



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

FACULTAD DE ESTUDIOS SUPERIORES CUAUTITLÁN

COMPARACIÓN *IN VITRO* DEL ANTAGONISMO DE UNA CEPA  
COMERCIAL Y UNA CEPA ENDÉMICA DE *Trichoderma* sp. CONTRA  
*Alternaria* sp. EN BRÓCOLI, EN TRES LOCALIDADES DE GUANAJUATO.

T E S I S  
QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
I N G E N I E R A A G R Í C O L A  
P R E S E N T A :  
MARÍA DE LOURDES LILIAN MAYA CHÁVEZ

ASESORA: M. C. YAZMÍN CUERVO USÁN



Universidad Nacional  
Autónoma de México



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **DEDICATORIAS.**

### **A Dios.**

*Por darme la fuerza, al estar conmigo en cada momento de mi carrera y de mi ser. Gracias Señor.*

### **A la UNAM.**

*Por existir y haberme permitido formar parte de ella y llegar a ser un buen profesionista con la ayuda de mis profesores. Porque tengo la sangre azul y la piel dorada. Gracias.*

### **A Mis Papás.**

*Pedro Maya y Ana María Chávez, por darme la vida, el cariño y el apoyo brindado a lo largo de mi educación, ya que sin su respaldo nunca hubiese logrado mis metas y mis sueños, son lo más importante en mi vida, los Quiero Mucho. Es un triunfo dedicado a ustedes Gracias por todo.*

### **A Mi Hermano y Sobrino.**

*Hugo Maya y Pedro O. Maya por su apoyo brindado durante mis estudios y realización de esta tesis y los momentos de alegría y felicidad, los Quiero Mucho. Gracias por todo.*

### **Al Dr. Arturo Trejo y Dra. Yolanda Pérez.**

*Por su guía y apoyo brindado durante mis estudios, ya que sin sus recomendaciones y consejos no hubiese terminado mi licenciatura. Gracias por todo.*

### **A Mi Asesora.**

*M. C. Yazmín Cuervo por creer en mí, además de su apoyo, amistad, comprensión, confianza y las facilidades que me brindó para la realización de esta tesis. Gracias por todo Profesora Consentida.*

### **A Ornis.**

*A mi profesor Edgar Ornelas, que me brindó su amistad y apoyo en los momentos más difíciles, además de ser un gran amigo. Gracias por todo.*

## ***Agradecimientos.***

### ***A Julio Celis.***

*Eres una persona muy especial para mí, gracias por estar conmigo en las buenas y en las malas, por ser esa persona tan linda no cambies nunca, tú me demostraste que existen personas que dan su amistad sin pedir nada a cambio ya sabes que TQM.*

### ***A mis Amigos.***

*Rene Valdez, Demetrio Matias, Enrique Canales, Geovania Alcántara, José, Chino y Omar Cruz que me acompañaron durante toda la licenciatura viviendo grandes momentos y experiencias que quedan guardadas en nuestros corazones, gracias por todo y por su apoyo para la culminación de un gran sueño que es mi titulación, nunca cambien los quiero mucho Lilian.*

### ***A mis Amigas.***

*Anabel Moreno, Viviana Alvarado, Isaura Hernández y Beatriz Martínez, gracias por su amistad que forma parte de mí, por esos momentos de alegría, las experiencias que tuvimos al convivir en esos viajes de practica en donde aprendimos muchas cosas, gracias por su apoyo en la realización de este trabajo gracias por todo, siempre van a estar presentes, las quiero mucho Lilian.*

### ***A Diví.***

*Gracias por tu amistad y apoyo brindado durante la realización de este proyecto esta es la culminación de un trabajo en equipo formado por Alma y Angélica que con su ayuda se realizó bajo un buen ambiente haciendo más fácil la convivencia en el laboratorio. Gracias...*

### ***A los Laboratoristas.***

*Verónica y Beto por su apoyo y compromiso que tuvieron para la realización de este trabajo de tesis gracias por todo. Al Ing. Agr. Rafael y a Israel por los materiales prestados para la realización de mi tesis gracias por todo.*

### ***A la generación 29.***

*Gracias por todo.*

## ÍNDICE

Índice de cuadros	ii
Índice de figuras	iii
RESUMEN	iv
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	<b>1</b>
1.1. Objetivo	2
1.2. Hipótesis	2
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b>	<b>3</b>
2.1. Generalidades del brócoli	3
2.1.1. Importancia económica	3
2.1.2. Origen	4
2.1.3. Clasificación	4
2.1.4. Morfología	5
2.1.5. Condiciones edafoclimáticas	7
2.1.6. Plagas y enfermedades del brócoli	7
2.2. Generalidades de <i>Alternaria</i> spp	10
2.2.1. Distribución e importancia	10
2.2.2. Clasificación taxonómica	10
2.2.3. Morfología	11
2.2.4. Síntomas	13
2.2.5. Control	15
2.3. Generalidades de <i>Trichoderma</i> spp	16
2.3.1. Distribución e importancia	16
2.3.2. Clasificación taxonómica	17
2.3.3. Morfología	18
2.4. Control biológico	19
2.4.1. Mecanismos de control biológico de <i>Trichoderma</i> spp	21
2.4.1.1. Competencia por nutrientes	21

2.4.1.2.	Antibiosis _____	21
2.4.1.3.	Fungistasis _____	22
2.4.1.4.	Hiperparasitismo _____	22
2.4.1.5.	Biofertilización y fomento de mecanismos de defensa en las plantas __	23
2.4.2.	Ventajas del control biológico_____	24
2.4.3.	Antecedentes de investigaciones realizadas con <i>Trichoderma</i> _____	25
<b>III.</b>	<b>MATERIALES Y MÉTODOS</b> _____	<b>30</b>
1.	Extracción de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp. del suelo _____	32
2.	Extracción de cepas de <i>Alternaria</i> spp. de partes vegetales _____	35
3.	Siembra de los antagonistas _____	37
<b>IV.</b>	<b>RESULTADOS</b> _____	<b>38</b>
<b>V.</b>	<b>DISCUSIÓN</b> _____	<b>42</b>
<b>VI.</b>	<b>CONCLUSIONES</b> _____	<b>46</b>
<b>VII.</b>	<b>GLOSARIO</b> _____	<b>47</b>
<b>VIII.</b>	<b>BIBLIOGRAFÍA</b> _____	<b>49</b>
	Anexo 1 _____	57
	Anexo 2 _____	59

## Índice de cuadros

<b>Cuadro 1.</b>	Clasificación taxonómica del brócoli _____	5
<b>Cuadro 2.</b>	Valor nutricional del brócoli _____	6
<b>Cuadro 3.</b>	Plagas del brócoli _____	8
<b>Cuadro 4.</b>	Enfermedades del brócoli _____	9
<b>Cuadro 5.</b>	Clasificación taxonómica de <i>Alternaria</i> spp. _____	11
<b>Cuadro 6.</b>	Clasificación taxonómica de <i>Trichoderma</i> spp. _____	18
<b>Cuadro 7.</b>	Descripción de los tratamientos para la evaluación del antagonismo de <i>Trichoderma-Alternaria</i> . _____	31
<b>Cuadro 8.</b>	Descripción de los tratamientos para la evaluación de la comparación de la eficiencia entre la cepa comercial y las cepa endémica de <i>Trichoderma</i> spp. _____	31
<b>Cuadro 9.</b>	Promedios del crecimiento final expresados en cm de <i>Alternaria</i> spp. de los tres Ranchos _____	38
<b>Cuadro 10.</b>	Promedios del crecimiento final expresados en cm de <i>Trichoderma</i> spp. del Rancho La Minita _____	39
<b>Cuadro 11.</b>	Promedios del crecimiento final expresados en cm de <i>Trichoderma</i> spp. del Rancho El Queretano _____	40
<b>Cuadro 12.</b>	Promedios del crecimiento final expresados en cm de <i>Trichoderma</i> spp. del Rancho Las Arboledas _____	41

## Índice de figuras

<b>Figura 1.</b>	a) cultivo de brócoli; b) planta de brócoli; c) hoja; d) florete _____	6
<b>Figura 2.</b>	Micelio y cadenas de <i>Alternaria</i> spp. _____	12
<b>Figura 3.</b>	Conidios de <i>Alternaria</i> spp. _____	12
<b>Figura 4.</b>	Formación blástica de conidios de <i>Alternaria</i> spp. _____	12
<b>Figura 5.</b>	Distribución de los conidios de <i>Alternaria</i> spp. _____	13
<b>Figura 6.</b>	a) síntomas característicos provocados en el brócoli por <i>Alternaria</i> spp. b) halo clorótico alrededor de la mancha _____	14
<b>Figura 7.</b>	Ataque de <i>Alternaria</i> spp. _____	14
<b>Figura 8.</b>	Síntomas en el florete provocados por <i>Alternaria</i> spp. _____	15
<b>Figura 9.</b>	Micelio y formación de conidios de <i>Trichoderma</i> spp. _____	18
<b>Figura 10.</b>	Conidios y esporas de <i>Trichoderma</i> spp. _____	19
<b>Figura 11.</b>	Tamizado del suelo _____	32
<b>Figura 12.</b>	Dilución en serie modificada para la extracción de <i>Trichoderma</i> spp. del suelo _____	33
<b>Figura 13.</b>	Dilución en serie _____	34
<b>Figura 14.</b>	Colonias de <i>Trichoderma</i> spp. _____	34
<b>Figura 15.</b>	Material biológico comercial _____	35
<b>Figura 16.</b>	Siembra de partes vegetales en PDA _____	36
<b>Figura 17.</b>	Cultivo mixto con presencia de <i>Alternaria</i> spp. _____	36
<b>Figura 18.</b>	Cepa pura de <i>Alternaria</i> spp. _____	36
<b>Figura 19.</b>	Obtención del disco de <i>Alternaria</i> spp. y <i>Trichoderma</i> spp. _____	37
<b>Figura 20.</b>	Cultivo dual _____	37
<b>Figura 21.</b>	Crecimiento expresado en cm de <i>Alternaria</i> spp. de los tres ranchos _____	38
<b>Figura 22.</b>	Crecimiento expresado en cm de <i>Trichoderma</i> spp. del rancho “La Minita” _____	39
<b>Figura 23.</b>	Crecimiento expresado en cm de <i>Trichoderma</i> spp. del rancho “El	

	Queretano" -----	40
<b>Figura 24.</b>	Crecimiento expresado en cm de <i>Trichoderma</i> spp. del rancho "Las Arboledas" -----	41
<b>Figura 25.</b>	Antagonismo de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Alternaria</i> spp. -----	42
<b>Figura 26.</b>	Antagonismo de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Alternaria</i> spp. se puede observar que las hifas de <i>T.</i> enredan a las hifas de <i>A.</i> -----	42

## RESUMEN.

El uso indiscriminado de los plaguicidas ha incrementado los problemas fitosanitarios, aumentando la magnitud de epidemias, contaminando y alterando el medio a través de la acumulación de los químicos en los suelos, el agua, el aire, en los residuos agrícolas y animales. Una mejor opción es el control biológico, ya que con la ayuda de los recursos naturales podemos aprovechar el uso de microorganismos antagonistas como es el caso de *Trichoderma* spp. que es una alternativa ecológica, que ayuda a proteger los recursos naturales y animales.

Se evaluó la capacidad antagónica *in vitro* de una cepa comercial y de una cepa endémica de *Trichoderma* spp. contra *Alternaria* spp. en tres localidades en el estado de Guanajuato. Se utilizó un diseño de bloques al azar, con un análisis estadístico de comparación de medias, con una temperatura óptima para el crecimiento de 28°C, teniendo como resultado que en el rancho “La Minita” la eficiencia de la cepa endémica y de la cepa comercial no tuvo diferencia significativa, en el rancho “El Queretano” la cepa endémica supero a la comercial en la última fecha de colecta y en el rancho “Las Arboledas” la eficiencia de la cepa endémica fue mejor que la comercial.

En el crecimiento *in vitro*, *Trichoderma* spp. es antagónico de *Alternaria* spp. inhibiendo su desarrollo. La aplicación de fungicidas altera las poblaciones endémicas de *Trichoderma*.

## I. INTRODUCCIÓN.

Los plaguicidas han logrado el propósito para el cual fueron concebidos, es decir, para el control de las poblaciones de insectos, patógenos y de las malezas, a niveles que no causen daños económicos a los cultivos. Su uso indiscriminado ha incrementado el problema, originando resistencia tanto a herbicidas como a insecticidas y fungicidas, estimulando brotes de plagas primarias o secundarias, aumentando la magnitud de diversas epidemias, y contaminado o alterando el medio a través de su acumulación en el suelo, en el agua, en el aire y sobre los residuos agrícolas y animales.

El mayor problema de resistencia se presenta con los fungicidas, en gran medida con los sistémicos, los que por su acción selectiva inducen la aparición de hongos resistentes. Es por esto que se ha comenzado la búsqueda de productos alternos altamente selectivos, ambientalmente inofensivos y de utilización segura para su control, utilizando principalmente sus enemigos biológicos naturales, es decir, la aplicación del control biológico.

El control biológico de hongos se define como la reducción de la densidad del inóculo o de las actividades de los patógenos, por uno o más organismos, a través de la manipulación del medio ambiente, del hospedero o del enemigo biológico, ya sea un antagonista, un hiperparásito o un parasitoide.

El conocimiento y la aplicación de los agentes de control biológico adquieren una importancia relevante como una alternativa en el desarrollo de una agricultura sustentable que preserve los recursos naturales para la explotación de los agentes biológicos en el control de los hongos fitopatógenos, lo cual implica una amplia investigación (Serrano y Galindo, 2007).

Dentro de los agentes biológicos más utilizados para el control de las enfermedades fungosas, destaca el hongo del género *Trichoderma*, cuyas especies son: *T. viride*, *T. virens*, *T. pseudokoningii*, y *T. harzianum*, siendo esta última la más importante ya que establece relaciones fisiológicas con algunos patógenos de las plantas.

Las interacciones biológicas que ocurren entre los organismos del suelo que se relacionan con los cultivos, difieren de acuerdo a las condiciones particulares de cada lugar, razón por la cual los productos comerciales de biocontrol muestran diferentes grados de eficiencia, por lo que es necesario llevar a cabo las evaluaciones correspondientes de estos productos de manera comparativa con la micoflora endémica, para así poder determinar la eficiencia del antagonismo, como en el caso de las especies de *T. harzianum*, contra algunas especies de hongos fitopatógenos que se encuentran en el suelo y en las hojas, como son: *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Phytophthora* spp., *Sclerotium* spp. y *Alternaria* spp. (Orieta y Larrea, 2001., Elosigui, 2006).

#### 1.1. OBJETIVO.

Contrastar el antagonismo *in vitro* de una cepa comercial y una cepa endémica de *Trichoderma* sp., contra *Alternaria* sp. en brócoli, en tres localidades de Guanajuato.

#### 1.2. HIPÓTESIS.

La cepa endémica de *Trichoderma* sp., mostrará un antagonismo mayor que la cepa comercial del mismo hongo en su interacción con *Alternaria* spp.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA.

