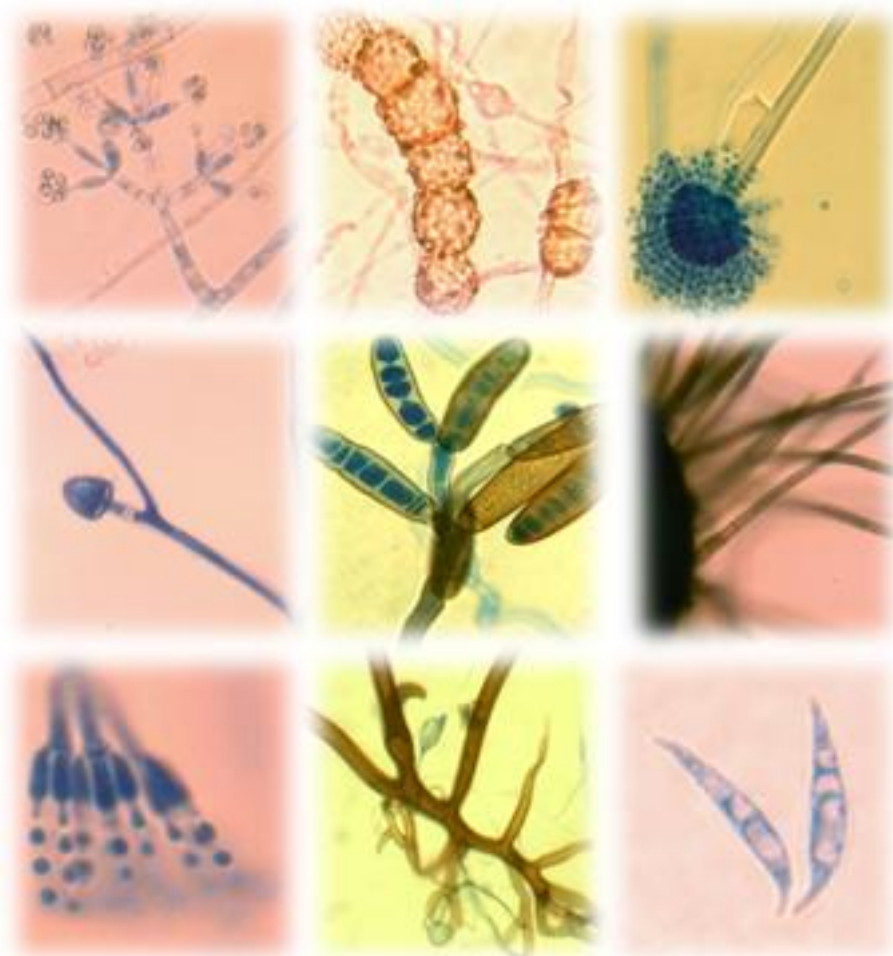


**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO**  
**Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán**

**Prospección de cepas nativas con potencial de control biológico aisladas de suelos infestados con “secadera” del chile (*Capsicum annum* L.)**



Tesis que para obtener el Título de:  
INGENIERA AGRÍCOLA

Presenta

CLAUDIA NATALIA HERNÁNDEZ FERNÁNDEZ

Asesor Biol. Marcos Espadas Reséndiz  
Coasesor M. C. Gloria de los Ángeles Zita Padilla

Cuautitlán Izcalli, Edo. de México  
2011



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**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.

## ÍNDICE

<b>INTRODUCCIÓN</b>	<b>4</b>
<b>OBJETIVOS</b>	<b>7</b>
<b>HIPÓTESIS</b>	<b>7</b>
<b>I. GENERALIDADES</b>	
1.1 Descripción y principios del Control Biológico	<b>8</b>
1.2 Antecedentes del Control Biológico	<b>10</b>
1.2.1 Control Biológico en México	<b>12</b>
1.3 Estrategias del Control Biológico	<b>14</b>
1.3.1 Control Biológico por Conservación	<b>14</b>
1.3.2 Control Biológico Clásico	<b>15</b>
1.3.3 Control Biológico Aumentativo	<b>15</b>
1.4 Mecanismos del Control Biológico	<b>16</b>
1.4.1 Mecanismos del Control Biológico Directo	<b>17</b>
1.4.2 Mecanismos del Control Biológico Indirecto	<b>21</b>
1.5 Biocontrol de fitopatógenos del suelo	<b>26</b>
1.5.1 Especies antagonicas de mayor uso	<b>28</b>
<b>II. METODOLOGÍA</b>	
2.1 Ubicación de la zona de estudio	<b>33</b>
2.2 Toma de muestras de suelo	<b>34</b>
2.3 Medios de cultivo	<b>35</b>
2.4 Aislamiento	<b>37</b>
2.4.1 Dilución en serie	<b>37</b>
2.4.2 Aislamiento por semilla	<b>38</b>
2.5 Cepa pura	<b>39</b>
2.6 Identificación	<b>39</b>
2.6.1 Microcultivo	<b>39</b>
2.6.2 Preparaciones permanentes	<b>40</b>
2.6.3 Descripción morfológica	<b>41</b>
2.7 Conservación de material biológico	<b>42</b>
2.8 Pruebas antagonicas en cultivo dual	<b>42</b>
<b>III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	<b>44</b>

3.1 Aislamiento	44
3.2 Reconocimiento de especies fitopatógenas	50
3.2.1 <i>Fusarium equiseti</i>	50
3.2.2 <i>Fusarium oxysporum</i>	54
3.3 Reconocimiento de especies antagónicas	59
3.3.1 <i>Chaetomium funicola</i>	59
3.3.2 <i>Chaetomium fusiforme</i>	62
3.3.3 <i>Epicoccum purpurascens</i>	66
3.3.4 <i>Gliocladium roseum</i>	69
3.3.5 <i>Trichoderma aureoviride</i>	73
3.3.6 <i>Trichoderma harzianum</i>	77
3.3.7 <i>Trichoderma koningii</i>	81
3.4 Pruebas antagónicas en cultivo dual	87
<b>IV. CONCLUSIONES</b>	<b>99</b>
<b>V. REFERENCIAS</b>	<b>100</b>
<b>VI. ANEXOS</b>	<b>105</b>

## INTRODUCCIÓN

Desde el surgimiento de la agricultura hace aproximadamente 10 mil años; el impacto del hombre en el medio ambiente ha ido aumentando considerablemente. He aquí la diferencia que existe entre el equilibrio de las poblaciones dentro de un sistema natural diversificado y el que se ha visto seriamente afectado en los sistemas agrícolas, consecuencia de la homogenización vegetal, la realización inadecuada de las labores de preparación de suelos, el uso indiscriminado de fertilizantes y plaguicidas y la poca eficiencia de los sistemas de irrigación. Acarreando consecuencias ecológicas tales como: desertificación, salinización y erosión del suelo, disminución de la biodiversidad, contaminación y surgimiento de plagas y enfermedades (Altieri, 1999; Palm *et al*, 1996). Estas últimas consideradas como una de las mayores limitantes en la producción de alimentos a nivel mundial, ocasionando en conjunto pérdidas aproximadas del 48% (Agrios, 2005).

En México la producción de hortalizas se enfrenta a diversos problemas en cuestión de sanidad vegetal, los cuales es necesario priorizar ya que dicha actividad productiva genera cerca del 16% del valor total de la producción, aunque sólo se dedica a ella el 3.5% del total de la superficie cultivada en el país lo que muestra el potencial productivo y la importancia de estos cultivos en la economía nacional. De entre las hortalizas más importantes y cultivadas en el país se encuentra el cultivo de chile, ocupando el segundo lugar, únicamente por debajo del cultivo de jitomate; y al cual se dedica el 15% del total de la superficie cultivada de hortalizas (Siller, 1999).

El chile es considerado un producto de identidad nacional por su importancia gastronómica, económica y socio-cultural, dado que, ha formado parte de la dieta de los mexicanos a lo largo de la historia (Guzmán *et al*, 2004). Actualmente el consumo per cápita promedio se calcula que es de 15 kilogramos anuales (SIAP 2011), mayor que en cualquier parte del mundo, pues representa una importante y variada fuente de nutrientes (Guzmán *et al*, 2004; Lesur, 2006; Luna y Vásquez, 1996; SIAP, 2011).

A nivel mundial se conocen cinco especies de chile cultivadas y destinadas al consumo humano, de las cuales la mayoría de las variedades se concentran en nuestro país (Lesur, 2006; Luna y Vásquez, 1996). Sin embargo, a pesar de ser

considerado como centro de origen, lugar de domesticación y contar con una gran riqueza biológica, México no liderea el primer sitio en la producción mundial, situándose muy por debajo de China, tanto en superficie cultivada como en rendimientos obtenidos (FAOSTAT, 2011).

Así, las cifras nacionales refieren: un volumen de producción de 1' 986, 730 toneladas anuales, de las cuales destacan las aportaciones de tres estados considerados como los principales productores, Chihuahua, Sinaloa y Zacatecas con el 26, 23 y 14.5% del total de la producción anual, respectivamente (SIAP, 2011). Destacando que los estados de Chihuahua y Sinaloa han logrado superar la producción del estado de Zacatecas, destinando una superficie mucho menor al cultivo de dicha hortaliza. Zacatecas, dedica más de 37 mil hectáreas al cultivo de chile, las cuales, sin embargo, presentan escasos rendimientos, aproximadamente 7.8 toneladas por hectárea, apenas la mitad del promedio nacional (SIAP, 2011). Principalmente a causa de enfermedades, entre las que destaca un tipo de márchitez conocida popularmente como "secadera", considerada como una de las enfermedades más perniciosas. Las pérdidas económicas han sido devastadoras las cuales se han calculado que van del 60% ó más del total de la superficie cultivada (González *et al*, 2002; González *et al*, 2004; Guerrero *et al*, 2004; Guigón y González, 2001; Rodríguez *et al*, 2007; Velásquez *et al*, 2004).

