-Aceves, A. C. ; Otero-Sánchez, M. A.; Solano-Pascacio, L. Y.; Ariza-Flores, R.; Barrios-Ayala, A. y Rebolledo-Martínez, A. (2009). Biocontrol *in vitro* con *Trichoderma* spp. de *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *F. oxysporum* Schlecht., agentes causales de la "Escoba de Bruja" del Mango (*Mangifera indica* L.). *Rev. Mex. Fitopatol.* 27:18-26.
- Mohiddin, F. A.; Khan, M. R.; Khan, S. M. y Bhat, B. H. (2010). Why *Trichoderma* is considered super hero (super fungus) against the evil parasites? *Plant Pathology Journal* 9: 92-102.
- Nelson, P.E.; Toussoun, T.A. y Marasas, W.F.O. (1983). *Fusarium* species, an illustrated manual for identification. The Pennsylvania State University Press. University Park and London. 193 pp.
- Robles, S. R. (1991). *Producción de oleaginosas y textiles*. Tercera Edición. Editorial Limusa, S.A de C.V. México, D.F. 675 pp.
- Rodríguez, I. y Arcia, A. (1994a). Caracterización fisiológica de dos aislamientos de *S. rolfii* procedentes de El Sombrero Estado Guarico y de la Misión, Estado Portuguesa. Resumen. *Fitopatol. Venez.* 6(2):61.
- Rodríguez, I. y Arcia, A. (1994b). Influencia de diferentes concentraciones de conidios de *Trichoderma* spp. en el control de *Sclerotium rolfii*. Resumen. *Fitopatol. Venez.* 6(2):62.

- Rodríguez, I. y Arcia, A. (1994c). Efecto de doce aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre el número, tiempo de formación y porcentaje de parasitismo de esclerocios de *Sclerotium rolfsii* en cuatro temperaturas diferentes. Resumen. *Fitopatol. Venez.* 6(2):54.
- Roiger, J. D.; Jeffers, S. N. y Caldwell, R. W. (1991). Occurrence of *Trichoderma* species in apple orchard and woodland soils. *Soil Biol. Biochem.* 23: 353-359.
- SAS, Institute. Inc. (1999). *SAS user's guide: Statistics*. Release 6.03. Ed. SAS Institute Incorporation. Cary, NC, USA. 1,028 pp.
- Stefanova, N. M. (2007). Introducción y eficacia del biocontrol de fitopatógenos con *Trichoderma* spp. en Cuba. *Fitosanidad* 11(3):75-79.
- Torres, D. y Capote, T. (2004). Agroquímicos un problema ambiental global: uso del análisis químico como herramienta para el monitoreo ambiental. *Ecosistemas* 13:2-6.
- Villegas, E. B. y Castaño, Z. J. (1999). Identification of promising isolate of *Trichoderma* spp. for the control *Phytophthora cactorum* (Lebert & Conh) Schrbeter, causing crow rot and root of apple (*Malus domestica* Borkh.). *Caldas Fitopatol.* 32:1-5.
- Vera, R.; Moreno, B.; Acevedo, R. y Trujillo, E. (2005). Caracterización de aislamientos de *Trichoderma* spp. por tipo de antagonismo y electroforesis de isoenzimas. *Fitopatol. Venez.* 18(1):2-8.
- Wells, H.D.; Bell, D. K. y Jaworski, C. A. (1972). Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 62: 442-447.
- Woo, S. L.; Scala, F.; Ruocco M. y Lorito, M. (2006). The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., pathogenic fungi, and plants. *Phytopathology* 96:181-185.
- Worasatit, N.; Sivasithampam, K.; Ghisalberti, E. L. y Rowland, C. (1994). Variation in pyrone production, lytic enzymes and control of *Rhizoctonia* root rot of wheat among single-spore isolates of *Trichoderma koningii*. *Mycol. Res.* 98: 1357-1363.
- Yates, I. E.; Meredith, F.; Smart, W.; Bacon, C. W. y Jaworski, A. J. (1999). *Trichoderma viride* suppresses fumonisin B1 production by *Fusarium moniliforme*. *Food Protec.* 62: 1326-1332.

Recibido: Enero 21, 2013
Aceptado: Agosto 09, 2013



Título: *Perfil ando*
Autor: Adoración Palma (2manoS)
Técnica: Mixta (scratch con guardas y plumón indeleble)
Medidas: 8x16cm
Año: 2013