### 2.1. Generalidades del Brócoli.

#### 2.1.1. Importancia Económica.

Es bien conocido que México cuenta con una variedad y diversidad de climas, suelos, personas, costumbres, lo que lo hace un país atractivo para producir hortalizas durante todo el año tanto en presentaciones frescas como congeladas (Valadez, 2001).

Nuestro país se encuentra entre los principales productores y exportadores de hortalizas, ubicándose en el cuarto lugar a nivel mundial y en el primero en el continente. La industrialización de hortalizas está concentrada en la región del Bajío y Noroeste del país (Financiera Rural, 2008).

El Bajío es una de las zonas con mayor productividad, ya que durante el ciclo de cultivo son indispensables actividades manuales y mecánicas que contribuyen a la generación de empleos, tanto por el número de especies que se cultivan como por la superficie que ocupan, esta región constituye una de las principales entidades productoras y exportadoras de granos y hortalizas (Peña, *et al.*, 2002).

De las 19 empresas dedicadas a congelar hortalizas existentes en México, 8 están establecidas en Sonora, Aguascalientes, Michoacán y Querétaro, y 11 se localizan en “corredor industrial” de Guanajuato (Celaya-León), que en su gran mayoría son exportadas a Estados Unidos. La ubicación de las empresas se debe a la cercanía de abasto o producción de las hortalizas, lo que resulta muy importante tratándose de productos

que se deterioran rápidamente; menores costos de transporte entre el campo y la industria y la existencia de mano de obra barata y del recurso agua (que en los años 80's todavía era abundante), fueron elementos que llevaron a la industria a establecerse en la zona del Bajío de Guanajuato (Echánove, 2000; Echánove y Steffen, 2001).

La trascendencia del brócoli, es que las demandas de exportación han crecido de manera importante en los últimos años. Una buena parte de estos productos se consume en forma procesada, que después de someterse a un proceso industrial de pre-cocido y congelado, son enviadas a Estados Unidos a granel y en menor medida en distintas formas de presentación (Echánove y Steffen, 2001).

#### 2.1.2. Origen.

El cultivo de brócoli es originario del Mediterráneo oriental, concretamente en el Próximo Oriente (Egipto, Irán, Irak, Israel, Jordania, Kuwait, Líbano, Arabia Saudita, Siria y Turquía). En cuanto a su aparición, es más reciente que el repollo o col y la coliflor, siendo introducido a Estados Unidos en 1925 por inmigrantes italianos (Valadez, 1994; Maroto, *et al.*, 2007).

#### 2.1.3. Clasificación taxonómica.

El género *Brassica* es uno de los más importantes para algunos botánicos, ya que las coliflores y los brócolis pertenecen a la misma variedad botánica, distinguiéndose en su forma. En el cuadro 1 se muestra la clasificación taxonómica del brócoli.

Cuadro 1. Clasificación taxonómica del brócoli

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Orden	Capparales
Familia	Cruciferae (Brassicaceae)
Género	<i>Brassica</i> L.
Especie	<i>oleracea</i>
Variedad	itálica

Fuente: CONABIO, 2008.

#### 2.1.4. Morfología.

El brócoli es una planta anual, erecta, tiene de 60 a 90 cm de altura y termina en una masa de yemas funcionales. Los tallos florales salen de las axilas foliares una vez que la cabeza principal ha sido removida. La parte comestible es una masa densa de yemas florales de color verde, que pueden alcanzar un diámetro de hasta 35 cm, sin embargo las cabezas de los rebrotes solamente alcanzan 10 cm (Fig. 1). Las flores son de color amarillo y tienen cuatro pétalos en forma de cruz, de donde proviene el nombre de la familia a la que pertenece. El fruto es una silícula de color verde oscuro cenizo que mide en promedio de 3 a 4 cm, contiene de 6 a 8 semillas por silicua, las semillas tienen forma de munición y miden de 2 a 3 mm de diámetro. Posee una raíz pivotante que puede llegar a penetrar hasta 1.20 m de profundidad. El sistema de raíces secundario es muy abundante (Valadez, 1994).

El brócoli tiene un alto valor nutricional y medicinal que radica principalmente en su alto contenido de vitaminas, minerales, carbohidratos y proteínas, además de su poder antioxidante que refuerza sus propiedades anticancerígenas. En el cuadro 2 se muestran

los datos de la composición nutricional, se deben interpretar por 100 g de la porción comestible.



**Figura. 1.** a) cultivo de brócoli; b) planta de brócoli; c) hoja; d) florete.

**Cuadro 2.** Valor nutricional del brócoli

<b>COMPUESTO</b>	<b>CANTIDAD</b>
Calorías	28 Kcal
Agua	90.69 g
Proteínas	2.98 g
Grasa	0.35 g
Cenizas	0.92 g
Carbohidratos	5.24 g
Fibra	3 g
Calcio	48 mg
Hierro	0.88 mg
Fosforo	66 mg
Vitamina C	93.2 mg

Fuente: FAO, 2006.

### 2.1.5. Condiciones edafoclimáticas.

El brócoli es una hortaliza propia de climas fríos y frescos, sin embargo, en la región del Bajío se puede explotar durante todo el año, ya que puede tolerar heladas (-2°C) siempre y cuando no se haya formado aun la inflorescencia, debido a que ésta es fácilmente dañada por las bajas temperaturas. (Valadez, 1994; Maroto, *et al.*, 2007).

El rango de temperatura para germinación es de 5°C a 28°C, alcanzando a emerger a los 3 y 8 días respectivamente. La temperatura para su desarrollo es de 15°C a 25°C, siendo la óptima de 17°C (Valadez, 1994; Maroto, *et al.*, 2007).

Se desarrolla bien en cualquier tipo de suelo, siendo mejor los franco-arenosos, con buen contenido de materia orgánica, tolera un pH ligeramente ácido, siendo su rango de 6.0 a 6.8 y medianamente tolerante a la salinidad. El suelo debe ser suficientemente fértil para un rápido crecimiento (Valadez, 1994; Sulunkhe y Kadam, 2004).

### 2.1.6. Plagas y Enfermedades del brócoli.

El brócoli, así como el resto de las crucíferas, pueden ser atacados por plagas tanto en su parte aérea como en las raíces. Se pueden destacar pulgones, chinches, palomilla y gusanos. En el cuadro 3 se muestran las plagas del brócoli.

Las principales enfermedades que atacan al brócoli son causadas por bacterias y hongos, entre lo que podemos destacar los mildius, las pudriciones, los amarillamientos, las royas y las manchas. En el cuadro 4 se muestran las enfermedades del brócoli.

Cuadro 3. Plagas del brócoli

PLAGAS		
NOMBRE COMÚN	NOMBRE CIENTÍFICO	DAÑOS QUE CAUSAN
Palomilla dorso de diamante	<i>Plutella xylostella</i> L.	Las larvas se alimentan principalmente en el envés de las hojas, haciendo pequeños hoyitos. En épocas secas aumentan su población.
Gusano falso medidor de la col	<i>Trichoplusia ni</i> (Hübner)	Se alimenta de las hojas
Pulgón de la col	<i>Brevicoryne brassicae</i> L.	Las ninfas y los adultos absorben la savia de las plantas causando deformaciones, achaparramiento, rizado, marchitamiento y poco después la muerte.
Caracoles y babosas	<i>Helix aspersa</i> <i>Deroceras reticulatum</i> Müller	Son plagas frecuentes, que pueden producir daños importantes.
Chinche arlequín	<i>Murgantia histrionica</i> (Hahn)	Los adultos y las ninfas chupan la savia de las hojas y los tallos, inyectando una sustancia tóxica que retardan el crecimiento de las plantas.
Diabrotica	<i>Diabrotica balteata</i> (Le Conte) <i>Diabrotica undecimpunctata howardi</i> (Baber)	Las larvas minan las raíces y se alimentan dentro de ella. Los adultos se alimentan de las flores y del follaje. Los daños más severos se registran en plantas jóvenes, además de ser vectores de algunas enfermedades virosas.
Gusano importador de la col	<i>Pieris rapae</i> L.	Las larvas atacan las hojas y tallos generalmente hacen agujeros grandes de forma y tamaño regulares.
Mosca blanca	<i>Aleurodes brassicae</i>	Ataca principalmente el envés de las hojas donde debilita a la planta mediante la succión de su savia.
Gusano rayado de la col	<i>Leptophobia aripa</i> (Bois duval)	Las larvas se alimentan de sus propios huevecillos y posteriormente se desplazan por toda la planta comiéndose las hojas.
Pulga saltona	<i>Epitrix cucumerix</i> (Harry) <i>Chactocnema</i> sp. <i>Phyllotreta</i> spp.	Las larvas atacan raíces y producen cierto tipo de minadura en el follaje, los adultos se alimentan de la parte inferior de las hojas, dando apariencia de tiro de munición. El mayor daño se registra cuando las plantas se encuentran en etapa de cotiledón.

Fuente: Castaños, 2000; Maroto, *et al.*, 2007.

Cuadro 4. Enfermedades del brócoli

Enfermedades		
Nombre común	Nombre científico	Daños
Mancha foliar	<i>Alternaria brassicae</i> , <i>A. brassicicola</i> , <i>A. alternata</i> , <i>A. raphani</i> (Berk) Sacc.	Inicialmente se ven puntos café-oscuros en las hojas, posteriormente crecen para originar una mancha gris con anillos concéntricos y con los bordes de color púrpura o negro; todas las lesiones se rodean de un halo clorótico.
Podredumbre blanda	<i>Erwinia carotovora</i>	Produce un deterioro viscoso con olor desagradable que se desarrolla durante el almacenamiento y el transporte. La putrefacción blanda también ocurre normalmente cuando los campos están saturados de agua.
Pudrición negra	<i>Xanthomonas campestris</i> (E.F. Smith)	Los primeros síntomas se manifiestan por manchas necróticas en los márgenes de las hojas. Las áreas afectadas se tornan café y se secan, dejando una lesión en forma de "V", internamente en los tallos se puede detectar anillos negros.
Cenicilla vellosa	<i>Peronospora parasitica</i> (Pers y Fr) <i>P. efusa</i> (Grev. Ex Desm)	Produce el signo característico de las cenicillas vellosas con vellosidades blanco-grisáceas que se desarrollan en la parte inferior de las hojas infectadas durante las épocas de humedad y frías, tanto en el haz como en el envés de las hojas se detectan manchas de forma irregular, se extiende a tallos e inflorescencias donde se manifiestan áreas café oscuras o manchas morado oscuras.
Botritis	<i>Botrytis cinerea</i>	Ataca las hojas, el cuello o el florete. Es muy polífago y manifiesta enseguida su típico micelio gris-ceniza con abundantes conidios.
Marchitez por <i>Fusarium</i> o amarillamiento	<i>Fusarium oxysporum</i> <i>F. cepae</i> (Hans) Snyd. Y Hans F.	Su síntoma es el amarillamiento de las hojas tiernas, seguido de un marchitamiento general. Las raíces adquieren una coloración rosada y se pudren. El ataque de plagas de suelo aceleran los daños en la raíz.
Moho Blanco o pudrición blanca	<i>Sclerotinia sclerotiorum</i> (Lib) Sacc.	El hongo infecta al tallo principalmente e invade el tejido cortical, con bastante rapidez sin mostrar síntomas visibles hasta que repentinamente la planta se marchita.
Pierna negra de las crucíferas	<i>Phoma lingam</i> (Tod ex Fr)	El hongo ocasiona pudriciones en la parte basal del tallo, las cuales tienen tonalidades rojizas. Cubriendo las lesiones se encuentran picnidios de color negro, causando inicialmente marchitamiento y posteriormente la muerte de la planta.
Roya blanca de las crucíferas	<i>Albugo candida</i> (Pers Ktz)	Los síntomas se manifiestan en las partes aéreas. La infección se caracteriza por pústulas en los tallos y en la parte superior de las hojas. Provoca malformaciones, marchitez y muerte de las hojas.

Fuente: Mendoza, 1996; Castaños, 2000; Sulunkhe y Kadam, 2004; Agrios, 2005; Maroto, et al. 2007.

## 2.2. Generalidades de *Alternaria* spp.

### 2.2.1. Distribución e importancia.

El género *Alternaria* es cosmopolita. Se encuentra ampliamente distribuido en la atmósfera y en los suelos, en la materia orgánica en descomposición y en el polvo de las casas constituyendo una de las principales causas de alergias. Incluye numerosas especies que pueden ser patógenas y saprófitas de las plantas pudiendo invadir los cultivos antes, durante y después de la recolección. Por esto, se les considera responsables de cuantiosas pérdidas económicas en el sector agrícola (Alexopoulos y Mims, 1996; Sinha, 1998; Roco y Pérez, 2001; Agrios, 2005; Pavón, *et al.*, 2008).

Las especies de *Alternaria* afectan principalmente a las plantas anuales, en particular a las hortalizas y plantas de ornato, así como a ciertos árboles como es el caso de los cítricos y el manzano, y a algunas malezas (Laemmlen, 2001; Roco y Pérez, 2001; Agrios, 2005).

Se han identificado más de 60 especies de este género que producen metabolitos tóxicos (micotoxinas) para los mamíferos, las aves y las plantas (Alexopoulos y Mims, 1996; Sinha, 1998; Agrios, 2005).

### 2.2.2. Clasificación taxonómica.

El género *Alternaria* fue establecido por Nees en 1816. Algunas especies presentan un estado anamorfo. En 1986 Lewia y Simmons (citado por: Sinha, 1998) reconocieron que tienen un estado teleomorfo. En el cuadro 5 se muestra la clasificación taxonómica de *Alternaria*.

Cuadro 5. Clasificación taxonómica de *Alternaria* spp.

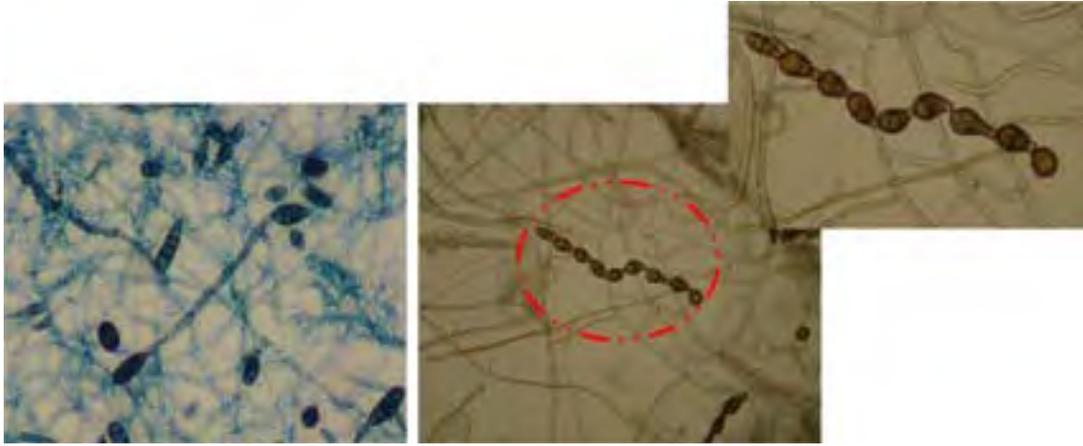
Reino	Fungi
División	Eumycota
Subdivisión	Deuteromycotina
Clase	Hyphomycetes
Orden	Hyphales (Moniliales)
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Alternaria</i> spp.