Por lo que el abandono de las tierras y el empleo de agentes químicos se han convertido en las únicas opciones de solución para los productores. Sin embargo, las secuelas producidas por el uso indiscriminado y las malas técnicas de aplicación de estos productos químicos se tornan más gravosas y evidentes en los últimos años.

Así pues, dentro de las alternativas de control de enfermedades considerada como una práctica sustentable esta la utilización de métodos biológicos, con efecto directo en la dinámica de poblaciones, es decir, mediante el empleo de organismos que fungen como enemigos naturales de otros individuos (Campbell, 1989; Cervantes, 2003; Guédez *et al*, 2008; Rodríguez y Arredondo, 2007).

Por ello, la finalidad del presente trabajo es la identificación del/los hongo(s) asociado(s) a la “secadera” del chile, en los agroecosistemas zacatecanos, así como la obtención de cepas nativas con potencial para limitar su desarrollo; de forma tal que ésto estimule investigaciones futuras que busquen el control de la enfermedad bajo estos principios biológicos.

Buscando no sólo la estabilidad y sustentabilidad del sistema, sino también el bienestar de productores y consumidores al obtener productos de mejor y mayor calidad e inocuidad.

### **Objetivo General**

Obtener cepas fungosas nativas y evaluar su efecto como agentes de control biológico contra fitopatógenos del suelo en el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.), en el estado de Zacatecas.

### **Objetivos Particulares**

- Evaluar diferentes medios de cultivo para el aislamiento e identificación de hongos en suelo.
- Aislar los hongos asociados a la “secadera” del chile, así como sus posibles agentes de control, a partir de muestras de suelos infestados y no infestados.
- Identificar el/los hongos asociados a la enfermedad.
- Reconocer e identificar a los hongos con potencial de controlar a los agentes asociados a la enfermedad.
- Determinar que agente muestra las mejores características antagónicas para el control de el/los hongo(s) asociado(s) a la “secadera” del chile.

### **Hipótesis**

- Si se obtiene una gran diversidad de cepas fungosas a partir del aislamiento de suelos, entonces se encontrará(n) el/los hongo(s) asociado(s) a la enfermedad y sus posibles agentes de control.
- Si se utilizan cepas con características antagónicas, el crecimiento y desarrollo de el/los hongo(s) asociado(s) a la enfermedad se verá limitado.



## I. GENERALIDADES

### 1. 1 DEFINICIÓN Y PRINCIPIOS DEL CONTROL BIOLÓGICO

Por mucho tiempo han existido ejemplos del uso de enemigos naturales para el control de plagas, y quizá uno de los casos conocidos más antiguos, fue en Asia, donde se propiciaba la presencia y actividad de hormigas entomófagas que atacaban a insectos barrenadores de la morera, planta hospedera del gusano de seda, hace aproximadamente 3 500 años. Acontecimientos similares sucesivos siguieron surgiendo a través de los años, sin embargo, expertos toman como base de los inicios del control biológico cuando esta disciplina comenzó a perfeccionarse como un método científico, tras el exitoso acontecimiento ocurrido en el año de 1888 con la introducción en California del coccinélido *Rodolia cardinalis* traído desde Australia para controlar la escama algodonosa de los cítricos, *Icerya purchasi* (Guédez *et al*, 2008; Huffaker, 1986; Rodríguez y Arredondo, 2007).

No fue hasta comienzos del siglo XX cuando se utilizó por primera vez el término de control biológico por H. S. Smith, científico de la Universidad de California, quien lo definió como la supresión de poblaciones de insectos por la acción de sus enemigos naturales ya sea, nativos o introducidos (Gnanamanickam, 2002).

A partir de este momento el término de control biológico ha sido motivo de gran controversia por lo que podemos encontrar en la literatura infinidad de definiciones, de las cuales, serán mencionadas a continuación, aquellas que se considera son las más relevantes.

Cook y Baker definen el control biológico como “la reducción en la densidad del inóculo o de las actividades que producen la enfermedad de un patógeno o un parásito en su estado activo o latente, por uno o más organismos obtenidos naturalmente o a través de la manipulación del ambiente, el hospedero o sus antagonistas”. Ellos a su vez refieren, que: “la actividad productora de la enfermedad involucra el crecimiento, infectividad, agresividad, virulencia y otras cualidades del patógeno o del proceso que determina la infección, el desarrollo de síntomas y su reproducción. El organismo, incluye individuos avirulentos o hipovirulentos. La

manipulación de la planta hospedera ya sea, por prácticas culturales o con la inoculación de microorganismos para aumentar la resistencia a patógenos; y el antagonista es definido como un organismo que interfiere con la sobrevivencia o actividades productoras de la enfermedad de un patógeno” (Brown y Beringer 1983; Cook y Baker, 1983).

Van Driessche y Bellows lo definieron como “el uso de poblaciones parasitoides, predadoras, patógenas, antagonistas o competidoras para suprimir la población de una plaga disminuyendo su abundancia y su daño”. Shurtleff y Averre mencionan que es “el control de una enfermedad o plaga a través del equilibrio de microorganismos y otros componentes naturales del ambiente” (Gnanamanickam, 2002). La Academia Nacional de Ciencias de los Estados Unidos de América introdujo a la definición: el uso de organismos naturales o modificados, genes o productos de genes para reducir el efecto de organismos indeseables favoreciendo a otros organismos deseables para los cultivos (Gnanamanickam, 2002; Pal y Gardener, 2006). Agrios lo definió simplemente como “la destrucción total o parcial de las poblaciones del patógeno por otros organismos” (Agrios, 2005).

Para finalizar Huffaker menciona que “es el efecto que se origina de la interacción entre poblaciones; esto es, tanto de la población plaga como de la población del enemigo natural, lo cual implica una supresión densidad-dependiente, que se traduce en un equilibrio de poblaciones, más que en un control”. Aunado a ello refiere que los enemigos naturales hacen que el control biológico sea autosostenible o parcialmente autosostenible, por lo tanto los métodos que no los utilizan no son autosostenibles y no pueden ser incluidos en el control biológico (Guédez *et al*, 2008; Huffaker, 1986; Rodríguez y Arredondo, 2007).

A partir de este amplio panorama de definiciones, es claramente observable la afinidad entre ellas, encontrando simples modificaciones conforme los avances en ciencia y tecnología; por lo que, sin importar la definición que se adopte, es esencial no olvidar que el control biológico tomó auge dada la preocupación observada por los efectos nocivos que ha alcanzado hoy en día el uso de agroquímicos, tales como: contaminación de suelos y agua, disminución de la biodiversidad, incluyendo organismos benéficos para los cultivos; daños a la salud, tanto de productores como

consumidores y la dependencia de los sistemas agrícolas a dichos insumos, invirtiendo la relación costo/beneficio. Por lo cual, el agente biológico que sea elegido como modo de control, debe mínimamente revertir los efectos antes mencionados, valorando todos los procesos, desde su producción hasta los impactos dado su uso; para poder ser considerada como una forma de control biológico y como una verdadera alternativa ambiental y económicamente viable.

## **1. 2 ANTECEDENTES DEL CONTROL BIOLÓGICO**

Han sido mencionados ya dos eventos cruciales dentro de la historia del desarrollo del control biológico, sin embargo, dichos eventos se refieren particularmente al control de insectos y poco ha sido mencionado sobre el control biológico de enfermedades que resulta históricamente distinto y de mayor relevancia para este trabajo, pero dado que no se puede dejar pasar por alto ninguno se hará una integración de los eventos más importantes en un contexto general del control biológico, guardando especial énfasis en aquellos que se refieren al control biológico de enfermedades (Tabla 1).

Así tenemos que durante los inicios de la agricultura y con el desarrollo de diversas técnicas que buscaban hacer más productivos los sistemas agrícolas, los antiguos agricultores, de forma involuntaria frecuentemente, mantenían cierto control sobre las enfermedades de las plantas. Por ejemplo, los sumerios desarrollaron sistemas de irrigación y drenaje para controlar las inundaciones de los ríos Tigris y Éufrates hace 8 mil años, lo que ocasionaba una acumulación anual de limos fértiles que proveían de nutrientes a las plantas, y el suelo al ser renovado quedaba relativamente libre de patógenos.

De forma similar los egipcios establecieron sistemas de cultivo intercalados a lo largo del río Nilo sobre los depósitos anuales de limos. Esto combinado con el barbecho de verano durante el cual, el suelo alcanzaba temperaturas de 40-50°C a una profundidad de 10 cm. por un período de 30 días aproximadamente, resultaban letales para los propágulos de los patógenos. Es por ello que la pudrición blanca de la cebolla no fue importante en Egipto hasta aproximadamente el año de 1965, debido a la construcción de presas que detuvieron el flujo del agua, impidiendo el

depósito anual de arcillas vírgenes y la destrucción de esclerocios del patógeno que resultaba anteriormente debido a las condiciones anaeróbicas que se generaban durante los meses de inundación.

Los chinos practicaban ya desde hace 5 mil años la rotación de cultivos y la aplicación de abonos. Los incas desarrollaron sistemas de terrazas y el uso de guano de aves, llamas y humanos, así como cultivos intercalados principalmente maíz y amaranto. Al igual entre los romanos fue muy común la rotación de cultivos; después de la siembra de cereales rotaban con distintos tipos de leguminosas como veza y lupino; además comenzaron el uso de encalados (Cook y Baker, 1983).