Fuente: Agrios, 2005.

### 2.2.3. Morfología.

*Alternaria* spp. es un hongo filamentoso, tiene un micelio de color oscuro, los conidios son bastante grandes, multicelulares, alargados y oscuros, en forma de pera (Fig. 2); presentan septos tanto transversales y longitudinales; los conidios (Fig. 3) se forman de una manera blástica (Fig. 4), y suelen estar dispuestos en cadenas, pero con frecuencia se forman en solitario en el ápice de los conidióforos (Fig. 5) (Sinha, 1998; Agrios, 2005; Fernández, 2005; Webster y Weber, 2007).

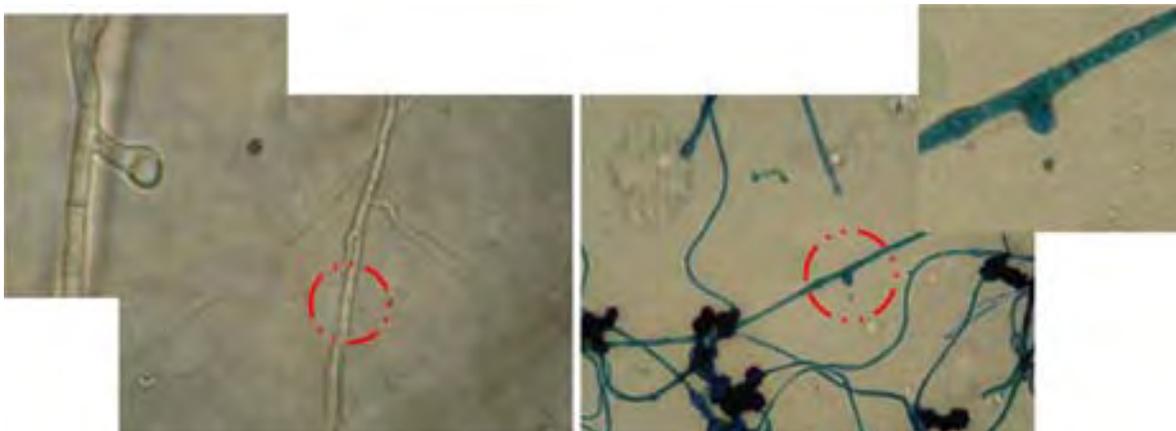
Las colonias aisladas en el laboratorio son de crecimiento rápido, de color verde oliváceo a grisáceo, verde oliváceo pardo a negro y en algunos casos son totalmente negras dependiendo de la especie que se trate, pero al principio son de color gris (Sinha, 1998; Webster y Weber, 2007).



**Figura. 2.** Micelio y cadenas de *Alternaria* spp.



**Figura. 3.** Conidios de *Alternaria* spp.



**Figura. 4.** Formación blástica de conidios de *Alternaria* spp.



**Figura. 5.** Distribución de los conidios de *Alternaria* spp.

#### 2.2.4. Síntomas.

Los síntomas empiezan por la parte aérea, incluyendo las hojas, tallos, yemas, flores y frutos, con manchas foliares de color café oscuro a negro. A menudo son numerosas y cuando se extienden forman anillos concéntricos que pueden crecer hasta 1 cm de diámetro, rodeado por un halo de tejido clorótico que en su superficie tiene una capa aterciopelada de color negro constituida por esporas e hifas del hongo (Fig. 6). Las hojas senescentes de la parte inferior de la planta son atacadas en primer término (Fig. 7), la enfermedad asciende hacia la parte superior de la planta y las hojas afectadas se tornan amarillas y senescentes, se desecan, debilitan y desprenden. Estas manchas pueden extenderse y cubrir los frutos (Fig. 8) (Smith, *et al.*, 1992; Laemmlen, 2001; Agrios, 2005).

Las especies de *Alternaria* sobreviven entre los cultivos. Las esporas de los conidios se desprenden con facilidad y son diseminadas por las corrientes de aire. El micelio se puede encontrar en las semillas y en los residuos de las cosechas; si el hongo se encuentra entre las semillas ataca a las plántulas produciendo la enfermedad llamada “damping-off”. La mayoría de las veces el hongo crece y esporula sobre los residuos de las plantas

durante el periodo de lluvias. Una de las condiciones que necesitan las esporas para su germinación es que haya buena humedad en el suelo para que pueda haber una infección y una penetración directa en las plantas, ya sea a través de heridas, de los estomas o de los tejidos débiles y viejos, que son los más susceptibles a la infección (Smith, *et al.*, 1992; Laemmlen, 2001; Agrios, 2005).



**Figura. 6.** Síntomas característicos provocados en el brócoli por *Alternaria* spp.



**Figura. 7.** Ataque de *Alternaria* spp.



**Figura. 8.** Síntomas en el florete provocados por *Alternaria* spp.

#### 2.2.5. Control.

Los métodos de control utilizados para *Alternaria* spp. son: control químico, control cultural, control genético, control físico y control biológico.

Control químico: es el uso de productos sintéticos o químicos para el tratamiento de semillas y control de las malezas ya que disminuye la cantidad de inóculo del patógeno evitando la muerte de las plantas (Smith, *et al.*, 1992; Laemmlen, 2001; Agrios, 2005).

Control cultural: se basa en la destrucción de las cosechas anteriores, el control de malezas pueden tener un mayor éxito si los productores erradican todos los desechos, ya sea mediante la aplicación de productos químicos o quemando el inóculo para evitar su dispersión. En la rotación de cultivos se cambia el cultivo de interés por uno alternativo para disminuir o erradicar al patógeno que atacó al cultivo anterior (Smith, *et al.*, 1992; Laemmlen, 2001; Agrios, 2005).

Control genético: se utilizan plantas resistentes por medio de la selección y mejoramiento genético. El amplio uso se debe a la resistencia a las enfermedades y ofrece un continuo éxito para combatir las enfermedades que afectan los cultivos de mayor importancia, para disminuir la hambruna en el mundo (Smith, *et al.*, 1992; Laemmlen, 2001; Agrios, 2005).

Control físico: se ha demostrado que con la luz ultravioleta se reduce la formación del inoculo de *Alternaria* spp. ya que se esteriliza el sustrato en el invernadero y así reducir la incidencia de la enfermedad (Smith, *et al.*, 1992; Laemmlen, 2001; Agrios, 2005).

Control biológico: ayuda a combatir las enfermedades de las plantas gracias a la utilización de organismos benéficos que pueden ser insectos, bacterias y hongos principalmente, que no afectan al medio ambiente ni a las personas que aplican estos productos (Smith, *et al.*, 1992; Laemmlen, 2001; Agrios, 2005).

### 2.3. Generalidades de *Trichoderma* spp.

#### 2.3.1. Distribución e importancia.

Los hongos del género *Trichoderma* spp. se desarrollan bajo diferentes condiciones ambientales, ya que son organismos de vida libre y se le encuentra con frecuencia en la rizosfera descomponiendo la madera, o como contaminantes de interiores y son componentes dominantes de la microflora del suelo (Kubicek y Harman, 1998; Druzhinina y Kubicek, 2004; Ranasingh, *et al.*, 2006).

Desde 1930 se conoce la capacidad micoparásita de *Trichoderma* spp. en el control biológico, gracias a su habilidad para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables, su eficiencia en la utilización de nutrientes y su velocidad de reproducción, por lo que es utilizado para controlar una amplia gama de patógenos de plantas de interés agrícola a partir de diversos mecanismos de acción, debido a su fácil aislamiento y manipulación (Benítez, *et al.*, 2004; Martínez, *et al.*, 2006; Torres E. *et al.*, 2008).

La actividad principal de *Trichoderma* spp. es el control biológico de agentes patógenos, particularmente el control de nematodos y hongos presentes en la raíz. Las especies más utilizadas son *T. harzianum*, *T. viride* y *T. virens*, ya que se ha demostrado que son capaces de controlar significativamente en condiciones *in vitro* a nematodos del género *Meloidogyne* y a hongos de diversos géneros, como *Armillaria*, *Botrytis*, *Chondrostereum*, *Colletotrichum*, *Diaporthe*, *Endothia*, *Fulvia*, *Fusarium*, *Fusicladium*, *Helminthosporium*, *Pseudoperonospora*, *Pythium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotinia*, *Venturia*, *Verticillium* y *Alternaria* (Osorio, *et al.*, 2005; Uphoff, *et al.*, 2006; Silvey Mello, 2007; Torres, *et al.*, 2008).

### 2.3.2. Clasificación taxonómica.

La clasificación de *Trichoderma* ha sido problemática hasta hace poco tiempo. Bisby en 1939, dijo que *Trichoderma* se componía de una sola especie; Rifai en 1969, adoptó un concepto de especie “agregada”, distinguió nueve especies agregadas y admitió que algunas de ellas contienen dos o más especies morfológicas indistinguibles; Bisset en 1991, también estableció una subdivisión del género en cinco secciones (Druzhinina y Kubicek, 2004). En el cuadro 6 se muestra la clasificación taxonómica actual.

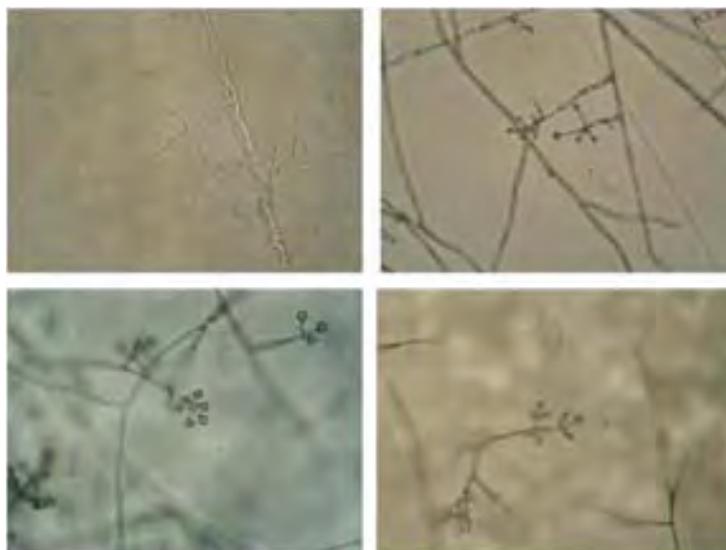
Cuadro 6. Clasificación taxonómica de *Trichoderma* spp.

Reino	Fungi
División	Eumycota
subdivisión	Deuteromycotina
Clase	Hyphomycetes
Orden	Hyphales (Moniliales)
Familia	Moniliaceae
Género	<i>Trichoderma</i>

Fuente: Agrios, 2005.

### 2.3.3. Morfología.

Los hongos del género *Trichoderma* son filamentosos, forman colonias de color verde intenso que crecen rápidamente; el micelio es septado e hiliano. A partir del micelio se originan los conidióforos (Fig. 9) aterciopelados, irregulares, cortos y ramificados, en cuyas partes terminales producen conidios unicelulares y esféricos en forma de racimos globosos que se separan con facilidad (Fig. 10) (Romo y Ávila, 2000).



**Figura. 9.** Micelio y formación de conidios de *Trichoderma* spp.



**Figura. 10.** Conidios y esporas de *Trichoderma* spp.

#### 2.4. Control biológico.

Por mucho tiempo han existido ejemplos del uso de enemigos naturales para el control de plagas. Quizá el caso más antiguo data al menos de hace 800 años, que hace referencia al uso de hormigas por agricultores chinos para controlar insectos plaga en los árboles. Sin embargo, el control biológico nace a finales del siglo XIX con el exitoso caso de la introducción desde Australia a California de *Rodolia cardinalis* contra la escama algodonosa de los cítricos (Rodríguez y Arredondo, 2007).

El término “control biológico” fue usado por primera vez por H. S. Smith en 1919, para referirse al uso de enemigos naturales (introducidos o manipulados) para el control de insectos plaga. Baker y Cook en 1974 (citado por Ferrera y Alarcón, 2007), definieron el control biológico de hongos como “la reducción de la densidad de inóculo o de las actividades inductoras de enfermedad de un patógeno en su estado activo o en dormancia por uno a más organismos”. Thomashow y Weller en 1996 (citado por Rodríguez y Arredondo, 2007), lo definieron como “el uso de organismos naturales o modificados, genes

o productos de genes para reducir los efectos de organismos indeseables, y favorecer organismos deseables”.

El control biológico es el uso de los recursos naturales o de organismos modificados (genes o productos génicos), para reducir los efectos de organismos indeseables, tales como los patógenos de las plantas. El interés científico en el control biológico de los patógenos de las plantas ha aumentado por la preocupación sobre los efectos potencialmente nocivos que algunos pesticidas químicos representan para la salud humana y el medio ambiente (Ferrera y Alarcón, 2007; Trigiano, *et al.*, 2008).

También hay una necesidad de controlar diversas enfermedades para las cuales no hay actualmente una efectividad total o parcial, debido a la poca o nula resistencia genética en el hospedante, por lo que en la búsqueda de alternativas se han identificado bacterias y hongos como agentes biológicos (Ferrera y Alarcón, 2007; Trigiano, *et al.*, 2008).

La investigación de los hongos antagonistas se ha enfocado principalmente sobre su efecto hongo patógeno (hongo antagónico – hongo patógeno), cuyo modo de acción puede estar basado en la competencia (por nutrientes y espacio), en la antibiosis, en la inducción de resistencia y en el micoparasitismo (Ferrera y Alarcón, 2007).

*Gliocladium* spp. y *Trichoderma* spp. junto con las bacterias *Pseudomonas* spp. y *Bacillus* spp. son los agentes más estudiados para el control de diversas enfermedades vegetales, y constituyen la base de diferentes inoculantes comerciales. Sin embargo, su éxito no es sencillo, ya que requiere del conocimiento del patosistema y de los organismos seleccionados como agentes de biocontrol, además de su interacción con el cultivo, la microbiota nativa y el ambiente imperante (Orieta y Larrea, 2001; Ronald y Bartha, 2002; Ferrera y Alarcón, 2007).

## 2.4.1. Mecanismos de control biológico de *Trichoderma* spp.

### 2.4.1.1. Competencia por nutrientes.

Las especies antagonistas de *Trichoderma* spp. suelen tener una clara ventaja sobre el patógeno dada su versatilidad metabólica, lo que les permite colonizar rápidamente un medio evitando la proliferación de otros microorganismos (Romo y Ávila, 2000; Benítez, *et al.*, 2004; Pallás, *et al.*, 2008).

En este proceso el patógeno y el agente de control biológico (antagonista) compiten por la disponibilidad de espacio y nutrientes; el antagonista puede suprimir el crecimiento del patógeno en la rizosfera, por lo tanto reduce el desarrollo de la enfermedad. La competencia de las especies de *Trichoderma* es agresiva, ya que muestra un rápido crecimiento y una alta colonización que excluye a los patógenos de las plantas (Silva y Mello, 2007; Ranasingh, *et al.*, 2006; Benítez, *et al.*, 2004).

### 2.4.1.2. Antibiosis.

La antibiosis ocurre durante la producción y liberación de sustancias químicas por parte del antagonista hacia el medio ambiente, que afectan o inhiben el crecimiento, el desarrollo y la reproducción de los patógenos. *Trichoderma* spp. produce enzimas como las quitinasas que inhiben el desarrollo de hongos patógenos (Ranasingh, *et al.*, 2006; Benítez, *et al.*, 2004; Romo y Ávila, 2000).

#### 2.4.1.3. Fungistasis.

Los antagonistas son capaces de vencer el efecto fungistático del suelo que es resultado de la presencia de metabolitos producidos por otras especies de microorganismos, incluyendo las plantas, teniendo la capacidad de sobrevivir bajo condiciones adversas o competitivas (Benítez, *et al.*, 2004).

Las cepas de *Trichoderma* spp. crecen rápidamente cuando se inoculan en el suelo, ya que son naturalmente resistentes a sustancias tóxicas como herbicidas, fungicidas e insecticidas, además de recuperarse rápidamente después de la adición de dosis sub-letales de algunos de estos compuestos (Benítez, *et al.*, 2004).

#### 2.4.1.4. Hiperparasitismo.

El hiperparasitismo se refiere al ataque de un parásito sobre otro parásito. Cuando un hongo se encuentra parasitando a otro hongo, se habla de un micoparasitismo. Este mecanismo abarca diferentes interacciones y consiste en que el hongo antagonista se enrolla y penetra el micelio del patógeno, las hifas crecen y se desarrollan dentro de las hifas huésped, provocando la pérdida total del protoplasma, dejando solo células vacías. Durante este proceso el parásito forma diferentes estructuras como abrazaderas, ganchos o apresorios que le permiten adherirse a las hifas del patógeno (Romo y Ávila, 2000).

*Trichoderma* spp. puede ejercer directamente el parasitismo, ya que produce enzimas que intervienen en el reconocimiento y degradación de la pared celular del hongo que parasita. La combinación de estos compuestos da lugar al parasitismo del hongo, y la entrada directa a las hifas senescentes o que se encuentran estresadas, ya que este hongo no ataca a las hifas jóvenes y vigorosas de los patógenos, lo cual limita el control del

patógeno (Romo y Ávila, 2000; Benítez, *et al.*, 2004; Harman, *et al.*, 2004; Ranasingh, *et al.*, 2006; Silva y Mello, 2007; Pallás, *et al.*, 2008).

#### 2.4.1.5. Biofertilización y fomento de mecanismos de defensa en las plantas.

Varios autores han encontrado que las cepas de *Trichoderma* son capaces de colonizar las raíces de las plantas por mecanismos similares a los de las micorrizas, para producir compuestos que estimulen el crecimiento de las plantas y sus mecanismos de defensa e implican tres mecanismos que son: la colonización de las raíces de las plantas, la biofertilización y estimulación de la resistencia y los mecanismos de defensa de las plantas.

Colonización de las raíces de las plantas: Las cepas de *Trichoderma* spp. deben establecerse en las raíces antes de la estimulación del crecimiento de las plantas, ya que implica la capacidad de reconocer y respetar las raíces de las plantas, penetrar y soportar los metabolitos tóxicos (enzimas hidrolasas) producidos por las mismas, en respuesta a la invasión por un organismo extraño sea patógeno o no. Las cepas se establecen a largo plazo la colonización y penetración en la epidermis, entonces se produce la liberación de compuestos que inducen la resistencia (Benítez, *et al.*, 2004; Harman, *et al.*, 2004).

Biofertilización: las cepas de *Trichoderma* aumentan el crecimiento, el desarrollo, la resistencia, la absorción y la utilización de nutrientes en las raíces aumentando la productividad en los cultivos puede elevar hasta un 300% después de la adición de *Trichoderma* (Benítez, *et al.*, 2004).

Estimulación de la resistencia y los mecanismos de defensa de las plantas: la capacidad de las cepas de *Trichoderma* spp. para proteger a las plantas contra patógenos de la raíz siempre han sido atribuidos a un efecto antagonista contra el patógeno. No obstante, esta asociación hongo-raíz estimula los elementos de defensa de las plantas; la adición de las cepas en la rizosfera de las plantas ayuda a protegerlas contra numerosos patógenos, por ejemplo, aquellos virus, bacterias y hongos que producen infecciones aéreas, lo que apunta a la inducción de mecanismos de resistencia (Benítez, *et al.*, 2004; Harman, *et al.*, 2004).

#### 2.4.2. Ventajas del control biológico.

La aplicación del control biológico resulta ser más seguro que la de un producto químico, ya que los agentes biológicos como es el caso de *Trichoderma* spp., que no deja residuos en el suelo ni en la cadena alimenticia, y no tiene efectos tóxicos en las plantas jóvenes.

Pueden proporcionar un dominio constante, ya que resulta ser necesaria más de una mutación para adaptarse, pudiendo convertirse en una parte integral del ciclo vital de la planta.

Los agentes de control biológico tienen un efecto reducido en el equilibrio ecológico que preserva el hábitat natural para mejorar y fomentar la sobrevivencia de los ecosistemas.

Algunos agentes de control biológico son compatibles con otros organismos que pueden interactuar mutuamente con la micoflora del suelo y su liberación o aplicación es rápida y sencilla que no daña a las personas que lo aplican (Coyne, 2000).

#### 2.4.3. Antecedentes de investigaciones realizadas en especies de *Trichoderma*.

Yedidia *et al.* (1998), demostraron que cuando se inoculan plantas de pepino con *Trichoderma* spp. se inducen los mecanismos de resistencia sistémica, ya que fortalece las paredes de la epidermis y las células corticales; en los análisis bioquímicos observaron el aumento de las peroxidasas y las quitinasas.

González *et al.* (1999), estudiaron la actividad antagónica de *Trichoderma* sp. aislada de un suelo de la provincia Granma, Cuba frente a *Alternaria solani* Sor. Las cepas endémicas de *Trichoderma* mostraron un alto efecto antagónico frente a *A. solani*, tanto en forma micelial como metabólica, destacándose la cepa nativa que ejerció un efecto antagónico e hiperparásitico significativamente superior al de la cepa comercial.

Rollan *et al.* (1999), evaluaron la temperatura de 15°C, 20°C y 30°C, sobre la capacidad antagónica *in vitro* de seis cepas de *Trichoderma*, frente a *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor* y *Sclerotium solfsii*, en donde el mayor porcentaje de colonización se registro a 25°C y 30°C frente a *S. sclerotiorum* y *S. minor*, y de 20°C y 25°C fue para *Sclerotium solfsii*. Para el crecimiento de las especies de *Trichoderma* la temperatura óptima es de 25 a 30° C.

Cúndom *et al.* (2000), evaluaron la actividad antagónica *in vitro* de aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum*, demostrando que las cepas de *Trichoderma* spp. tienen una actividad antagónica variable, ya que ninguno inhibió totalmente la germinación y la formación de esclerocios, pero dos cepas mostraron mayor actividad antagónica, comparadas con el testigo se obtuvo que la

actividad podría deberse a la liberación de sustancias enzimáticas (enzima lítica, quitinasas y glucanasas) o antibióticas, producidas por la especie de *Trichoderma*.

Cúndom *et al.* (2001), realizaron evaluaciones *in vitro* y en invernadero de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani*, en los ensayos *in vitro* se hizo la selección de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. para poderlas evaluar en el invernadero, en donde redujo hasta un 30% la muerte de las plántulas de melón, los resultados obtenidos demuestran la posibilidad de utilizar cepas endémicas de *Trichoderma* spp. para la reducción de muerte en las plántulas de melón causado por *R. solani*.

Michel *et al.* (2001), demostraron que las especies endémicas de *Trichoderma* de suelos cultivados con mango, inhiben el crecimiento de *Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*, ya que las cepas endémicas representan un recurso disponible para su evaluación como agentes de biocontrol contra malformaciones del mango ocasionadas por la escoba de bruja.

Soto *et al.* (2002), dieron a conocer que las plantas ornamentales sembradas con *T. harzianum* a las 10 semanas después de la inoculación mostraron un mayor crecimiento (altura, número de hojas y de flores) con respecto a las plantas testigo, además el florecimiento se efectuó en menor tiempo.

Ruano *et al.* (2003), estudiaron el crecimiento *in vitro* del antagonismo de cepas de *Trichoderma* sp. y de *Rosellinia necatrix*, en medios de cultivo de PDA a una temperatura de 15°C, 20°C, 25°C y 30°C para *R. necatrix* y para *Trichoderma* de 10°C, 15°C, 20°C, 25°C, 30°C y 35°C, alcanzando que a 25°C es la temperatura óptima de crecimiento para las distintas cepas, obteniendo como resultado que todas las cepas de *Trichoderma* spp. excepto la cepa CH-252, ejercieron una inhibición sobre casi todas las cepas de *R. necatrix*.

Humeres (2004), realizó ensayos *in vitro* a 25°C y 4°C obteniendo como resultado que a los 25°C alcanzó un mayor crecimiento de *Trichoderma* spp. y un mayor porcentaje de inhibición del patógeno en comparación con el de 4°C.

Ezziyyani *et al.* (2004), realizaron pruebas *in vitro* utilizando *Trichoderma harzianum* para el control de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento; en las pruebas *in vitro* demostraron que *T. harzianum* tiene un claro efecto antagónico contra *P. capsici* en los medios de cultivo, sobre todo el medio de PDA aumentando su actividad antifúngica mediante la secreción de enzimas reduciendo totalmente la colonización del patógeno. En las plántulas crecidas a partir de las semillas tratadas con *T. harzianum*, el porcentaje de germinación, el peso seco y la longitud de las plántulas fue superior a las no tratadas, lo que indica que tienen mayor absorción de nutrientes.

Guigón y González (2004), evaluaron seis cepas nativas de *Trichoderma* spp. contra *Phytophthora capsici* L. en el cultivo de chile, en donde el crecimiento en invernadero de las plantas de chile inoculadas con las cepas nativas de *Trichoderma* spp. superaron al testigo, ya que producen plantas con mayor porte y más vigor que las plantas que tienen un manejo convencional. Las cepas nativas de *Trichoderma* spp. desarrollan una actividad antagónica ofreciendo una alternativa efectiva como agentes de biocontrol de la marchitez del chile causada por *P. capsici*, ya que las cepas nativas están más adaptadas a las condiciones agroecológicas de la región y su capacidad de biocontrol y biofertilización es favorable.

Michel *et al.* (2005), determinaron la actividad micoparasítica *in vitro* de 25 cepas de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*. Las hifas de *Trichoderma* spp. hicieron contacto con las hifas del patógeno, diez de las cepas se ubicaron en la clase 1 (*Trichoderma* sobrecrece completamente al fitopatógeno y cubre totalmente la superficie) de antagonismo, diez en la 2 (*Trichoderma* sobrecrece las dos

terceras partes de la superficie del medio) y cinco en la 3 (*Trichoderma* y el patógeno colonizan cada uno, aproximadamente la mitad de la superficies y ningún organismo parece dominar al otro). Mediante microscopía electrónica se observó el enrollamiento y penetración de hifas de *Trichoderma* spp. sobre las de *Fusarium* spp. *Trichoderma* se puede considerar como un agente promisorio en el biocontrol.

Arzate *et al.* (2006), evaluaron el efecto antagónico *in vitro* y en invernadero de cepas de *Trichoderma* spp. sobre *Mycosphaerella fijiensis*. En las pruebas *in vitro* el patógeno detuvo su crecimiento al contacto con la cepa antagónica y en la evaluación en invernadero presentaron los menores porcentajes de infección sobre *M. fijiensis*, por lo que sugirieron evaluar bajo condiciones de invernadero.

Paez y Sanabria (2007), evaluaron la capacidad antagónica de diferentes aislamientos de *Trichoderma koningii*, provenientes de cuatro localidades, sobre *Fusarium oxysporum*, *F. lycopersici*, obtuvieron que todos los aislamientos de *T. koningii* inhibieron el crecimiento y esporulación del patógeno, pero la cepa de Guanayen produjo el mayor porcentaje de inhibición de crecimiento del patógeno con el 22.50% a las 24 hrs, siendo la antibiosis el mecanismos de acción en todos los tratamientos.

Suárez *et al.* (2008), evaluaron en el medio de cultivo Agar Sabouraud tres cepas nativas de *Trichoderma harzianum* y tres cepas comerciales, demostraron que una cepa endémica y una comercial de *T. harzianum* resultaron ser los antagonistas con mayores habilidades de micoparasitismo, competencia por espacio e inhibición de crecimiento para el control de *Fusarium solani* en pruebas *in vitro*.

Reyes *et al.* (2008), mostraron que los aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *Rhizoctonia* sp. indicaron un efecto inhibitorio ya que los primeros presentan una mayor capacidad para competir por el sustrato.

Martínez *et al.* (2008), demuestran que aun cuando los aislamientos tengan una menor velocidad de crecimiento mantienen su capacidad de competencia por los nutrientes aunque necesiten un tiempo mayor hay que tener en cuenta este aspecto importante para la selección de cepas de *Trichoderma* con mayor potencial para el control de patógenos del suelo.

Granados y Wang (2008), evaluaron el efecto de *Trichoderma* sp. *Clonostachys* spp. y *Beauveria bassiana* sobre la incidencia de la pudrición blanca de la cebolla (*Sclerotium cepivorum*). Todos los hongos antagonistas aplicados combatieron la pudrición blanca de la cebolla bajo condiciones de invernadero, obteniendo que *Trichoderma* spp. detuvo el desarrollo de la enfermedad por completo.

Torres *et al.* (2008) realizaron pruebas *in vitro* empleando cuatro hongos antagonistas *Hansfordia pulvinata*, *Trichoderma harzianum*, *T. viride* y *T. virens*, para el biocontrol del moho foliar del tomate *Cladosporium fulvum*, a una temperatura de 24° C y a 28° C permitieron el crecimiento óptimo de los cuatro hongos y una buena interacción antagónica frente al patógeno. A los 24°C *T. harzianum* y *T. virens* tuvieron un mayor porcentaje de área ocupada contra el patógeno *C. fulvum*. A 28°C, *T. virens* tuvo un mayor porcentaje de área ocupada contra el patógeno, y en condiciones de invernadero, el hongo antagonista más eficiente para el control del patógeno fue *T. harzianum* al reducir la severidad en un 19.35%, demostraron que los tres hongos del genero *Trichoderma* spp. presentaron en general un control del patógeno similar al producto químico.

### III. MATERIALES Y MÉTODOS.

El trabajo se realizó en los laboratorios de Fitopatología y Micología de la carrera de Ingeniería Agrícola de la Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, que se encuentra ubicada en Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, localizada en las coordenadas 19° 42' de latitud norte y a los 99° 11' de longitud oeste, a una altura de 2,254 msnm.

Las muestras de suelo y de planta que se utilizaron en el laboratorio provinieron de tres localidades distintas que se describen a continuación.

Rancho La Minita, ubicado en la comunidad de Los Rodríguez, Municipio de San Miguel Allende, Gto. Tiene una superficie de 9 ha, se encuentra a 20°54' de Latitud Norte y a 100°44' de Longitud Oeste, a una altitud de 1,987 msnm.