Técnicas posteriores fueron demostrando su efectividad para el control de enfermedades en las plantas popularizándose el estudio de las mismas y resultando en los grandes avances y alternativas de hoy en día.

**Tabla 1. Eventos notables de Control Biológico**

Año	Acontecimiento Histórico	Enemigo Natural	Especie Plaga
5900 a. C.	Sumerios y egipcios controlan inundaciones que destruían propágulos.	-	Patógenos
2900 a.C.	Chinos practican desde entonces sistemas con rotación de cultivos y aplicación de abono.	-	-
1400 a. C.	Chinos usan hormigas en la producción de seda.	Hormigas	Barrenadores
1400	Incas practican cultivos intercalados y uso de estiércoles.	-	-
1657	Austen recomienda el uso de orina y estiércol vacuno para cubrir heridas de poda.	-	<i>Nectria galligena</i>
1706	Vallisneri interpreta correctamente el parasitismo.	<i>Apanteles glomeratus</i>	<i>Pieris rapae</i>
1785	Le Berryais sugiere uso de barro fresco para cubrir heridas de poda.	-	Hongos
1791	Forsyth recomienda mezcla de estiércol vacuno, limos, arena y cenizas de madera para cubrir heridas en árboles.	-	-
1837	Collar introduce el concepto de control natural.	-	-
1835	Bassi es el primero en recomendar el uso de patógenos contra plagas.	Patógenos	Plagas
1859	Introducción de un sapo en Puerto Rico para control de plagas en caña de azúcar.	<i>Bufo marinus</i>	Escarabeidos
1866	Walsh sugiere la importación de insectos contra maleza.	Insectos	Maleza
1874	W. Roberts primero en observar la acción de antibióticos en cultivo; introdujo el término de antagonismo.	-	-

Año	Acontecimiento Histórico	Enemigo Natural	Especie Plaga
1893	Se sugiere uso de hongos contra una maleza en Nueva Jersey.	<i>Puccinia suaveolens</i>	<i>Cirsium arvense</i>
1903-27	Control exitoso de nopales en Australia.	Insectos y microbios asociados	<i>Opuntia spp.</i>
1926	Sanford muestra la efectividad de la acidificación del medio.	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Streptomyces scabies</i>
1927	Millard y Taylor muestran efectividad de antagonismo.	<i>Streptomyces praecox</i>	<i>Streptomyces scabies</i>
1936	Weindling y Emerson reportan la producción de gliotoxina por <i>Trichoderma spp.</i>	<i>Trichoderma spp.</i>	Patógenos
1945	Brian y MaGowan reportan producción de viridina en <i>Gliocladium spp.</i>	<i>Gliocladium spp.</i>	Patógenos
1957	H.T. Tribe demuestra efectivo parásito de esclerocios.	<i>Coniothyrium minitans</i>	<i>Sclerotinia trifoliorum</i>
1960	Caso de control biológico exitoso en Rusia.	<i>Alternaria cucutacidae</i>	<i>Cuscuta spp.</i>
1963	Rishbeth exitoso control el cual llegó a ser un producto comercialmente disponible.	<i>Phlebia gigantea</i>	<i>Heterobasidion annosus</i>
1967	K.M. Old muestra el daño que ocasionan amebas.	Amebas	Micelio, conidias, clamidosporas y nematodos
1969	Bruehl demostrará un amplio espectro de producción de antibióticos en una sola especie.	<i>Cephalosporium gramineum</i>	-
1971	J.P. Blakeman y A.K. Fraser impiden germinación de inóculo sobre hojas.	<i>Sporobolomyces spp.</i> <i>Pseudomonas spp.</i>	<i>Botrytis cinerea</i>
1972	D.H. Marx muestran que micorrizas aumentan resistencia en plantas de pino.	Ectomicorrizas	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
1974	S.A. Waksman propone definición de antibiótico.	-	-
1980	Mankau y L.A. Mullen demuestran control de nematodos.	<i>Bacillus penetrans</i> , <i>Dactylella oviparasitica</i> , <i>Nemathophtora gynophila</i> , <i>Verticillium chlamydosporium</i> .	<i>Meloidogyne spp.</i>
1989	Se introduce en Ecuador y México parasitoides africanos para el control de la broca del café.	<i>Cephalonomia stephanoderis</i> , <i>Prorops nasuta</i> .	<i>Hypothenemus hampei</i>
1995	H.R. Herren recibe el Premio de la Alimentación por sus contribuciones al control biológico del piojo de la mandioca en África.	<i>Epidinocarsis lopezi</i>	<i>Phenacoccus manihoti</i>

**Adaptado de:** Gnanamanickam, 2002; Guédez *et al*, 2008; Rodríguez y Arredondo, 2007

### 1. 2. 1 Control Biológico en México

En México el panorama fue distinto, ya que los primeros estudios formales sobre microbiología del suelo y control biológico no comenzaron sino hasta la década de 1920, cuando apareció la primera publicación referente al control biológico de la langosta *Schistocerca paranensis* por la bacteria *Cocobacillus acridiorum*, la cual fue aislada por un bacteriólogo francés llamado Felix D'Herelle quien se hizo famoso por

haber demostrado por primera vez el fenómeno de la destrucción bacteriana gracias a sus observaciones en el estado de Yucatán.

Durante los años de 1943-1952 la Escuela Nacional de Ciencias Biológicas realizó diversos estudios sobre los microorganismos del vaso de Texcoco, el aislamiento del suelo de levaduras acidófilas como *Saccharomyces*, así como la utilización de microorganismos para revelar deficiencias de potasio y fósforo. Para 1956 comienza con estudios sobre antagonismo.

Posteriormente la otrora Dirección de la Defensa Agrícola de la Secretaría de Agricultura y Ganadería colaboró en estudios de inoculación de leguminosas con *Rhizobium* y como resultado de estos estudios se desarrollo un inoculante comercial bajo el nombre de Rizobin.

En 1960 la Facultad de Ciencias realiza caracterizaciones citológicas de *Phytophthora capsici*, *Thiobacillus thiooxidans* y *T. thioparus*.

En 1973 el Instituto de Geología realiza estudios sobre biorremediación de suelos usando *Thiobacillus*. También realizó intentos por controlar *Pythium* llevando a cabo un sistema de rotación de cultivos maíz-leguminosas (usando *Mucuna deeringiana*, *Canavalia ensiformis* y *Pueraria phaseoloides*). En los 80's cuando las zonas aguacateras comenzaron a verse seriamente afectadas por *Phytophthora cinnamomi* los esfuerzos para controlar este patógeno se enfocaron principalmente en la supresividad de suelos, actualmente se combinan con manejo nutrimental y resistencia genética (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2007).

En 1989 se conforma la Sociedad Mexicana de Control Biológico con el objetivo de promover la interacción de los diversos sectores para que contribuyan al mejor conocimiento del control biológico a través de la investigación, enseñanza, aplicación y legislación, así como facilitar el intercambio de información y experiencias entre especialistas.

Ya para inicios del siglo XXI son conocidos grandes investigadores a nivel nacional en el área de control biológico, los cuales se encuentran en un directorio que cuenta hasta ahora con un total de 223 especialistas en el control biológico de plagas,

enfermedades y maleza, estos incluyen profesionistas, técnicos de campo, investigadores, profesores, laboratoristas y encargados de la producción y comercialización de agentes de control biológico en México (SMCB, 2011).

### **1. 3 ESTRATEGIAS DEL CONTROL BIOLÓGICO**

Dentro de las estrategias del control biológico pueden distinguirse tres tipos distintos: el control biológico por conservación, el control biológico clásico o por introducción y el control biológico por incremento o aumentativo.

#### **1. 3. 1 Control Biológico por Conservación**

El primero de ellos tiene como objetivo principal el conservar a los enemigos naturales nativos, bajo el principio de conservación de la biodiversidad dentro del agroecosistema, lo cual brinda una biota compleja que incluye a diversos enemigos naturales con la finalidad de incrementar su impacto sobre las diversas poblaciones de plagas nativas, para ello se requiere identificar que especies están presentes, que plagas atacan y cuales lo hacen mejor y bajo que condiciones (Guédez *et al*, 2008; Rodríguez y Arredondo, 2007).

Es bien conocido que el grado de biodiversidad dentro de un agroecosistema depende de cuatro factores principales que son: la diversidad de la vegetación dentro y fuera del agroecosistema, la permanencia del cultivo dentro del agroecosistema, la intensidad de manejo y el grado de aislamiento del agroecosistema de la vegetación natural.

De aquí se desprenden las diversas prácticas de manejo que ayudan a mejorar y conservar la biodiversidad y disminuyen el potencial de las plagas, tales como: la creación de un mosaico estructural de pequeños y dispersos campos cultivados y no cultivados (los cuales provean paisajes adyacentes que ofrezcan refugio y fuentes de alimento alternativos para los enemigos naturales, buscando mejorar sus condiciones de reproducción y desarrollo), los sistemas de policultivos, la discontinuidad de monocultivos a través de la rotación, el manejo orgánico del suelo, la reducción de las prácticas de labranza, la manipulación de la vegetación adyacente (esto es, la creación de corredores biológicos, el uso de cultivos trampa y/o cortinas rompevientos), el manejo de altas densidades del cultivo, el uso de

variedades con períodos de corta madurez, el uso de cultivos de cobertura y mulches vivos, entre otros (Altieri, 1999).