Rancho Las Arboledas, carretera San Miguel de Allende-Querétaro, Km. 24, Gto. Tiene una superficie de 9 ha, se encuentra a 20°54' de Latitud Norte y a 100°44' de Longitud Oeste, a una altitud de 1,987 msnm.

Rancho El Queretano, ubicado en la comunidad El Charco Municipio de San Luis de la Paz Gto. Tiene una superficie de 7 ha, se encuentra a 21°17' de latitud norte y a 100°30' de Longitud Oeste, a una altitud de 2,119 msnm.

El diseño experimental que se utilizó fue bloques al azar, con un análisis estadístico de comparación de medias ANOVA y Prueba de Duncan, realizados en Excel.

Los tratamientos AT1, AT2 y AT3 corresponden a la cepa de *Alternaria* spp. obtenidas de los tres ranchos; AC1, AC2 y AC3 son las cepas comerciales de *Trichoderma* spp. con *Alternaria* spp.; AE1, AE2 y AE3 son las cepas endémicas de *Trichoderma* spp. con *Alternaria* spp. Cuadro 7.

Cuadro. 7. Descripción de los tratamientos para la evaluación del antagonismo de *Trichoderma-Alternaria*.

Localidades				
Tratamientos	No. Colecta	Rancho La Minita	Rancho el Queretano	Rancho las Arboledas
AT1	1	Testigo <i>Alternaria</i>		
AC1		<i>Alternaria</i> con la cepa Comercial de <i>Trichoderma</i>		
AE1		<i>Alternaria</i> con la cepa endémica de <i>Trichoderma</i>		
AT2	2	Testigo <i>Alternaria</i>		
AC2		<i>Alternaria</i> con la cepa Comercial de <i>Trichoderma</i>		
AE2		<i>Alternaria</i> con la cepa endémica de <i>Trichoderma</i>		
AT3	3	Testigo <i>Alternaria</i>		
AC3		<i>Alternaria</i> con la cepa Comercial de <i>Trichoderma</i>		
AE3		<i>Alternaria</i> con la cepa endémica de <i>Trichoderma</i>		

Los tratamientos T1 y T2 son de la primera colecta en la Minita (20-06-08), El Queretano (19-07-08) y Las Arboledas (19-09-08); T3 y T4 son de la segunda colecta, en la Minita (04-07-08), El Queretano (05-07-08) y Las Arboledas (05-09-08); T5 y T6 son de la tercera colecta en la Minita (18-07-08), El Queretano(05-07-08) y Las Arboledas (03-10-08) Cuadro 8.

Cuadro. 8. Descripción de los tratamientos para la evaluación de la comparación de la eficiencia entre la cepa comercial y las cepas endémicas de *Trichoderma* spp.

Localidades				
Tratamientos	No. Colecta	Rancho La Minita	Rancho el Queretano	Rancho las Arboledas
T1	1	Cepa comercial de <i>Trichoderma</i>		
T2		Cepa endémica de <i>Trichoderma</i>		
T3	2	Cepa comercial de <i>Trichoderma</i>		
T4		Cepa endémica de <i>Trichoderma</i>		
T5	3	Cepa comercial de <i>Trichoderma</i>		
T6		Cepa endémica de <i>Trichoderma</i>		

Las actividades realizadas en el laboratorio fueron las siguientes:

1. Extracción de las cepas de *Trichoderma* spp. del suelo.

#### ⊕ SECADO Y TAMIZADO DEL SUELO.

Las muestras del suelo se extendieron sobre papel en una superficie plana, se rompieron manualmente los agregados grandes, se secaron al aire, se molió la muestra de suelo con la ayuda de un mazo de madera y se paso a través del tamiz de 2mm (Fig. 11) (Valencia I. C. y Hernández B. A. 2002). De las 45 muestras de los rancho ya tamizadas se tomaron 10 g de cada una y se hizo una sola muestra compuesta y homogénea para la extracción del material biológico.

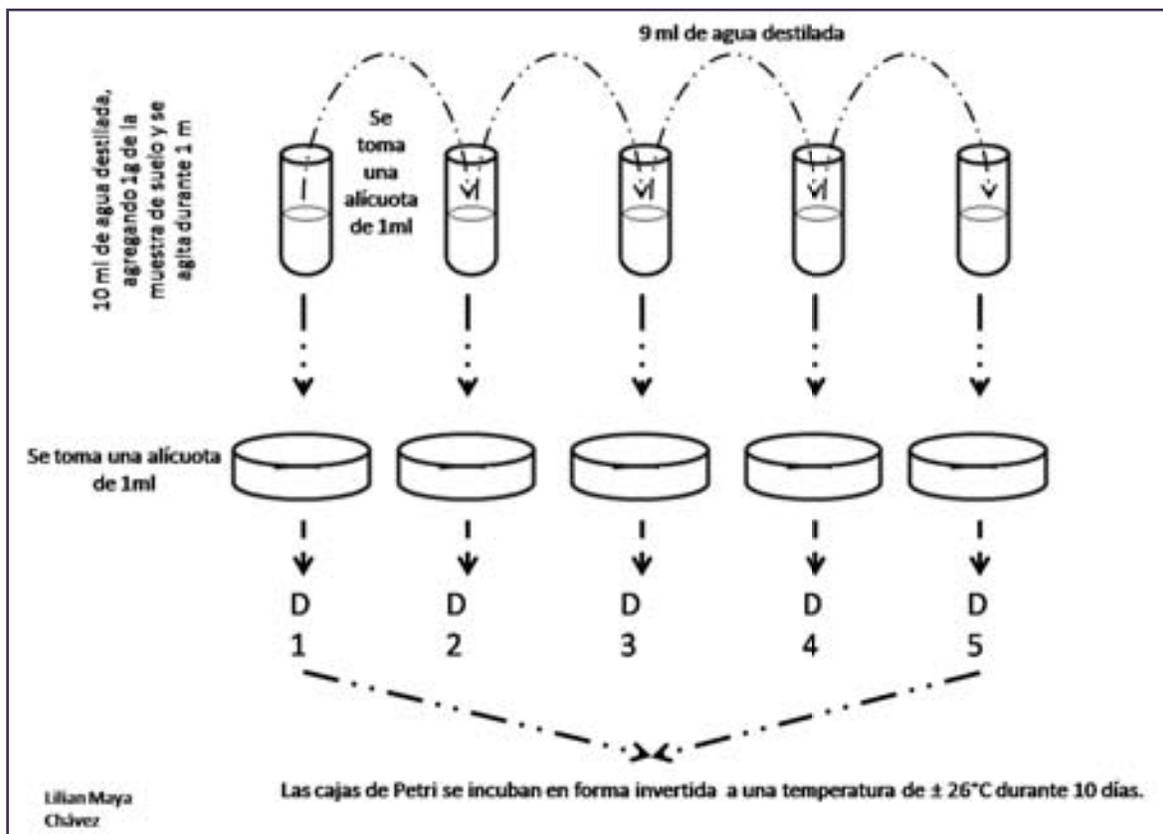


**Figura. 11.** Tamizado del suelo.

#### ⊕ DILUCIÓN EN SERIE.

Se realizaron las diluciones en serie en condiciones de asepsia bajo una campana de flujo laminar. Se pesó 1g de suelo y se agregó a un tubo de ensayo que contenía 10 ml de agua destilada estéril, se agitó manualmente durante 1 minuto aproximadamente, se tomó una alícuota de 1 ml con una pipeta y se agregó a otro tubo de ensayo que contenía

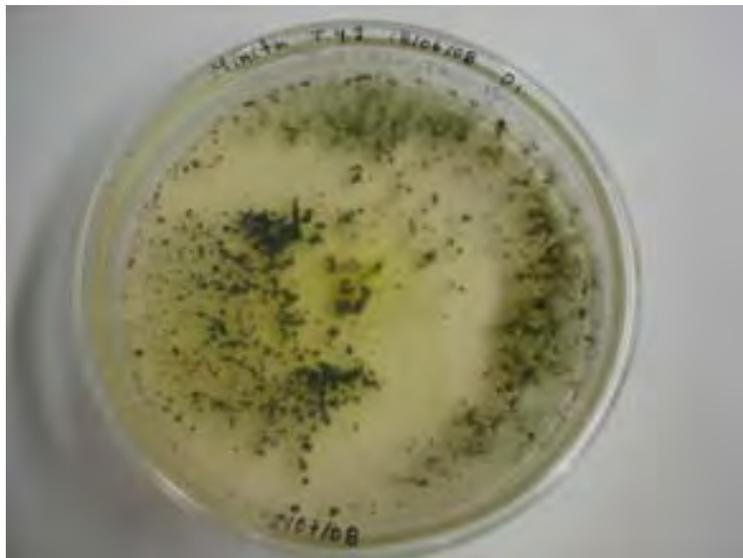
9 ml de agua destilada estéril y se agitó nuevamente durante 1 minuto; se repitió la operación hasta llegar a la dilución  $10^5$  basada en pruebas preliminares (Fig. 12) (Cappuccino G. J. y Sherman N. 2002). De cada dilución se tomó una alícuota de 1 ml, la cual se sembró en las placas con medio de cultivo PDA y se distribuyó uniformemente (Fig. 13), se selló cada caja con parafilm y se incubaron en posición invertida a una temperatura de  $\pm 26^\circ\text{C}$  durante 10 días. Al transcurrir 10 días se realizó la identificación de las colonias de *Trichoderma* spp.(Fig. 14). Se llevaron a cabo las resiembras de las colonias de *Trichoderma* spp. hasta que se obtuvieron las cepas puras.



**Figura. 12.** Dilución en serie modificada para la extracción de *Trichoderma* spp. del suelo.



**Figura. 13.** Dilución en serie



**Figura. 14.** Colonias de *Trichoderma* spp.

Para la obtención del material biológico comercial, se utilizó la cepa comercial Pro Selective utilizando la misma técnica de dilución en serie (Fig. 15).

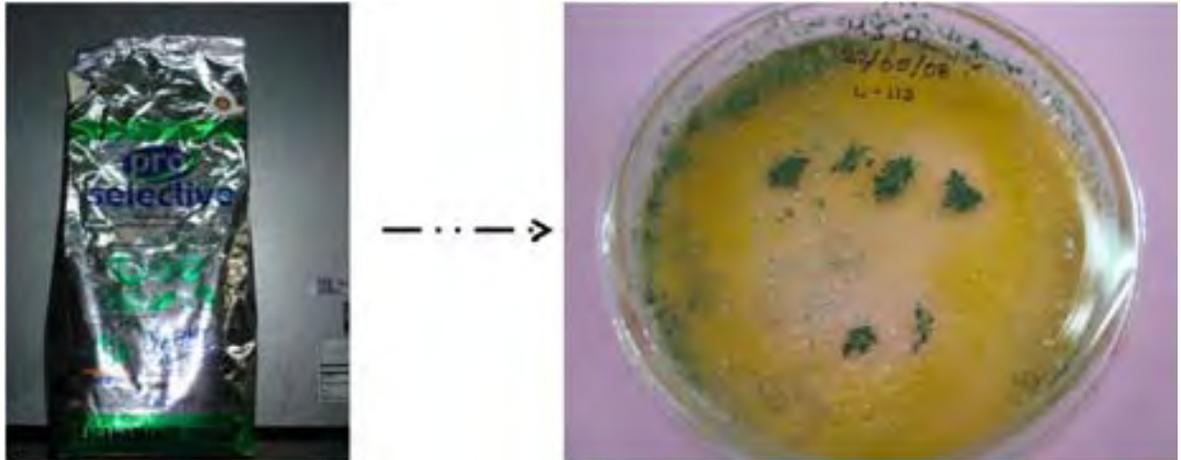


Figura. 15. Material biológico comercial.

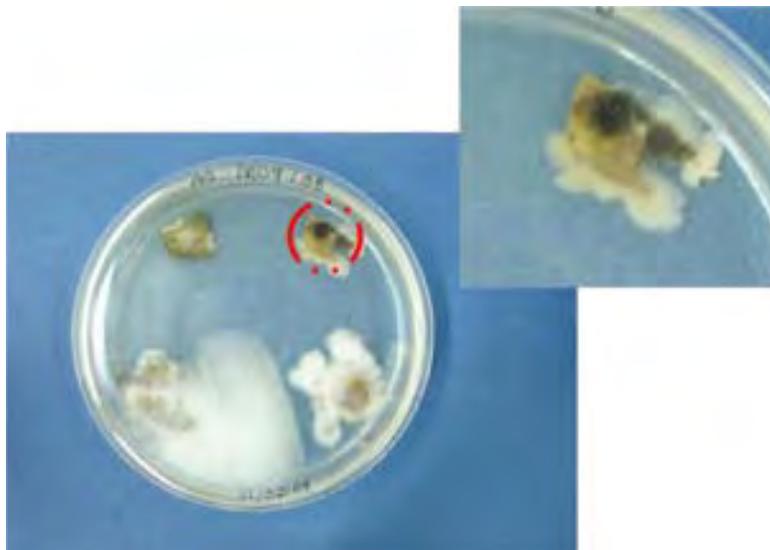
## 2. Extracción de las cepas de *Alternaria* spp. de las hojas de brócoli.

Para la conservación de las hojas de la colecta se utilizó una prensa botánica, se anotaron los datos correspondientes y se colocaron durante 7 días en la secadora del herbario de Ciencias Agrícolas de la FESC, para su selección.

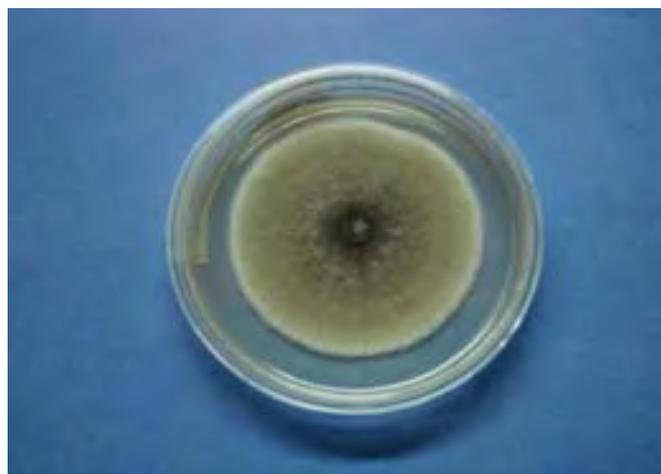
Se cortaron los síntomas de las hojas con un bisturí esterilizado en fuego, los cortes se colocaron en un vaso de precipitado con una solución de cloro al 1% agitándose durante un minuto con el objetivo de eliminar los microorganismos de la superficie. Las muestras se enjuagaron con agua destilada estéril para quitar los excedentes de cloro y se pusieron sobre toallas de papel absorbente estériles que ayudan en la absorción del exceso de agua (Fig. 16), se sembraron en placas de PDA, se sellaron con parafilm y se incubaron en posición invertida en una estufa a una temperatura de  $\pm 26^{\circ}\text{C}$ , durante 48 horas (Mier T. *et al*, 2002). Al transcurrir las 48 horas, se realizó la identificación de las colonias de *Alternaria* spp. y se llevaron a cabo las resiembras de las colonias de *Alternaria* spp. (Fig. 17) hasta que se obtuvieron las cepas puras.



**Figura. 16.** Siembra de partes vegetales en PDA.



**Figura. 17.** Cultivo mixto con presencia de *Alternaria* spp.



**Figura. 18.** Cepa pura de *Alternaria* spp.

### 3. Siembra de los antagonistas.

La siembra de los antagonismos se realizó en placas Petri de 9 cm de diámetro, el medio de cultivo fue PDA. Se utilizó cultivo dual, que consiste en el enfrentamiento del patógeno y el antagonista analizando el crecimiento de ambos que se compara con el crecimiento individual de cada uno de ellos. La siembra de cada uno de los hongos consistió en un disco de 0.4 cm de diámetro de *Trichoderma* spp. y *Alternaria* spp (Fig. 18). Dicha siembra se efectuó en total asepsia, cortando un disco de *Trichoderma* spp. y *Alternaria* spp. colocando en un extremo de la placa el hongo antagonista y del extremo opuesto al hongo patógeno (Fig. 19). Se sellaron las placas con parafilm y se incubaron en posición invertida en una estufa a una temperatura de  $\pm 28^{\circ}\text{C}$ , durante 5 días. Durante la realización del ensayo se tomaron lecturas cada 24 horas con un vernier digital, del crecimiento lineal de las colonias tanto de *Trichoderma* spp. como de *Alternaria* spp.



**Figura. 19.** Obtención del disco de *Alternaria* spp. y de *Trichoderma* spp.



**Figura. 20.** Cultivo dual.

#### IV. RESULTADOS.

En un ensayo previo se observó que las cepas de *Trichoderma* spp. crecieron mejor a una temperatura de 28°C. En el cuadro 9 y en la fig. 21 se muestran los promedios de las mediciones finales del crecimiento expresados en cm de *Alternaria* spp. de los tres ranchos, tanto de los testigos como de los tratamientos. Estadísticamente si presentan diferencia significativa (Anexo 1).

Cuadro. 9. Promedios del crecimiento final expresados en cm de *Alternaria* spp. de los tres Ranchos.

	La Minita	El Queretano	Las Arboledas
AT1	2.014	2.735	1.797
AC1	1.705	1.854	1.749
AE1	1.777	2.082	1.681
AT2	2.569	2.402	1.71
AC2	2.047	1.817	1.364
AE2	1.864	1.826	1.29
AT3	2.408	2.342	2.145
AC3	1.799	1.912	1.558
AE3	1.931	1.732	1.485

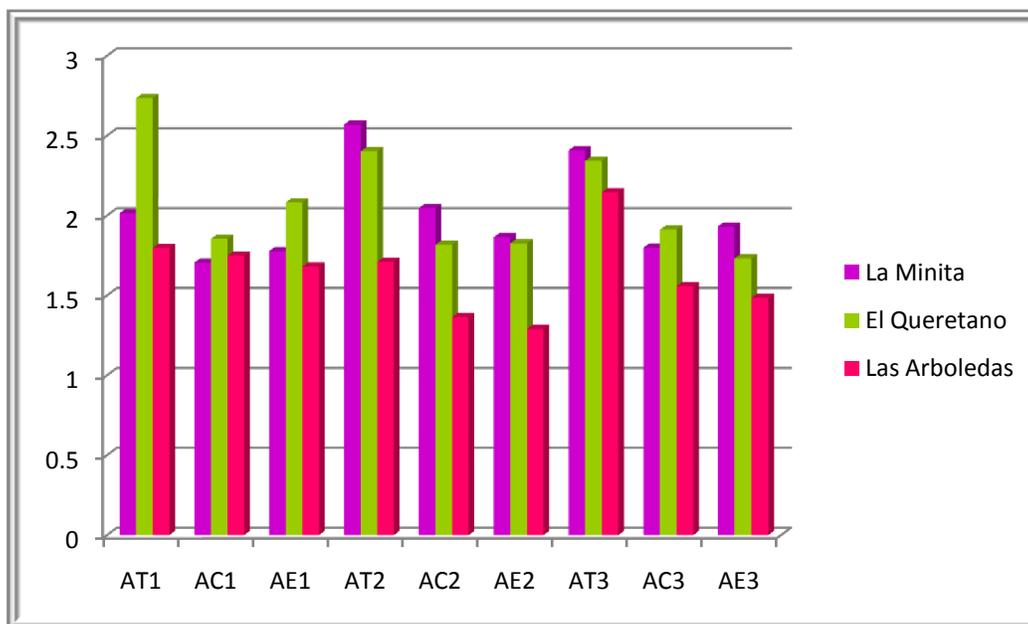


Figura. 21. Crecimiento expresada en cm de *Alternaria* spp. de los tres ranchos.

Los resultados de la evaluación comparativa ente la cepa comercial y las cepas endémicas de *Trichoderma* spp. se describen a continuación.

En el Rancho La Minita, estadísticamente los resultados no presentan diferencias significativas (Anexo 2). En el cuadro 10 y en la fig. 22 se puede observar el promedio de las mediciones finales expresados en cm, en donde se puede ver el crecimiento final de las cepas comerciales y endémicas de *Trichoderma* spp.

Cuadro 10. Promedios del crecimiento final expresados en cm de *Trichoderma* spp. del Rancho La Minita.

T1	T2	T3	T4	T5	T6
7.295	7.223	6.953	7.136	7.201	7.069

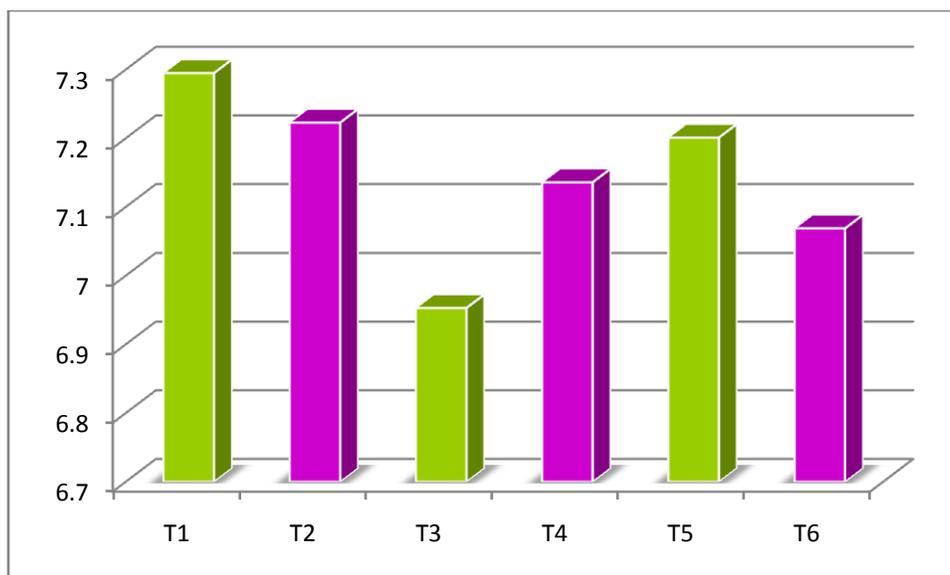
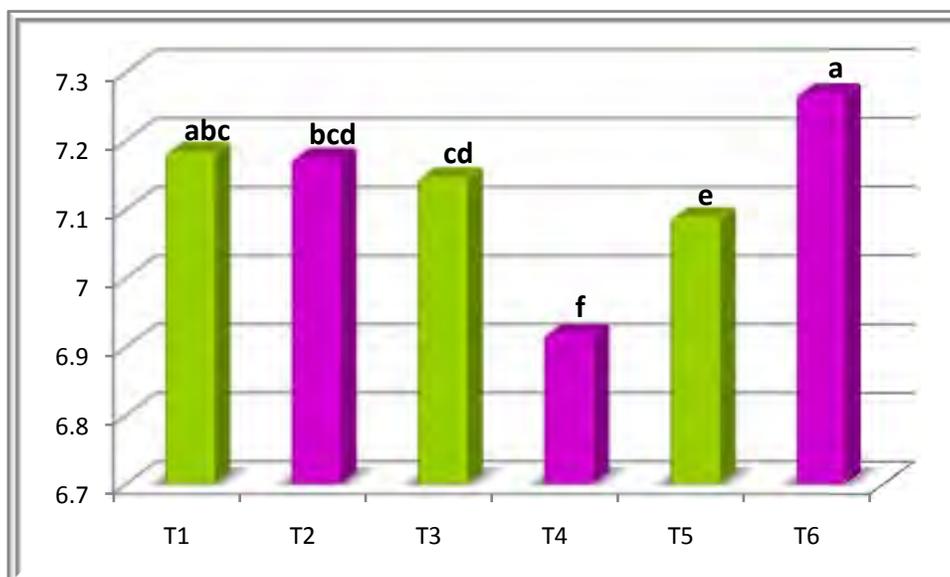


Figura. 22. Crecimiento expresada en cm de *Trichoderma* spp. en el Rancho La Minita.

En el Rancho El Queretano, estadísticamente si se presenta diferencia significativa entre los tratamientos (Anexo 2). En el cuadro 11 y en la fig. 23 se puede observar el promedio de las mediciones finales expresados en cm. Se puede ver el crecimiento final de las cepas comerciales y endémicas de *Trichoderma* spp. Los tratamientos T4 y T5 si muestran diferencia significativa.

Cuadro. 11. Promedios del crecimiento final expresados en cm de *Trichoderma* spp. del Rancho El Queretano.

T1	T2	T3	T4	T5	T6
7.183	7.174	7.146	6.918	7.088	7.268
abc	bcd	cd	f	e	a



**Figura. 23.** Crecimiento expresados en cm de *Trichoderma* spp. en el Rancho El Queretano.

En el Rancho Las Arboledas, estadísticamente si presenta diferencia significativa (Anexo 2). En el cuadro 12 y en la fig. 24 se puede observar el promedio de las mediciones finales expresados en cm. Se puede ver el crecimiento final de las cepa comercial y endémica de *Trichoderma* spp., en donde todos los tratamientos presentan diferencia significativa.

Cuadro. 12. Promedios del crecimiento final expresados en cm de *Trichoderma* spp. del Rancho Las Arboledas.

T1	T2	T3	T4	T5	T6
7.636	7.71	7.251	7.319	7.442	7.515
b	a	f	e	d	c

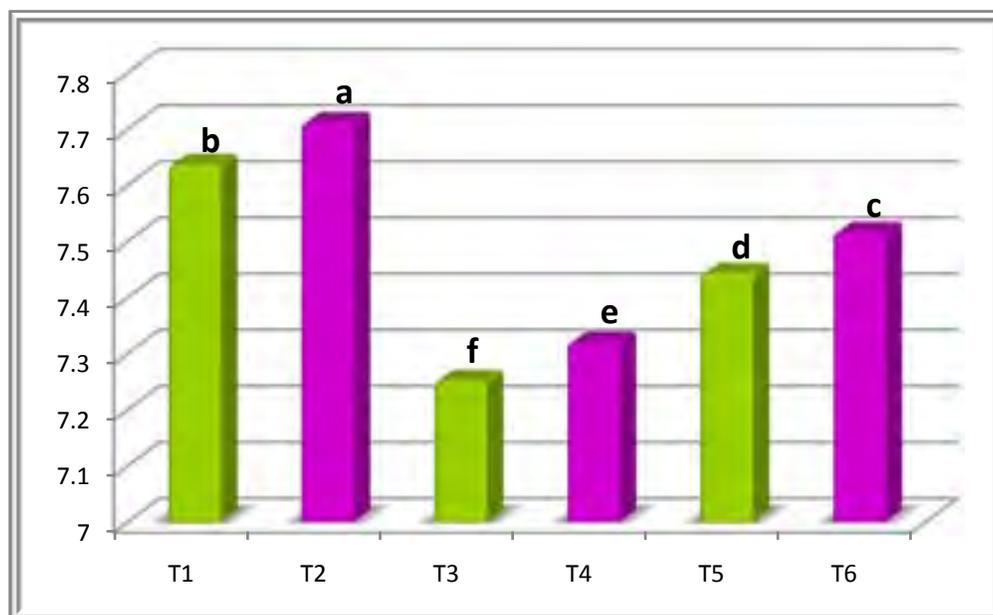
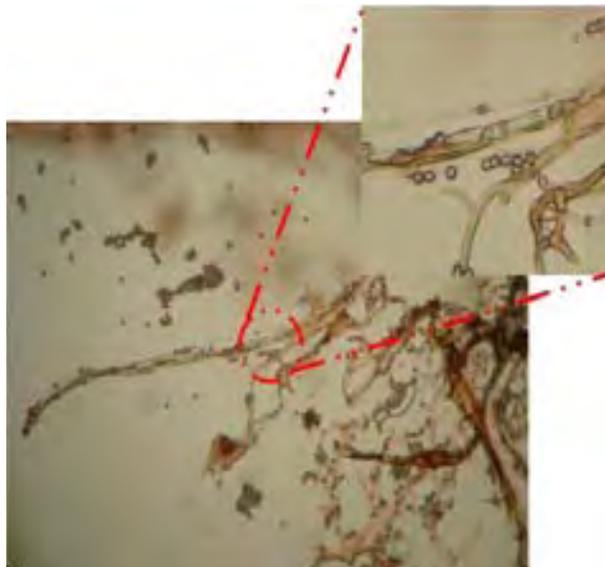


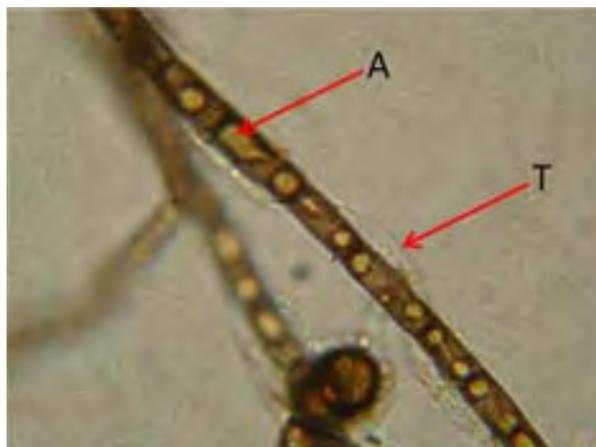
Figura. 24. Crecimiento expresado en cm de *Trichoderma* spp. en el Rancho Las Arboledas.

## V. DISCUSIÓN.

Para demostrar que hubo antagonismo se realizó el análisis estadístico de las mediciones finales de los cultivo duales de *Trichoderma* sp. y *Alternaria* spp. y del testigo, se obtuvo diferencia significativa lo cual indica que las cepas tanto comerciales como endémicas ejercieron un efecto antagónico contra *Alternaria* spp. como se muestra en la fig. 25 y la fig. 26. en donde las hifas de *Trichoderma* spp. están rodeando y penetrando a las hifas de *Alternaria* spp.



**Figura. 25.** Antagonismo de *Trichoderma* spp. contra *Alternaria* spp.



**Figura. 26.** Antagonismo de *Trichoderma* spp. contra *Alternaria* spp. se puede observar que las hifas de T. enredan a las hifas de A.