### **1. 3. 2 Control Biológico Clásico**

Por el contrario el control biológico clásico surge cuando se trata de especies plaga exóticas, que han alcanzado una alta densidad poblacional en una nueva área invadida, debido a condiciones más favorables que en su lugar de origen y donde, por lo tanto no se han encontrado especies de enemigos naturales nativos que ataquen a la población plaga, por lo que es necesaria la introducción de enemigos naturales desde el sitio de origen de la plaga, para que reduzcan su población y brinden así un control efectivo. Sin embargo, puede presentarse que una plaga nativa no tenga enemigos naturales nativos y requiera así de la introducción de un enemigo natural exótico, esto se denomina control biológico neoclásico o control biológico clásico de nueva asociación (Guédez *et al*, 2008; Huffaker, 1986; Rodríguez y Arredondo, 2007).

### **1. 3. 3 Control Biológico Aumentativo**

El control biológico aumentativo surge cuando se conoce que un enemigo natural, ya sea, nativo o introducido es biológicamente efectivo como agente de control, pero su densidad poblacional o sus tasas de desarrollo suelen ser bajas consecuencia de alguna perturbación o debido a un proceso lento de adaptabilidad a nuevos ambientes que lo hacen parecer inefectivo, por lo que se recurre al incremento de dicha población a través de la cría masiva y la liberación inoculativa o inundativa (Gnanamanickam, 2002).

La liberación inoculativa hace referencia a una estrategia principalmente preventiva que se realiza al establecimiento del cultivo y con la finalidad de que el enemigo natural sea pionero en la colonización del área ocupada durante el tiempo de permanencia del cultivo dificultando así el establecimiento y daño de la plaga. A diferencia, cuando se habla de una liberación inundativa el enemigo natural es liberado en un número muy elevado y una vez que el cultivo está ya establecido y la especie plaga ha alcanzado serios niveles de daño económico, por lo que se le considera como una estrategia más bien curativa (Gnanamanickam, 2002; Rodríguez y Arredondo, 2007).



## 1. 4 MECANISMOS DEL CONTROL BIOLÓGICO

Durante el flujo de energía dentro de los ecosistemas naturales se llevan a cabo diferentes tipos de interacciones entre individuos y poblaciones, las cuales se basan en dos tipos principales de relaciones ecológicas: las intraespecíficas y las interespecíficas. Las primeras son aquellas que se establecen entre individuos de la misma especie, presentes en un ambiente determinado y las cuales serán condicionadas principalmente por factores denso-dependientes; el segundo grupo hace referencia a la relación que se establece entre individuos de distintas especies y las cuales pueden clasificarse como positivas o negativas, según las consecuencias que se presenten entre los organismos involucrados.

Las asociaciones consideradas positivas son: El mutualismo, que es una asociación entre dos o más especies, y en la cual ambas especies aumentan su supervivencia, crecimiento y reproducción. Sin embargo, este tipo de interacción generalmente es obligada, en cuyo caso puede durar toda la vida, e involucra contacto físico y bioquímico continuo. La protooperación, es una asociación donde ambas especies resultan beneficiadas, pero a diferencia de la asociación mutualista, en ésta ninguno de los organismos involucrados depende del otro para sobrevivir. Otro tipo es el comensalismo, que se refiere a una interacción donde sólo uno de los organismos se beneficia, mientras que el otro no recibe ningún beneficio pero tampoco se ve afectado, ejemplos clásicos de este tipo de asociación se presentan cuando una especie es utilizada como medio de transporte o donde una de las especies se alimenta simplemente de los desechos o restos de comida de la otra.

Como asociaciones de tipo negativas se tienen: El antagonismo, que es una interacción en donde las consecuencias para una especie resultan ser perjudiciales. La competencia se define como la interacción entre dos especies por el uso de un recurso común que existe en cantidad limitada, y resulta en un descenso de la actividad, crecimiento y fecundidad de por lo menos uno de los organismos involucrados. El parasitismo, es aquella relación donde dos organismos relacionados filogenéticamente coexisten sobre un período prolongado de tiempo, en el que un organismo, usualmente el más pequeño, llamado parásito se beneficia y el otro llamado hospedero es afectado hasta cierto punto pero sin ocasionar la muerte. Por

último la depredación, que se refiere a la caza y muerte de un organismo por otro para su consumo y sustento (Heydari y Pessarakli, 2010; Pal y Gardener, 2006).

De las interacciones mencionadas anteriormente las más comunes y aprovechadas por el control biológico de enfermedades son las de mutualismo y competencia como una forma indirecta de control y el antagonismo como una forma directa. En ambas los mecanismos de acción son diversos y suelen ocurrir a través de un amplio espectro de direcciones, relacionadas con el contacto y especificidad de las interacciones entre las especies.

#### **1. 4. 1 Mecanismos del Control Biológico Directo**

● El hiperparásitismo o también conocido como micoparásitismo, es una relación donde se requiere de una asociación íntima entre el hospedero y el parásito, por lo que el patógeno es directamente atacado por el agente de control biológico (Tabla 2), matándolo a éste y sus propágulos (Heydari y Pessarakli, 2010; Pal y Gardener, 2006).

De esta relación se distinguen dos tipos diferentes:

- *Micosimbiosis biotrófica (Micoparásitismo biotrófico)*: Surge cuando el hiperparásito no es capaz de sintetizar ciertos nutrientes y los obtiene del hospedero vivo, al cual ocasiona poco o ningún daño aparente. La obtención de estos nutrientes puede ocurrir por contacto; es decir, al entrar el hiperparásito en adhesión con las hifas del hospedero lo que aumenta la permeabilidad de su membrana permitiendo así el aporte de sustancias hacia el hiperparásito; o por medio de la formación de haustorios; estructuras que al ponerse en contacto con las hifas del hospedero penetran y absorben nutrientes.

- *Micosimbiosis necrotrófica (Micoparásitismo necrotrófico)*: Muchos de los hongos viven como saprobios pero algunos de ellos tienen la capacidad de expresar su actividad micoparásita. Esta capacidad en la mayoría de los casos destruye por completo al hospedero para consumirlo; lo cual logran por medio de un proceso llamado lisis, que consiste en la formación de clavos de penetración para absorber el contenido del citoplasma o por súper enrollamiento hifal que provoca contracciones, deformación y destrucción total del micelio del hospedero. Cabe destacar que este tipo de hiperparásitos no sólo ataca

estructuras somáticas sino también puede hacerlo sobre estructuras reproductivas y de resistencia (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2007; Mukerji y Garg, 1988).

**Tabla 2. Ejemplos más comunes de hiperparásitos**

Hiperparásito	Hospedero
<i>Acremonium alternatum</i> , <i>Acrodontium crateriforme</i> , <i>Ampelomyces quisqualis</i> , <i>Cladosporium oxysporum</i> , <i>Gliocladium virens</i> .	Capaces de parasitar mildius polvosos
<i>Arthrobotrys spp.</i> , <i>Candelabrella spp.</i> , <i>Catenaria spp.</i> , <i>Dactylaria spp.</i> , <i>Dactylella spp.</i> , <i>Genicularia spp.</i> , <i>Nematophthora spp.</i> , <i>Verticillium chlamyosporium</i> .	<i>Ditylenchus myceliophagous</i> , <i>Heterodera schachtii</i> , <i>H. avenae</i> , <i>H. carotae</i> , <i>H. cruciferae</i> , <i>H. goettingiana</i> , <i>H. trifolii</i>
<i>Bacillus megaterium</i> , <i>B. subtilis</i> , <i>B. polymyxa</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> .	Son completos inhibidores de uredinosporas
<i>Cladosporium spp.</i>	<i>Melampsora larici-populina</i> , <i>M. medusae</i> <i>Puccinia asparagi</i>
<i>Coniothyrium minitans</i> , <i>Sporidesmium sclerotivorum</i> , <i>Verticillium biguttatum</i> .	Atacan esclerocios
<i>Cronartium ribicola</i> , <i>Helanium hoopesii</i> , <i>Trichothecium roseum</i> .	<i>Saccharum officinarum</i> , <i>Uromyces fabae</i>
<i>Darluca spp.</i>	<i>Melampsora larici-populina</i> , <i>Peridermium peckii</i> <i>Puccinia asparagi</i> , <i>P. poculiformis</i> , <i>P. ruelliae</i> , <i>P. triticina</i> , <i>Uredo ravannae</i> , <i>Uromyces andropogonii-annulati</i> , <i>U. phaseoli var. typica</i> .
<i>Hansfordia spp.</i>	<i>Cercospora spp.</i> , <i>Puccinia spp.</i>
<i>Monocillium nordinii</i>	<i>Endocronartium harknessii</i>
<i>Pythium oligandrum</i>	Atacan principalmente hifas vivas
<i>Trichoderma spp.</i>	Varios
<i>Tuberculina spp.</i>	Varios <i>Uredinales</i>
<i>Verticillium lecanii</i>	<i>Puccinia striiformis</i>
<i>Xanthomonas uredovorus</i>	<i>Puccinia graminis</i>

**Adaptado de:** Cook y Baker, 1983; Mukerji y Garg, 1988

● Producción de antibióticos. Son metabolitos secundarios tóxicos secretados por algunos microorganismos que a bajas concentraciones pueden inhibir o matar a otros organismos susceptibles, éstos pueden iniciar su actividad parasítica a distancia, a diferencia de los hiperparásitos donde el contacto físico es obligado (Tabla 3). El modo de acción de algunos antibióticos va dirigido a bloquear la síntesis, exportación, organización o formación de la pared celular, específicamente de los enlaces cruzados del peptidoglicano, principal componente de la pared celular, otros alteran la permeabilidad de la membrana celular, permitiendo así la entrada de elementos tóxicos al interior de las células y dar muerte a las mismas. Existen otros que interfieren con la síntesis de ADN, ARN, ribosomas y/o enzimas que participan en la síntesis de proteínas (Heydari y Pessarakli, 2010; Pal y Gardener, 2006).