Tanto las cepas endémicas de *Trichoderma* spp. obtenidas de las tres localidades del Estado de Guanajuato, como la cepa comercial de este hongo, mostraron un antagonismo eficiente contra *Alternaria* spp. en un medio de cultivo de PDA, y a una temperatura de  $28^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ , (cuadro. 9 y Fig. 21), se puede comparar con diversas investigaciones, como la de Rollan (1999), quien señaló que a una temperatura de  $25^{\circ}\text{C}$  las especies de *Trichoderma* colonizan los esclerocios de *Sclerotinia sclerotium* y *S. minor*. Ruano (2003), por su parte, demostró que la temperatura óptima para el crecimiento de *Trichoderma* es de  $25^{\circ}\text{C}$  contra *Rosellinia necatrix*. Torres (2008) encontró que las temperaturas de  $24$  y  $28^{\circ}\text{C}$  permitieron el óptimo crecimiento de *Trichoderma* en la interacción antagónica frente al patógeno *Cladosporium fulvum*.

En los tratamientos con la cepa comercial y la cepa endémica se obtuvo que en el Rancho La Minita, la cepa comercial tuvo un mejor crecimiento que la cepa endémica; en el Rancho El Queretano tanto la cepa comercial como la cepa endémica mostraron un crecimiento uniforme, excepto en el último tratamiento donde la cepa endémica superó a la cepa comercial; en el Rancho Las Arboledas tuvo un mejor crecimiento la cepa endémica que la cepa comercial, demostrando que al menos en este rancho fue más eficiente, ya que está adaptada a las condiciones edafoclimáticas de la zona, lo que coincide con diversos autores, como González (1999), quien demostró que las cepas de *Trichoderma* tuvieron un alto efecto antagónico frente *Alternaria solani*, tanto en forma micelial como metabólica, destacándose la cepa nativa que ejerció un efecto antagónico e hiperparásitico significativamente superior al comercial. Michel (2001) encontró que las especies endémicas de *Trichoderma* aisladas del suelo de huertas de mango, tienen una capacidad inhibitoria sobre el crecimiento micelial del *Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*. Cúndom (2000), por su parte, comprobó que las cepas de *Trichoderma* spp. tienen una actividad antagónica variable, ya que dos cepas mostraron mayor actividad antagónica, comparadas con el testigo se puede decir que la actividad podría deberse a la liberación de sustancias enzimáticas o antibióticas, producidas por la especie de *Trichoderma*. Guigón (2004), por su parte, encontró que las cepas nativas de *Trichoderma*

spp. ofrecen una alternativa efectiva para el biocontrol de la marchitez del chile causada por *Phytophthora capsici*. Suárez (2008) demostró que la cepa endémica, seguido de la cepa comercial de *Trichoderma harzianum*, resultaron ser los antagonistas con mayores habilidades de micoparasitismo, competencia por espacio e inhibición del crecimiento para el control de *Fusarium solani*. Reyes (2008) demostró que los aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *Rhizoctonia* sp. tuvieron un efecto inhibitorio ya que presentan una mayor capacidad para competir por el sustrato.

En el rancho La Minita y El Queretano, la cantidad de inóculo en el suelo fue baja por la aplicación de fungicidas, lo que bajo su potencial antagónico. En el rancho Las Arboledas se obtuvo la mayor eficiencia, una de las causas se debe a que no aplicaron fungicidas que bajaran la cantidad de inóculo y propiedad antagónica. Esto quiere decir que para obtener cepas endémicas de *Trichoderma* spp, es recomendable evitar las aplicaciones de fungicidas con el fin de que no mermen la población de este organismo antagónico.

Los resultados obtenidos demuestran que las cepas endémicas de *Trichoderma* pueden ser más eficientes que las comerciales, siempre y cuando no haya factores que alteren las poblaciones de este organismo antagónico, de acuerdo con Martínez (2008), quien encontró que aun cuando los aislamientos tengan una menor velocidad de crecimiento mantienen su capacidad de competencia por nutrientes y espacio pero pueden llegar a necesitar un tiempo mayor para tener efecto antagónico, por lo que es necesario tener en cuenta este aspecto para la selección de cepas de *Trichoderma* con mayor potencial para el control de los patógenos del suelo. Soto (2002) dio a conocer que a las 10 semanas de que fueron sembradas las plantas ornamentales inoculadas con *T. harzianum* mostraron un mayor crecimiento (altura, número de hojas y de flores) con respecto a las plantas testigo, además la floración se efectuó en menor tiempo.

Por lo tanto, es recomendable utilizar cepas endémicas de los agentes de biocontrol, considerando todos los aspectos involucrados en el desarrollo de los microorganismos tanto benéficos como perjudiciales, así como de su interacción.

## VI. CONCLUSIONES.

- ◆ La temperatura óptima para el crecimiento *in vitro* de *Trichoderma* vs *Alternaria* fue de 28°C.
- ◆ En el crecimiento *in vitro*, *Trichoderma* spp. es antagónico de *Alternaria*, spp. inhibiendo su desarrollo.
- ◆ En el rancho La Minita la eficiencia de las cepas endémicas y la cepa comercial de *Trichoderma* no mostró diferencia significativa.
- ◆ En el Rancho El Queretano la eficiencia de las cepas endémicas y la cepa comercial de *Trichoderma* tampoco mostró diferencia significativa, con excepción de la última fecha de colecta, en donde la cepa endémica superó a la comercial.
- ◆ En el Rancho Las Arboledas las cepas endémicas de *Trichoderma* fueron más eficientes que la cepa comercial.
- ◆ La aplicación de fungicidas altera las poblaciones endémicas de *Trichoderma*.

VII. GLOSARIO. Fuente: Ulloa y Hanlin, 2006.

- ⊕ **Antagonismo:** relación entre dos especies de organismos contrarios, en la cual uno de los dos afecta la vida del otro, ya sea inhibiendo parcial o totalmente su crecimiento o incluso matándolo. El parasitismo entre un parásito y su hospedante se le conoce antagónica o antagonística.
- ⊕ **Antibiosis:** efecto inhibitorio de un organismo sobre los procesos fisiológicos de otro.
- ⊕ **Apresorios:** son órganos de fijación; hifas unicelulares laterales cortas y especializadas, se caracterizan por que parten de los tubos germinativos o hifas más largas se adhieren a la cutícula del hospedante.
- ⊕ **Conidio:** espora asexual nucleada, inmóvil, que generalmente se forma en el ápice o a un lado de una célula esporógena (conidiógena) especializada.
- ⊕ **Conidióforo:** hifa, simple o ramificada, que esta morfológica/o fisiológicamente diferenciada de una hifa somática para producir y portar conidios.
- ⊕ **Enzima lítica:** capaz de degradar la pared celular de un microorganismo.
- ⊕ **Espora:** pequeña unidad de propagación, unicelular o multicelular, asexual o sexual, móvil o inmóvil, que es capaz de originar a un nuevo individuo.
- ⊕ **Formación de conidios de manera blástica:** es un tipo de desarrollo conidial a partir de una porción de la célula conidiógena en el que el primordio del conidio sufre un notorio agrandamiento antes de que dicho primordio sea delimitado por un septo.
- ⊕ **Fungistasis:** inhibición de la actividad vital de los hongos.
- ⊕ **Hidrolasas:** es una enzima capaz de hidrolizar un enlace químico.

- ⊕ **Hiperparásito:** son parásitos de otros parásitos.
- ⊕ **Hospedante:** organismo del cual un parásito obtiene su alimento, ya sea interna o externamente.
- ⊕ **Micelio:** conjunto o masa de hifas que constituye el cuerpo vegetativo o talo de un hongo.
- ⊕ **Micoparásito:** hongo parásito de otro hongo; existen micoparásitos biotróficos, que causan poco daño, o éste no es aparente, en el hospedante, y micoparásitos necrotróficos, que matan una parte o la totalidad de los tejidos del hospedante.
- ⊕ **Microbiota:** es la totalidad de los microorganismos presentes en un área o hábitat específico, incluyendo algas, bacterias, protozoarios y hongos.
- ⊕ **Parasitoide:** es un organismo que vive a expensas de otro pero sin llegar a matar a su hospedador.
- ⊕ **Patosistema:** es el comportamiento de la población del hospedero así como la del patógeno, ya que los componentes biológicos de un patosistema vegetal (planta – agente causal – medio biótico) están relacionados con los componentes abióticos y climáticos.
- ⊕ **Primordio:** es el estado inicial de desarrollo de cualquier estructura.
- ⊕ **Silicua:** es el nombre que recibe el fruto seco dehiscente, más precisamente una cápsula dehiscente paraplacentaria, de ciertas plantas, cuya longitud es al menos el triple que la anchura.
- ⊕ **Sub-letal:** es la dosis de una sustancia potencialmente letal que no es capaz de producir la muerte.
- ⊕ **Sustentable:** se refiere al equilibrio de una especie con los recursos de su entorno.

## VIII. BIBLIOGRAFÍA.

1. Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academia Press. USA. 5ª ed.
2. Alexopoulos C. J. and Mims C. W. 1996. Introductory Mycology. John Wiley and Sons, Inc. New York, USA. 4ª ed.
3. Arzate V. J., Michel A. A., Dominguez M. V. y Santos E. O. 2006. Antagonismo de *Trichoderma* spp. sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la sigatoka negra del plátano (*Musa* sp.) in vitro e invernadero. Revista Mexicana de Fitopatología, año/vol. 24 No. 002. pp. 98-104.
4. Benítez T., Rincón A. M., Limón M. C. and Codón C. A. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. Department of Genetics, University of Sevilla, España.
5. Cappuccino J. G. and Sherman N. 2002. Microbiology a Laboratory Manual. Benjamin Cummings. 6ª ed.
6. Castaños C. 2000. Horticultura, manejo simplificado. Universidad Autónoma de Chapingo. México.
7. Coyne M. 2000. Microbiología del suelo: un enfoque exploratorio. Paraninfo. Madrid, España.
8. Cúndom M. A., Mazza S., Gutiérrez S. A. y Mazzanti M. A. 2000. Actividad antagónica in vitro de aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum*. Cátedra de Fitopatología-Facultad de Ciencias Agrarias. Argentina.
9. Cúndom M. A., Mazza S., Gutiérrez S. A. y Mazzanti M. A. 2001. Evaluación de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* in vitro e invernáculo. Cátedra de Fitopatología-Facultad de Ciencias Agrarias. Argentina.

10. Druzhinina I. and Kubicek C. P. 2004. Species concepts and biodiversity in *Trichoderma* and *Hypocrea*: from aggregate species to species clusters?. Journal of Zhejiang University SCIENCE. Vienna, Austria.
11. Echánove H. F. y Steffen R. C. 2001. Relaciones contractuales en la producción de hortalizas y granos en México. Agroalimentaria. No 13. Diciembre.
12. Echánove. H. F. 2000. La industria mexicana de las hortalizas congeladas y su integración a la economía estadounidense. Investigaciones Geográficas. No. 043, p. 105-119. Universidad Nacional Autónoma de México. Distrito Federal. México.
13. Elósegui. C. O. 2006. Métodos artesanales de producción de bioplaguicidas a partir de hongos entomopatógenos y antagonistas. Instituto de Investigaciones de Sanidad Vegetal (INISAV). Ciudad de la Habana Cuba.
14. Ezziyyani M., Pérez S. C., Sid A. A., Requena M. y Candela M. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocobtrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales de Biología. No. 26. pp. 35-45.
15. Fernández G. J. 2005. Incidencia y caracterización: Morfológica, patogénica y genética de *Alternaria* spp. en cultivos de cebolla del sur de Puerto Rico. Tesis para M. en C. en protección de cultivos. Universidad de Puerto Rico.
16. Ferrera C. R. y Alarcón A. 2007. Microbiología Agrícola hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico y planta-microorganismo. Trillas. México.
17. Financiera Rural. La producción de hortalizas en México. Mayo 2008. <http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Hortalizas.pdf> [Consulta: miércoles, 24 de junio de 2009].
18. González S. C., Puertas A. A., Fonseca F. M., Suárez S. E. y Blaya G. R. 1999. Actividad antagonica de *Trichoderma* sp. aislada de un suelo de la provincia Granma, Cuba

- frente a *Alternaria solani* Sor. Revista de la Facultad de Agronomía (LUZ). Vol. 16. No. 2. pp. 167-173.
19. Granados M. y Wang A. 2008. Efecto de biocontroladores aislados en fincas productoras de cebolla sobre la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum*). Agronomía costarricense. Año/Vol. 32. No. 001. pp. 9-17.
  20. Guigón L. C. y González G. P. 2004. Selección de cepas nativas de *Trichoderma* spp. con actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici* Leonian y promotoras de crecimiento en el cultivo de chile (*Capsicum annum* L.). Revista Mexicana de Fitopatología. Vol. 22. No. 001. pp. 117-124.
  21. Harman G. E. 2005. The nature and application of biocontrol microbes II: *Trichoderma* spp. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Cornell University, Geneva, NY.
  22. Harman G. E., Howell C. R., Viterbo A., Chet I. y Lorito M. 2004. *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. Nature Reviews, Microbiology. Vol. 2.
  23. Humeres V. C. 2004. Evaluación de la capacidad biocontroladora de dos cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre aislados de hongos Basidiomycetes asociados a muerte de brazos en kiwi. Universidad de Talca. Chile.
  24. Inpho: Fichas técnicas. Brócoli. © FAO ,2006.  
<http://www.fao.org/inpho/content/documents/vlibrary/ae620s/Pfrescos/BROCOLI.HTM> [Consulta: miércoles, 24 de junio de 2009]
  25. Koike S. T., Gladders P. y Paulus A. O. 2007. Vegetable disease. Academic Press is an imprint of Elsevier. Boston-San Diego. USA.
  26. Kubicek. C. P. & Harman G. E. 1998. *Trichoderma* & *Gliocladium*. Volume 1. Basic biology, taxonomy and genetics. Taylor & Francis. London.

27. Laemmlen F. 2001. *Alternaria* diseases. UC Peer Reviewed. University of California, Agriculture and Natural Resources. USA.
28. Maroto B. J., Pomares G. F. y Baixauli S. C. 2007. El cultivo de la coliflor y el brócoli. Mundi-Prensa. España.
29. Martínez B., Reyes Y., Infante D., González E., Baños H. y Cruz A. 2008. Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en el arroz. Protección Vegetal. Vol. 23 No. 2. pp. 118-125.
30. Martínez M. A., Roldan A., Lloret E. y Pascual J. 2006. Formulación de *Trichoderma harzianum* Rifai en la producción ecológica de plántulas de melón en semillero para el control de la fusariosis vascular. Fitosanidad. Vol. 10. No. 2.
31. Mendoza Z. C. 1996. Enfermedades Fungosas de las Hortalizas. Universidad de Chapingo. México.
32. Michel A. A., Rebolledo D. O., Lezama G. R., Ochoa M. M., Mesina E. J. y Samuels G. J. 2001. Especies de *Trichoderma* en suelos cultivados con mango afectados por "escoba de bruja" y su potencial inhibitorio sobre *Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*. Revista Mexicana de Fitopatología. Año/vol. 19, no. 002. pp. 154-160.
33. Michel A. A., Otero S. M., Martínez R. R., Rebolledo D. O., Lezama G. R. Ariza F. R. 2005. Actividad micoparasítica *in vitro* de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium subglutinans* y *F. oxysporum*. Revista Mexicana de Fitopatología. Vol. 23. No. 3. pp. 253-261.
34. Mier T., Toriello C. y Ulloa M. 2002. Hongos Microscópicos Saprobios y Parásitos: Métodos de Laboratorio. Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México. México.