**Tabla 3. Ejemplos de antibióticos producidos por agentes de control biológico**

Antibiótico	Microorganismo productor	Patógeno blanco
2,4-diacetil-floroglucinol	<i>Pseudomonas fluorescens</i> F113	<i>Pythium spp.</i>
6-pentil- $\alpha$ -pirona suzukacilina, alameticina, trichotecenos, trichodermina y dermadina.	<i>Trichoderma spp.</i>	Varios
Agrocin 84	<i>Agrobacterium radiobacter</i>	<i>Agrobacterium tumefaciens</i>
Ácido ciclopiazónico	<i>Penicillium oxalicum</i> <i>Penicillium griseofulvum</i>	-
Ácido secalónico B	<i>Penicillium oxalicum</i>	-
Bacilomicina D	<i>Bacillus subtilis</i> AU195	<i>Aspergillus flavus</i>
Bacilomicina, Fengicina	<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> FZB42	<i>Fusarium oxysporum</i>
Citrinina	<i>Penicillium citrinum</i>	<i>Rhizoctonia bataticola</i> , <i>Gaeumannomyces graminis</i> , <i>Pythium spp.</i> , <i>Sclerotinia</i> <i>sclerotiorum</i> , <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> y <i>Salmonella typhi</i>
Cochliodinol	<i>Chaetomium spp.</i>	<i>Fusarium roseum</i> , <i>Helminthosporium victoriae</i> , <i>Fusarium nivale</i>
Dehidroverrucarina, muconomicina, roridina y verrucarina.	<i>Myrothecium spp.</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
Diatretina	<i>Leucopaxillus cereales var.</i> <i>piccina</i>	Zoosporas de <i>Phytophthora</i> <i>cinnamomi</i>
Fenazinas	<i>Pseudomonas fluorescens</i> 2-79 y 30-84	<i>Gaeumannomyces graminis var.</i> <i>tritici</i>
Flavipina	<i>Epicoccum purpurascens</i>	-
Gliotoxina	<i>Trichoderma hanatum</i> , <i>T.</i> <i>harzianum</i> , <i>T. virens</i> , <i>T. viride</i> <i>Gliocladium spp.</i> <i>Penicillium restrictum</i> , <i>Aspergillus spp.</i> , <i>Dichotomomyces spp.</i>	Varios
Gliovirina	<i>Trichoderma hanatum</i>	<i>Fusarium spp.</i>
Griseofulvina	<i>Penicillium nigricans</i> <i>Penicillium griseofulvum</i>	Bacterias Oídios Royas <i>Botrytis cinerea</i>
Herbicolina	<i>Pantoea agglomerans</i> C9-1	<i>Erwinia amylovora</i>
Iturina A	<i>Bacillus subtilis</i> QST713	<i>Botrytis cinérea</i> , <i>Rhizoctonia</i> <i>solani</i>
Micosubtilina	<i>Bacillus subtilis</i> BBG100	<i>Pythium aphanidermatum</i>
Patulina	<i>Penicillium griseofulvum</i>	Bacterias
Penicilina	<i>Penicillium spp.</i>	Bacterias
Pioluteorina, Pirrolnitrina	<i>Pseudomonas fluorescens</i> Pf-5 <i>Burkholderia spp.</i> <i>Serratia spp.</i>	<i>Cylindrocarpon destructans</i> , <i>Erwinia caratovora</i> , <i>Pythium</i> <i>ultimum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Verticillium dahliae</i>
Scytaalidina	<i>Scytaalidium uredinicola</i>	<i>Endocronartium harknessii</i> , <i>Poria</i> <i>carbonica</i> , <i>Peniophora gigantea</i> ,

Antibiótico	Microorganismo productor	Patógeno blanco
		<i>Phytophthora infestans</i> , <i>P. lateralis</i> , <i>Polyporus schweinitzii</i>
Viridina	<i>Trichoderma viride</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>
Xanthobacin A	<i>Lysobacter spp.</i>	<i>Aphanomyces cochlioides</i> , <i>Ralstonia solanacearum</i> , <i>Rhizoctonia solani</i>
Zwitermicina A	<i>Bacillus cereus</i> UW85	<i>Phytophthora medicaginis</i> , <i>P. aphanidermatum</i>

**Adaptado de:** Benítez *et al*, 2004; Bleoju, 2007; Carrillo, 2003; Cook y Baker, 1983; Müller *et al*, 2008; Pal y Gardener, 2006; Suárez *et al*, 2008; Cruz, 2007; Ochoa, 2002.

● Producción de enzimas líticas. Son otro tipo de metabolitos excretados por algunos microorganismos que generalmente son empleados para descomponer residuos vegetales u otros tipos de materia orgánica no viva. Algunas de estas enzimas se ha observado que pueden interferir con el crecimiento y/o actividad de otros organismos vivos; por lo que actualmente se ha aprovechado esta función como una propiedad antifúngica contra algunas especies de gran importancia fitopatógena. Estas enzimas actúan despolimerizando una gran variedad de compuestos poliméricos estructurales de las paredes fúngicas como: proteínas, quitina, celulosa, hemicelulosa,  $\beta$ -1-3- glucanos y ADN (Pal y Gardener, 2006).

● Producción de otros metabolitos. Existen otros compuestos con importante actividad antifúngica como el quitosano, un polímero biodegradable no tóxico derivado de la desacetilación de la quitina (la quitina es el principal elemento estructural del exoesqueleto de los artrópodos, también ha sido encontrado en algunas especies de hongos de la clase Zygomycota), el cual es utilizado principalmente para el control de enfermedades en poscosecha, aunque también se ha observado que al realizar enmiendas al sustrato suprime significativamente las pudriciones de raíz ocasionadas por *Fusarium oxysporum f.sp. radialis lycopersici* en jitomate (Heydari y Pessarakli, 2010; Pal y Gardener, 2006). Diversos compuestos orgánicos volátiles producidos por algunas especies de rizobacterias son también involucrados en las interacciones con patógenos ejemplos de ellos son el ácido indol-3-acético, N-butanoil-HSL, N-hexanoil-HSL y 3-oxo-hexanoil (Müller *et al*, 2008); las alquil pironas producidas por *Trichoderma harzianum* (Trigiano *et al*, 2008) y el ácido 2-metil-sórbico, producido por algunas otras especies de hongos, como *Talaromyces flavus* y *Aspergillus terreus* (Naraghi *et al*, 2010). Otros compuestos muy importantes son el ácido cianhídrico (HCN) y amonio producidos principalmente por ciertos grupos de

bacterias como *Pseudomonas* y *Enterobacter*, los cuales causan un bloqueo en la ruta citocromo c-oxidasa resultando altamente tóxico para todos los microorganismos aerobios (Heydari y Pessarakli, 2010).

#### 1. 4. 2 Mecanismos del Control Biológico Indirecto

● Competencia. La disponibilidad de nutrientes dentro de la fitosfera y la rizosfera suelen ser limitados para la gran cantidad de microorganismos que las habitan, por lo que el éxito en la colonización de estos ambientes resulta en una efectiva capacidad de obtención de nutrientes. Por ello se sugiere que la competencia entre microorganismos patógenos y no patógenos por recursos juega un papel importante en la incidencia y severidad de enfermedades.

Los microorganismos suelen colonizar los sitios donde el agua y el carbono son disponibles rápidamente, estos puntos se ubican principalmente en las raíces secundarias, así al quedar estos puntos ocupados con anterioridad por organismos no patogénicos la invasión por patógenos se ve inhibida.

También dentro de este tipo de relación de competencia se incluye lo que se denomina protección cruzada (*cross protection*), que es una forma de competencia en la cual una variedad avirulenta o hipovirulenta de un patógeno, ya sea de la misma especie o estrechamente relacionado, es usada para proteger a la planta contra la infección de la variedad más virulenta. Este fenómeno llamado hipovirulencia ocurre por anastomosis, donde la variedad hipovirulenta puede transmitirle esta condición al patógeno. Sin embargo, esta estrategia de control es poco aceptada y difundida debido al hecho en que las variedades hipovirulentas pueden convertirse en variedades virulentas y tener un efecto sinérgico inesperado en el aumento de la enfermedad (Agrios, 2005; Trigiano *et al*, 2008).

Además de esta competencia por espacio y recursos agua-carbono disponibles, existen otros microelementos que son extremadamente limitados como el hierro (Fe), por lo que algunos microorganismos han desarrollado la capacidad de producir compuestos quelatantes de hierro conocidos como sideróforos, los cuales tienen la capacidad de solubilizar el hidróxido férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) fuertemente insoluble resultado de la oxidación del óxido ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ) en suelos bien aireados y con pH neutro (Tabla 4). Así la síntesis de sideróforos no sólo incrementa la eficiencia en la absorción de

hierro y la habilidad para colonizar las raíces, sino también se ha observado la inhibición en la germinación de clamidosporas de algunas especies.

**Tabla 4. Ejemplos de sideróforos producidos por bacterias y hongos**

Sideróforo	Especie
Azotobactina	<i>Azotobacter vinelandii</i>
Enterobactina	<i>Escherichia coli</i> , <i>Samonella typhimurium</i>
Enterobactina, Bacilibactina	<i>Bacillus subtilis</i>
Eritrobactina	<i>Saccharopolyspora erythraea</i>
Ferricromo	<i>Ustilago sphaerogena</i>
Ferrioxamina B	<i>Streptomyces pilosus</i>
Fusarinina C	<i>Fusarium roseum</i>
Hidroxamato	<i>Pisolithus tinctorius</i>
Pseudomonadaceae	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
Pseudobactina	<i>Pseudomonas B10</i> , <i>Pseudomonas fluorescens</i> , <i>Pseudomonas putida</i>
Vibriobactina	<i>Vibrio cholerae</i>
Yersiniabactina	<i>Yersinia pestis</i>
-	<i>Serratia marcescens</i>

**Fuente:** <http://metabolismobacterianomg.wikispaces.com/file/view/Sider%C3%B3foros.pdf>

● Inducción de resistencia en el hospedero. Las plantas responden a una gran variedad de estímulos ambientales, incluyendo gravedad, luz, temperatura, estrés físico e hídrico y disponibilidad de nutrientes; de la misma forma resulta común que respondan a una gran variedad de estímulos químicos que son producidos en la asociación con un microorganismo. Estos estímulos pueden inducir o condicionar la defensa de la planta hospedera a través de cambios bioquímicos que aumentan o mejoran la resistencia contra subsecuentes infecciones patogénicas (Pal y Gardener, 2006).

La resistencia de las plantas puede ser de tipo constitutiva o inducible. La primera forma parte de la defensa general de todas las plantas y es expresada como una característica normal del desarrollo; ésta puede ser de tipo pasiva o activa, la primera se refiere a los atributos físicos en el hospedero como el grosor de la cutícula, la topografía en la superficie de las hojas, el tipo de estomas, la presencia de tricomas y ceras y la suberización y depósito de polímeros insolubles en la pared celular (Jauch, 1985; Trigiano *et al*, 2008).

La segunda corresponde a compuestos que se encuentran particularmente en semillas, órganos de almacenamiento y otros tejidos vegetativos o sustancias naturales como gomas, látex, taninos, fenoles y algunos otros ácidos que fungen como inhibidores de enzimas hidrolíticas como proteasas (tripsina, quimotripsina, subtilisina, carboxipéptidasas, cisteín proteasas, etc.) y amilasas (Blanco-Labra y Aguirre, 2002; Jauch, 1985).

A diferencia de la resistencia de tipo constitutiva, en la inducible, su expresión esta altamente regulada al contacto con un organismo. De ella se distinguen dos tipos diferentes:

- Resistencia Sistémica Adquirida (**SAR**): En la cual esta involucrado un organismo necrotrófico, el cual destruye rápidamente las células del hospedero debido a la acción de toxinas o enzimas líticas usadas para la penetración. Esta relación es mediada principalmente por ácido salicílico, compuesto que es producido una vez iniciada la infección y él cual posteriormente guía a la expresión de las llamadas proteínas relacionadas con la patogénesis (PR) y a la activación simultánea de la respuesta hipersensitiva, esto es, la muerte rápida de las células infectadas y unas cuantas células adyacentes al sitio de infección, lo cual limita la invasión progresiva de otras células (Blanco-Labra y Aguirre, 2002; Pal y Gardener, 2006; Trigiano *et al*, 2008).

Las proteínas relacionadas con la patogénesis, son proteínas que tienden a ser ácidas, resistentes a proteólisis y a estar localizadas en espacios intercelulares, existe una enorme variedad de estas proteínas, las cuales han sido clasificadas en distintos grupos:

- Enzimas de la ruta fenil propanoide: El proceso de infección en la planta incrementa la síntesis de las enzimas fenilalanina amonio-liasa (PAL) y chalcona sintasa (CHS), que están involucradas en la biosíntesis de compuestos fenólicos (ácido férulico, ácido p-coumerico, p-hidroxiacetofenona, isorapontina, catecin, etc (Krishna, 2005)) y fitoalexinas (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2007; Lavania *et al*, 2006).
- Síntesis de hidrolasas: Son enzimas con la capacidad de hidrolizar polímeros de la pared celular fúngica, como las quitinasas y  $\beta$ -1,3-glucanasas.



- Síntesis de glicoproteínas ricas en hidroxiprolina: Tienen el efecto de reforzar la pared celular de la planta hospedera debido a su acumulación dentro de ella.
- Síntesis de peroxidasas: Su función es catalizar la producción de lignina sobre las paredes celulares de la planta hospedera (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2007).
- Síntesis de tioninas: Estas tienen la capacidad de alterar la permeabilidad de la membrana del patógeno, resultando en la pérdida de electrólitos, inhibición de síntesis de macromoléculas ADN, ARN e interferencia con reacciones redox.
- Síntesis de lisozima: Esta se encarga principalmente de inhibir el crecimiento bacteriano por hidrólisis de peptidoglicanos de la pared celular.
- Proteínas que inhiben poligalacturonasas. Tienen la capacidad de inhibir enzimas pectato liasas y poligalacturonasas, producidas por el patógeno para degradar los polímeros de la pared celular.
- Proteínas que inhiben ribosomas: Son llamadas N-glicosidasas, las cuales se encargan de romper el enlace N-glucosídico de adenina en una secuencia específica del ARN de ribosomas, dejándolos incapacitados para sintetizar proteínas.
- Inhibidores de proteasas: Estas proteínas funcionan principalmente en la defensa contra el ataque de herbívoros, que son los que usan, uno o una combinación de serín, cisteín y aspártico proteasas como principales enzimas proteolíticas digestivas (Blanco-Labra y Aguirre, 2002).
- Resistencia Sistémica Inducida (**ISR**): Esta describe la resistencia inducida contra organismos patógenos a través del uso de organismos no patogénicos, o también llamados organismos biótros, los cuales se caracterizan por un flujo de transporte nutrimental bidireccional entre planta y microorganismo, lo que significa que las células del hospedero son poco o nada afectadas por dichos microorganismos. Este tipo de resistencia es mediada por el etileno y/o el ácido jasmónico (Blanco-Labra, 2002; Pal y Gardener, 2006; Trigiano *et al*, 2008).

Dentro del tipo de resistencia sistémica inducida destaca la importancia de las asociaciones micorrízicas, donde absolutamente todas las variantes de este tipo de

asociación, desde el uso de rizobacterias, micorrizas vesículo-arbuscular (particularmente común en plantas cultivadas, pastos y árboles tropicales; esta forma de micorrizas son las más importantes desde el punto de vista agronómico y económico, e incluye principalmente a hongos de los géneros *Glomus*, *Acaulospora*, *Gigaspora*, *Entrophospora*, *Scutellospora* y *Sclerocystis*), ectomicorrizas, ectendomicorrizas, micorrizas arbutoides, monotropoides, ericoides y orquidáceas; pueden ser ampliamente aprovechadas para el control de organismos patógenos en una amplia variedad de especies vegetales y ecosistemas (Issac, 1992). La Tabla 5 muestra algunos ejemplos de especies micorrízicas empleadas como agentes de control biológico.

**Tabla 5. Micorrizas usadas como agentes de control biológico**

Especie micorrízica	Especie vegetal	Patógeno blanco
<i>Azospirillum brasilense</i>	Maíz ( <i>Zea mays</i> )	-
<i>Boletus spp.</i> , <i>Suillus grevelia</i>	<i>Pinus massononiana</i>	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Fusarium solani</i> , <i>F. oxysporum</i> , <i>Pythium aphanidermatum</i> , <i>P. ultimum</i>
<i>Bradyrhizobium japonicum</i>	Soya ( <i>Glycine max</i> )	-
<i>Bradyrhizobium spp.</i>	Cacahuete ( <i>Arachis hypogaea</i> )	-
<i>Gigaspora margarita</i>		<i>Meloidogyne incognita</i>
<i>Glomus etunicatum</i> , <i>G. intraradices</i> , <i>G. monosporum</i>	Fresa ( <i>Fragaria spp.</i> )	<i>Phytophthora fragariae</i>
<i>Glomus fasciculatum</i> , <i>G. macrocarpum</i>	-	<i>Mixomycetes</i>
<i>Glomus fasciculatum</i> , <i>G. margarita</i> , <i>G. versiforme</i>	Sandía ( <i>Citrullus lanatus</i> )	<i>Fusarium oxysporum var. niveum</i>
<i>Glomus mosseae</i>	Jitomate ( <i>Lycopersicon esculentum</i> )	<i>Phytophthora parasitica</i>
<i>Laetisaria arvalis</i>	Frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> ), soya ( <i>Glycine max</i> ), remolacha azucarera ( <i>Beta vulgaris</i> )	<i>Rhizoctonia solani</i> , <i>Pythium spp.</i>
<i>Leucopaxillus cerealis</i>	<i>Pinus echinata</i>	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
<i>Paxillus involutus</i>	-	<i>Fusarium oxysporum</i> , <i>F. moniliforme</i>
<i>Peniophora gigantea</i>	<i>Pinus spp.</i>	<i>Heterobasidium annosum</i>
<i>Pisolithus tinctorius</i>	<i>Pinus clausa</i>	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
<i>Rhizobium leguminosarum var. phaseoli</i>	Frijol ( <i>Phaseolus vulgaris</i> )	-
<i>R. leguminosarum var. trifolii</i>	Trébol ( <i>Trifolium spp.</i> )	-
<i>R. leguminosarum var. vicia</i>	Chícharo ( <i>Pisum sativum</i> ), haba ( <i>Vicia faba</i> ), lenteja ( <i>Lens culinaris</i> )	-
<i>Rhizobium meliloti</i>	Alfalfa ( <i>Medicago sativa</i> ), trébol ( <i>Trifolium spp.</i> )	-

**Adaptado de:** Cook y Baker, 1983; Krishna, 2005; Pal y Gardener, 2006

El papel de los hongos micorrízicos en la inducción de resistencia en el hospedero radica, en su efecto bioprotector en el que por competencia de espacio y recursos nutrimentales, excluye físicamente a las especies patógenas, aunque, incluso en algunas especies micorrízicas se ha detectado ya la producción de antibióticos (Krishna, 2005).