35. Orieta. F. y Larrea. V. 2001. Microorganismos Antagonistas para el Control Fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas. Costa Rica. No. 62. p. 96-100.
36. Osorio N. M., Vázquez G. L., Salgado S. M. y González E. C. 2005. Efecto de dos enmiendas orgánicas *Trichoderma* spp. para controlar *Sclerotinia* spp. en lechuga. Revista Chapingo Serie Horticultura. México.
37. Páez M. E. y Sanabria A. N. 2007. Evaluación de la capacidad antagónica de *Trichoderma koningii* sobre *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*. Rev. Fav. Agron. (LUZ). No. 24. Supl. 1. pp. 27-31.
38. Pallás V., Escobar C., Rodríguez P. P. y Marcos F. J. 2008. Herramientas Biotecnológicas en Fitopatología. Mundi-Prensa. España.
39. Pavón M. M., García L. T. y Martín S. R. 2008. Utilización del gen Alt a 1 para la detección de *Alternaria* spp. en productos hortofrutícolas mediante una técnica de PCR. RCCV vol. 2(2). Madrid.
40. Peña C. J., Grageda C. O. y Vera N. J. 2002. Manejo de los fertilizantes nitrogenados en México: uso de las técnicas isotópicas (<sup>15</sup>N). TERRA Latinoamericana, enero-marzo, año/vol. 20, numero 001. Universidad Autónoma de Chapingo, México. pp. 51-56.
41. Ranasingh N., Saurabh A. & Nedunchezhiyan M. 2006. Use of *Trichoderma* in disease management. Orissa Review.
42. Reyes Y., Martínez B. e Infante D. 2008. Evaluación de la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. Protección Vegetal. Vol. 23 No. 2. pp. 112-117.
43. Roco A. and Perez L. 2001. In vitro biocontrol activity of *Trichoderma harzianum* on *Alternaria alternata* in the presence of growth regulators. Electronic Journal of Biotechnology. Vol. 4. No. 2.

44. Rodríguez B. L. y Arredondo B. H (eds). 2007. Teoría y aplicación del control biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. México.
45. Rollan M., Monaco C. y Nico A. 1999. Efecto de la temperatura sobre la interacción in vitro entre especies de *Trichoderma* y *Sclerotinia sclerotiorum*, *S. minor* y *Sclerotium rolfsii*. Invest. Agr.: Prod. Prot. Veg. Vol. 14. pp. 33-48.
46. Romo L. I. y Ávila S. J. 2000. *Trichoderma* spp. como agente de control biológico (parte II). Avances agropecuarios. Universidad de Sonora. Hermosillo, Sonora. México.
47. Ronald M. A. y Bartha R. 2002. Ecología microbiana y microbiología ambiental. Addison Wesley. Madrid. 4ª ed.
48. Ruano R. D., Moral N. L. y López H. C. 2003. Estudio de temperaturas de crecimiento in vitro en aislados de *Trichoderma* sp. y de *Rosellina necatrix*. Evaluación del antagonismo mediante cultivos duales. Actas V congreso mundial del aguacate. pp. 525-529.
49. Serrano C. L. y Galindo F. E. 2007. Control biológico de organismos fitopatógenos: un reto multidisciplinario. Ciencia. Comunicaciones libres. México. p. 77-88.
50. Silva J. B. y Mello S. C. 2007. Utilizacao de *Trichoderma* no controle de fungos fitopatogenicos. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnología. Brasilia.
51. Sinha K. K. 1998. Mycotoxins in agriculture and food safety. Marcel Dekker, Inc. USA.
52. Sistema de Información de Organismos Vivos Modificados (SIOVM), proyecto GEF-CIBIOGEM de Bioseguridad. CONABIO. Brassica oleracea. [http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/bioseguridad/pdf/21416\\_especie.pdf](http://www.conabio.gob.mx/conocimiento/bioseguridad/pdf/21416_especie.pdf) [Consulta: miércoles, 24 de junio de 2009].

53. Smith I. M., Dunez J., Lelliott R. A., Phillips D. H. y Archer S. A. 1992. Manual de enfermedades de las plantas. Mundi-Prensa. Madrid. España.
54. Soto B., Osorio A., Muñoz M. y Galindo R. 2002. El uso de *Trichoderma harzianum* como agente mejorador de plantas ornamentales. Métodos de Investigación. Colegio Marymount.
55. Suárez M. C., Fernández B. J., Valero N. O., Gámez C. R. Y Páez R. A. 2008. Antagonismos in vitro de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. Revista. Colombiana. Biotecnol. Vol. X No. 2. pp. 35-43.
56. Sulunkhe D. K. y Kadam S. S. 2004. Tratado de ciencia de las hortalizas. Acribia S.A. España.
57. Torres E., Iannacone J. y Gómez H. 2008. Biocontrol del moho foliar del tomate *Cladosporium fulvum* empleando cuatro hongos antagonistas. Bragantia: Revista de ciencias agronómicas. Año/Vol. 67. No. 001. pp. 169-178.
58. Trigiano R. N., Winham M. T. and Winham A. S. 2008. Plant pathology concepts and laboratory excersices. CRC Press Taylor and Francis group. 2<sup>a</sup> ed. USA.
59. Ulloa M. y Hanlin R. T. 2006. Nuevo diccionario ilustrado de micología. APS PRESS. St. Paul, Minnesota USA.
60. Uphoff N., Ball S. A., Fernández E., Herren H., Husson O., Laing M., Palm C., Pretty J., Sanchez A. P., Sanginga N., and Thies E. J. 2006. Biological approaches to sustainable soil systems. Taylor & Francis Group. Boca Raton, London and New York.
61. Valadez. L. A. 1994. Producción de hortalizas. UTEHA. Noriega Editores. México.

62. Valadez. L. A. 2001. La producción de hortalizas en México. Buenavista, Saltillo, Coahuila.
63. Valencia I. C. y Hernández B. A. 2002. Muestreos de Suelos, Preparación de Muestras y Guía de Campo. Universidad Nacional Autónoma de México. México.
64. Webster J. and Weber R. W.S. 2007. Introduction to fungi. Cambridge University Press. UK. 3<sup>a</sup> ed.
65. Yedidia I., Benhamou N. and Chet I. 1998. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. Applied and Environmental Microbiology. Vol. 65 No. 3. pp. 1061-1070.

**Anexo 1.**

Crecimiento total expresados en cm de *Alternaria* spp. del Rancho La Minita.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	X
<b>AE1</b>	1.54	1.81	1.64	1.85	2.7	1.67	1.57	1.64	1.67	1.68	1.777
<b>AE2</b>	2.2	1.73	2.12	1.66	2.25	1.94	1.39	1.95	1.36	2.04	1.864
<b>AE3</b>	2.36	1.55	2.82	1.66	1.82	1.81	1.6	1.71	1.79	2.19	1.931
<b>AC1</b>	1.68	1.69	1.68	1.65	1.62	1.75	1.72	1.78	1.8	1.68	1.705
<b>AC2</b>	2.22	1.9	1.99	2.09	2.01	2.15	1.99	2.14	2.03	1.95	2.047
<b>AC3</b>	1.58	2.19	1.94	1.75	1.56	1.86	1.72	1.61	1.96	1.82	1.799
<b>AT1</b>	1.78	2.49	2.19	1.92	1.83	1.91	2.11	1.95	1.99	1.97	2.014
<b>AT2</b>	2.41	2.62	2.62	2.23	2.85	2.4	2.67	2.65	2.66	2.58	2.569
<b>AT3</b>	2.42	2.71	2.51	2.14	2.44	2.24	2.77	2.02	2.38	2.45	2.408

ANOVA. de *Alternaria* spp. del Rancho La Minita.

ANOVA					
Source of Variation	SS	df	MS	F	F crit
<b>Tratamientos</b>	6.91598	8	0.864498	14.21468	2.069832
<b>Repeticiones</b>	0.641938	9	0.071326	1.172799	2.012705
<b>Error</b>	4.378842	72	0.060817		
<b>Total</b>	11.93676	89			

Crecimiento total expresado en cm de *Alternaria* spp. del Rancho El Queretano.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	X
<b>AE1</b>	1.98	1.99	2.14	2.24	2.26	2.14	2.2	1.89	1.95	2.03	2.082
<b>AE2</b>	1.99	1.54	1.75	2	1.78	1.62	1.8	1.81	1.91	2.06	1.826
<b>AE3</b>	1.64	1.75	1.75	1.83	1.61	1.72	1.77	1.92	1.68	1.65	1.732
<b>AC1</b>	1.88	1.74	1.52	1.89	1.99	2.01	1.83	2.01	2.16	1.51	1.854
<b>AC2</b>	1.97	1.79	1.77	1.9	2	1.96	1.73	1.83	1.82	1.4	1.817
<b>AC3</b>	1.96	2.13	1.82	2.12	2.16	1.71	1.97	1.71	1.8	1.74	1.912
<b>AT1</b>	3	2.48	2.66	2.72	2.78	2.57	2.55	2.87	3	2.72	2.735
<b>AT2</b>	2.17	2.28	2.53	2.59	2.06	2.18	2.4	2.79	2.97	2.05	2.402
<b>AT3</b>	2.13	2.32	1.9	2.31	1.82	2.19	2.23	3.03	2.76	2.73	2.342

ANOVA. de *Alternaria* spp. del Rancho El Queretano

ANOVA					
Source of Variation	SS	df	MS	F	F crit
Tratamientos	9.3541	8	1.169263	25.70078	2.069832
Repeticiones	0.700284	9	0.077809	1.710276	2.012705
Error	3.275656	72	0.045495		
<b>Total</b>	<b>13.33004</b>	<b>89</b>			

Crecimiento total expresado en cm de *Alternaria* spp. del Rancho Las Arboledas.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	X
AE1	1.67	1.6	1.68	1.49	1.61	1.66	1.84	1.42	2.17	1.67	1.681
AE2	1.3	1.28	1.28	1.19	1.49	1.27	1.28	1.19	1.36	1.26	1.29
AE3	1.42	1.27	1.59	1.61	1.61	1.4	1.52	1.44	1.41	1.58	1.485
AC1	1.62	2.15	1.8	1.59	2.06	1.61	1.7	1.73	1.59	1.64	1.749
AC2	1.21	1.37	1.34	1.16	1.63	1.55	1.06	1.47	1.5	1.35	1.364
AC3	1.35	1.61	1.65	1.49	1.94	1.57	1.55	1.77	1.26	1.39	1.558
AT1	1.65	2.34	1.92	2.02	1.89	1.58	1.76	1.69	1.62	1.5	1.797
AT2	1.62	2.06	2.09	1.62	1.19	1.86	1.93	1.81	1.18	1.74	1.71
AT3	2.29	2.3	2.22	1.93	2.2	2.12	2.16	2.32	1.99	1.92	2.145

ANOVA. de *Alternaria* spp. del Rancho Las Arboledas

ANOVA					
Source of Variation	SS	df	MS	F	F crit
Tratamientos	5.275209	8	0.659401	17.22373	2.069832
Repeticiones	0.52301	9	0.058112	1.517907	2.012705
Error	2.75648	72	0.038284		
<b>Total</b>	<b>8.554699</b>	<b>89</b>			

**Anexo 2.**

Crecimiento total expresado en cm de *Trichoderma* spp. del Rancho La Minita

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	X
<b>T1</b>	7.32	7.31	7.32	7.35	7.38	7.25	7.28	7.22	7.2	7.32	7.295
<b>T2</b>	7.46	7.19	7.36	7.15	6.3	7.33	7.43	7.36	7.33	7.32	7.223
<b>T3</b>	6.78	7.1	7.01	6.91	6.99	6.85	7.01	6.86	6.97	7.05	6.953
<b>T4</b>	6.8	7.27	6.88	7.34	6.75	7.06	7.61	7.05	7.64	6.96	7.136
<b>T5</b>	7.42	6.81	7.06	7.25	7.44	7.14	7.28	7.39	7.04	7.18	7.201
<b>T6</b>	6.64	7.45	6.18	7.34	7.18	7.19	7.4	7.29	7.21	6.81	7.069

ANOVA. de *Trichoderma* spp. del Rancho La Minita

ANOVA					
Source of Variation	SS	df	MS	F	F crit
<b>Tratamientos</b>	0.744328	5	0.148866	<b>2.090578</b>	2.422085459
<b>Repeticiones</b>	0.669735	9	0.074415	1.045039	2.095755094
<b>Error</b>	3.204355	45	0.071208		
<b>Total</b>	4.618418	59			

Crecimiento total expresados en cm de *Trichoderma* spp. del Rancho El Queretano

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	X
<b>T1</b>	7.03	7.21	7.23	7.1	7	7.04	7.27	7.17	7.18	7.6	7.183
<b>T2</b>	7.01	7.46	7.25	7	7.22	7.38	7.2	7.19	7.09	6.94	7.174
<b>T3</b>	7.12	7.26	7.48	7.11	7.01	6.99	7.17	6.99	6.84	7.49	7.146
<b>T4</b>	7.02	7.01	6.86	6.76	6.74	6.86	6.8	7.11	7.05	6.97	6.918
<b>T5</b>	7.04	6.87	7.18	6.88	6.84	7.29	7.03	7.29	7.2	7.26	7.088
<b>T6</b>	7.36	7.25	7.25	7.17	7.39	7.28	7.23	7.08	7.32	7.35	7.268

ANOVA. de *Trichoderma* spp. del Rancho El Queretano

ANOVA					
Source of Variation	SS	df	MS	F	F crit
Tratamientos	0.707515	5	0.141503	5.670529	2.422085459
Repeticiones	0.327435	9	0.036382	1.457943	2.095755094
Error	1.122935	45	0.024954		
<b>Total</b>	<b>2.157885</b>	<b>59</b>			

Crecimiento total expresados en cm de *Trichoderma* spp. del Rancho Las Arboledas

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	X
<b>T1</b>	7.79	7.63	7.66	7.84	7.37	7.45	7.94	7.53	7.5	7.65	7.636
<b>T2</b>	7.7	7.72	7.72	7.81	7.51	7.73	7.72	7.81	7.64	7.74	7.71
<b>T3</b>	7.38	6.85	7.2	7.41	6.94	7.39	7.3	7.27	7.41	7.36	7.251
<b>T4</b>	7.33	7.4	7.32	7.51	7.39	7.34	7.16	7.58	6.83	7.33	7.319
<b>T5</b>	7.65	7.39	7.35	7.51	7.06	7.43	7.45	7.23	7.74	7.61	7.442
<b>T6</b>	7.58	7.73	7.41	7.39	7.39	7.6	7.48	7.56	7.59	7.42	7.515

ANOVA. de *Trichoderma* spp. del Rancho Las Arboledas.

ANOVA					
Source of Variation	SS	df	MS	F	F crit
Tratamientos	1.582588	5	0.316518	11.88564	2.422085459
Repeteciones	0.389468	9	0.043274	1.625003	2.095755094
Error	1.198362	45	0.02663		
<b>Total</b>	<b>3.170418</b>	<b>59</b>			