Por otra parte otorgan grandes beneficios sobre su hospedero al incrementar la eficiencia en la absorción de nutrientes, gracias a la exploración de una mayor área dentro del suelo debida a la extensión hifal; aumentan la longevidad de las raíces y promueven el desarrollo de raíces laterales, debido a la producción de citocininas y compuestos parecidos a giberelinas, y mantienen el flujo de agua incluso bajo condiciones de estrés hídrico; todo lo anterior se refleja en un incremento en la velocidad de crecimiento y producción de biomasa en la planta hospedera, lo cual las torna más vigorosas y saludables ante el ataque de patógenos (Lambers *et al*, 2009; Issac, 1992). Además, se les ha atribuido un papel muy importante en la habilidad de sobrevivencia de plantas que crecen en suelos con presencia de metales pesados a niveles tóxicos; y en la germinación de semillas de algunas especies de plantas (Issac, 1992).

Sin embargo, y a pesar de que más del 90% de las plantas superiores anuales y perennes poseen algún tipo de asociación micorrízica (Bueé *et al*, 2009; Lambers *et al*, 2009; Issac, 1992) existen otras plantas que son consideradas como especies no micotróficas, que interfieren en el éxito de establecimiento de una asociación micorrízica, las especies más conocidas pertenecen principalmente a las familias Proteaceae, Brassicaceae, Amaranthaceae, Chenopodiaceae y Cyperaceae. (Ferrera-Cerrato y Alarcón, 2007; Lambers *et al*, 2009).

## **1. 5 BIOCONTROL DE FITOPATÓGENOS DEL SUELO**

La biomasa del suelo consiste de una gran diversidad de micro y macroorganismos tales como hongos, bacterias, actinomicetos, virus, protozoarios, ácaros, nematodos, artrópodos, lumbrídeos, etc., los cuales juegan un papel crucial en los procesos dentro y fuera de este ecosistema, principalmente: intemperización y formación de suelos gracias a la descomposición y mineralización de residuos orgánicos e inorgánicos, formación de asociaciones con plantas superiores, incremento en la

capacidad de retención de agua mejorando la estructura del suelo, participación en importantes ciclos biogeoquímicos, etc. (Altieri, 1999; Buée *et al*, 2009; Hinsinger *et al*, 2009; Palm *et al*, 1996).

Dentro de las asociaciones con plantas superiores se les puede considerar como organismos saprobios, simbiotes, parásitos o patógenos, estos últimos causantes de muy diversas enfermedades en plantas cultivadas (Jauch, 1985). Dentro de estos organismos causantes de enfermedades destaca el grupo de los hongos, calculándose que más de 8, 000 distintas especies de ellos están relacionadas con enfermedades vegetales (Agrios, 2005).

Los hongos son especies aerobias y mesotermas, es decir requieren temperaturas entre los 20 y 25°C para un desarrollo óptimo, aunque pueden hacerlo desde rangos que van de los 10 a los 40°C. Son por lo común acidófilos aunque suelen tolerar pH de hasta 8.5 (Jauch, 1985).

Las especies de hongos que resultan ser fitopatógenos en ocasiones suelen comportarse como saprobios, comportamiento que forma parte de una estrategia de sobrevivencia la cual les permite crecer y desarrollarse en residuos vegetales hasta la infección de un nuevo hospedero; pero existen otros que carecen de esta fase saprobia, hecho que han logrado resolver ciertas especies produciendo estructuras latentes de sobrevivencia, mejor conocidas como estructuras de resistencia, que les permiten persistir dentro del suelo por varios años hasta la aparición de un hospedero susceptible que infectar. Estas estructuras pueden ser de tipo clamidosporas, esclerocios, microesclerocios, oosporas y rizomorfos (Trigiano *et al*, 2008).

Dentro de los hongos fitopatógenos sobresalen aquellas especies que son transmitidas por suelo llamadas patógenos vasculares, es decir aquellos que se caracterizan por interferir en la óptima absorción de agua y nutrientes en las plantas, estas deficiencias provocan marchitamientos y eventual desecamiento tisular, ocasionado por el bloqueo de los vasos xilemáticos (denominado como traqueomicosis) consecuencia de los metabolitos producidos por el patógeno; tapones pécticos, que corresponden a desechos o restos de la pared celular del hospedero degradada por el patógeno; o por tapones vasculares, constituidos por las estructuras del propio patógeno (hifas y esporas) (Jauch, 1985). Los representantes

más notables de este tipo de patógenos vasculares son especies de géneros tales como: *Verticillium spp.*, *Fusarium spp.*, *Phytophthora spp.*, *Sclerotinia spp.*, *Sclerotium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Rosellinia spp.*, *Pythium spp.*, *Cylindrocladium spp.*, *Hymenula spp.*, *Macrophomina spp.*, *Armillaria spp.*, *Thielaviopsis spp.*, etc. (Agrios, 2005; INECOL, 2011; Jauch, 1985; Trigiano *et al*, 2008).

Las enfermedades vasculares se consideran entre las enfermedades de las plantas más difíciles de controlar, es por ello que la mayoría de las investigaciones en control biológico de enfermedades ha sido enfocada primordialmente contra fitopatógenos del suelo y rara vez en enfermedades foliares y de poscosecha.

Así pues, el biocontrol de fitopatógenos del suelo radica principalmente en lo que se conoce como supresividad de suelos. La supresividad surge cuando existen las condiciones para que en un agroecosistema determinado exista una enfermedad con origen en el suelo, pero su incidencia y daños estén ausentes o su expresión sea mínima (conocido como potencial de enfermedad). Los suelos difieren en su potencial de enfermedad, y éste parece ser mayor en suelos recién abiertos a la actividad agrícola, ya que en general se admite que en los ecosistemas naturales diversificados que aún no han sido perturbados por la actividad humana, es normal encontrar suelos supresivos, pero el cambio de ecosistema natural a agroecosistema incrementa el potencial de enfermedad. Por lo que una vez que se ha reconocido un suelo supresivo es primordial conservar dicha condición o de lo contrario inducirla. Esto puede lograrse de manera directa, o sea, con la introducción de organismos antagónicos; o de forma indirecta, es decir mediante la manipulación del agroecosistema, por medio de la aplicación de materia orgánica, manejo de pH y control de la humedad en el suelo, manejo nutricional adecuado de la planta cultivada, rotación y asociación de cultivos, solarización, uso de variedades resistentes y biofumigación (en la que destaca el papel de compuestos del tipo isotiocianatos, característicos de la familia Brassicaceae, los cuales poseen potente actividad insecticida, antibiótica, alelopática y fungicida) (Agrios, 2005; Cook y Baker, 1983; Campbell, 1989; INECOL, 2011; Jauch, 1985; Nelson, 2004; Rodríguez y Arredondo, 2007; Trigiano *et al*, 2008).

### **1. 5. 1 Especies antagónicas de mayor uso**

El empleo de especies antagónicas para el control de hongos fitopatógenos de suelo es sumamente diversa, de amplio uso en distintas partes del mundo y en una gran variedad de plantas cultivadas. A continuación se presentan los casos de mayor éxito.

- *Aspergillus terreus*: Ha mostrado éxito en el control de *Verticillium albo-atrum* y *V. dhaliae* gracias a la producción de glucosa oxidasa y el ácido 2-metil-sórbico que inhiben el crecimiento y formación de microesclerocios (Naraghi *et al*, 2010).

- *Chaetomium spp.*: Ampliamente usado para el control de *Fusarium roseum* en maíz, *Helminthosporium victoriae* y *Fusarium nivale* en avena y *Venturia inaequalis* en manzanos. Su mecanismo principal es la producción del antibiótico cochliodinol (Agrios, 2005; Cook y Baker, 1983).

- *Coniothyrium minitans*: Su mecanismo de acción es por penetración y destrucción de esclerocios, por medio de ecto y exo- $\beta$ -1,3 glucanasas y quitinasas. Su uso ha sido principalmente probado en girasol y frijol contra *Sclerotinia sclerotiorum*, en trébol para *Sclerotinia trifoliorum*, en cebolla para *Sclerotium cepivorum* y otros patógenos como *Botrytis cinerea*, *B. fabae*, *B. narcissicola*, *Claviceps purpurea* y *Sclerotinia minor* (Agrios, 2005; Alabouvette *et al*, 2009; Brimner y Boland, 2003; Cook y Baker, 1983).

- *Gliocladium spp.*: Especie que puede actuar tanto de forma directa por medio de la penetración de células del patógeno, así como por la acción de antibióticos y otros metabolitos. Su aplicación ha sido efectiva contra una gran variedad de hongos, algunos de ellos: *Botrytis allii*, *Botrytis cinérea*, *Ceratocystis fimbriata*, *Fusarium spp*, *Helminthosporium sativum*, *Phomopsis sclerotioides*, *Phytophthora megasperma var. sojae*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Thamnidium elegans* y *Trichothecium roseum* (Brimner y Boland, 2003; Cook y Baker, 1983).

- *Glomus spp.*: Es un hongo micorrízico vesículo-arbuscular el cual puede proveer un control biológico indirecto aumentando la resistencia de la planta hospedera, aunque también puede hacerlo por la secreción de antibióticos por ello su uso suele ser muy generalizado.

- *Leucopaxillus cerealis*: Es un hongo ectomicorrízico que protege las plántulas de *Pinus echinata* contra infecciones ocasionadas por *Phytophthora cinnamomi*, creando una barrera física además de la secreción del antibiótico diatretina que inhibe la germinación de zoosporas.
- *Penicillium spp.*: Útil en el control de *Aphanomyces spp.*, *Fusarium spp.*, *Phomopsis sclerotioides*, *Pythium spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Sclerotium cepivorum* y *Verticillium albo-atrum* (Cook y Baker, 1983).
- *Peniophora gigantea*: Comúnmente utilizado para inocular tocones y protegerlos del ataque por *Heterobasidion annosum* (Brown y Beringer, 1983; Cook y Baker, 1983).
- *Pisolithus tinctorius*: Ectomicorriza común en la protección de varias especies de pinos contra *Phytophthora cinnamomi* debido a la producción de sideróforos (Cook y Baker, 1983; Issac, 1992).
- *Pythium oligandrum*: Su mecanismo de acción es principalmente por micoparásitismo y por la producción del antibiótico oligandrina. Las especies *Botryotrichum piluliferum*, *Fusarium nivale*, *Penicillium albidum*, *Phialophora malorum*, *P. radícicola*, y *Psalliota spp.* son altamente susceptibles a este hongo. *Acremonium apii*, *A. strictum*, *Arthrobotrys superba* *Botrytis cinerea*, *F. oxysporum f. sp. radícis-lycopersici*, *Fusarium roseum f. sp. cerealis*, *Gaeumannomyces graminis var. tritici*, *Humicola fusco-atra*, *Paecilomyces spp.*, *Phialophora graminicola*, *Phytophthora parasitica*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani*, *Scopulariopsis brevicaulis* y *Verticillium albo-atrum* son moderadamente susceptibles (Brimner y Boland, 2003; Cook y Baker, 1983).
- *Sporidesmium sclerotivorum*: Micoparásito que invade esclerocios de *Botrytis cinérea*, *Sclerotinia minor*, *S. sclerotiorum*, *S. trifoliorum* y *Sclerotium cepivorum* (Alabouvette et al, 2009; Cook y Baker, 1983).

El empleo de agentes de control biológico puede ser muy diverso y en ocasiones muy específico, sin embargo, una de las especies que parece ser siempre

protagonista en el control biológico de fitopatógenos son las especies del género *Trichoderma spp.*

El potencial de estas especies como agentes de control biológico, fue de las primeras reconocidas durante la década de 1930. Su éxito radica en que cuentan no sólo con uno, sino varios mecanismos de acción que en conjunto le brindan la facilidad de parasitar exitosamente un amplio rango de hospederos y no sólo a nivel rizosfera, sino también espermosfera y filosfera. Así la producción de antibióticos (6-pentil- $\alpha$ -pirona, suzukacilina, alameticina, trichotecenos, gliovirina, gliotoxina, viridina, trichodermina y dermadina), enzimas líticas, compuestos ácidos orgánicos (ácido harzianico, heptedílico, glucónico, fumarico cítrico y furanona) y otros metabolitos (terpenoides, peptaiboles, glisoprenina, tricholina y pachibasin); la capacidad de adherencia y enrollamiento sobre las hifas del hospedero, la competencia por espacio y nutrientes, además de la inducción de resistencia en las especies vegetales son ejemplo de ello (Benítez *et al*, 2004; Donoso *et al*, 2008; Mukherjee *et al*, 2008; Ochoa, 2002; Ochoa, 2008; Suárez *et al*, 2008).

Las especies del género *Trichoderma spp.*, son especies cosmopolitas, comunes en suelo, con una gran capacidad para tolerar condiciones de estrés lo que les permite colonizar diferentes nichos (Mukherjee *et al*, 2008). Habitan en suelos con altos contenidos de materia orgánica, prefiriendo aquellos con elevadas cantidades de sustancias lignocelulósicas tales como corteza de árboles (Hoitink y Boehm, 2001). Según la especie de que se trate, algunas exigencias ambientales suelen ser un tanto específicas, pero puede decirse a grandes rasgos, que el rango de pH puede ir de 2.0-9.0, encontrándose el óptimo entre 4.0-7.0; tolera temperaturas de 10°C a 40°C, hallándose la óptima a los 25°C (Cruz, 2007).

Algunas especies suelen mostrarse tolerantes al uso de insecticidas, herbicidas y fungicidas tales como thiram, metalaxil, bromuro de metilo, captan, benzimidazol, buprofezin, triadimefon, carbofos, bifentrina, triadimenol y permetrina (Benítez *et al*, 2004; Kolombet *et al*, 2001).

Destaca su uso contra un gran número de especies fitopatógenas como: *Armillaria mellea*, *Chandrostereum purpureum*, *Fusarium spp.*, *Heterobasidion annosum*



*Phytophthora spp.*, *Pythium spp.*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Verticillium spp.*, etc, por mencionar algunas.

Como puede observarse la información generada en el área de control biológico de fitopatógenos de suelo es numerosa, aún así, la mayoría de estas bastas experiencias suelen quedarse en una fase experimental en condiciones de laboratorio teniendo poco o ningún acceso para los productores, es por ello importante que aunado a cualquier investigación proceda la transferencia de dicha tecnología para ser probada en condiciones de campo, lo cual, no sólo permitiría visualizar la eficacia de los agentes de control biológico en condiciones reales sino también despertar el interés de los agricultores por dichas alternativas en el control de enfermedades adoptándolas y difundiendo su uso.

## II. METODOLOGÍA

### 2. 1 UBICACIÓN Y DESCRIPCIÓN DEL ÁREA DE ESTUDIO

Las muestras de suelo a analizar se obtuvieron de la localidad denominada El Salto, situado aproximadamente a 22 km de la capital de Fresnillo en el estado de Zacatecas (Imagen 1). El Salto se ubica a una altitud de 2, 083 msnm, con las coordenadas geográficas 103° 03' 59.76" longitud oeste y 23° 11' 47.26" latitud norte (*Google earth*).

De acuerdo a los registros del tiempo basados en las normales climatológicas de la estación meteorológica más cercana a la localidad de el Salto, denominada El Sauz y la cual se ubica en las coordenadas 103° 14' 00" longitud oeste y 23° 11' 00" latitud norte, a una distancia aproximada de 16.84 km de la localidad, fue como se consideró que el comportamiento de los elementos climáticos fuese muy similar entre ambas regiones. Así se determinó que la temperatura media anual es de 16.1° C, la mínima anual de 6.5° C, con el mes más frío en enero y la temperatura máxima anual de 25.8° C, siendo mayo considerado el mes más cálido (*ver Anexos*). Su precipitación anual se calcula en aproximadamente 412.1 mm con julio y agosto como los meses con mayor lluvia. En general su clima puede decirse que es del tipo semicálido semiseco (SMN, 2011).

**Imagen 1. Ubicación del area de estudio**



El Salto pertenece a la Región Hidrológica Nazas-Aguanaval, de la cual su principal fuente de agua es el río del mismo nombre.

Los tipos de suelo más comunes son: xerosol, castañozem, feozem y regosol.

Según observaciones y pláticas con productores del lugar, los principales cultivos dentro de la localidad El Salto son: el chile de diversas variedades (principalmente guajillo) tanto para producción en verde como en seco; y fuera del ciclo del chile suelen aprovecharse las tierras para la producción de frijol, alfalfa, maíz, avena forrajera, papa, cebolla, tomate, pepino y repollo. Entre los cultivos perennes se tiene la vid.

## 2. 2 TOMA DE MUESTRAS DE SUELO

Las muestras se obtuvieron de cuatro predios distintos, como se aprecia en la Fotografía 1. Tres de ellos son suelos donde el cultivo de plantas de chile ha mostrado los síntomas característicos de la enfermedad conocida como “secadera”, es decir, son suelos con propabilidad de infestación. La muestra restante es de un predio sin problemas de “secadera”, es decir, se trata de un suelo no infestado. Cada muestra fue numerada y registrada bajo un formato especial que nos indica lugar, georeferenciación, fecha y los antecedentes del lugar. Todas las muestras se tomaron a una profundidad de 20 cm. (ver Anexos)

### Fotografía 1. Ubicación de parcelas muestreadas



## 2. 3 MEDIOS DE CULTIVO

De acuerdo a la descripción de síntomas provocados en el hospedero, es común pensar en probables patógenos causantes de pudriciones radicales y daño vascular, ejemplos de ello, corresponden al complejo formado por especies de: *Phytophthora spp.*, *Rhizoctonia spp.*, *Fusarium spp.* y *Verticillium spp.*, especies para las cuales se elaboraron medios de cultivo específicos, con la finalidad de facilitar su aislamiento de las muestras de suelo, de ser que estuviesen presentes. En fuentes bibliográficas, se hallaron alrededor de 35 tipos diferentes de medios de cultivo para dichas especies, de los cuales se realizó la selección de únicamente 3 medios, principalmente con base en los insumos disponibles en el laboratorio (Dhingra y Sinclair, 1985). Los medios utilizados fueron los siguientes:

- **PDA (papa-dextrosa-agar)**

Materiales		Equipo
PDA (fórmula comercial)	39 g	Campana de flujo laminar
Agua destilada	1000 ml	Báscula analítica
Cloranfenicol	2 ml	Mechero Bunsen
Matraz		Micropipeta
Cajas Petri desechables		Autoclave
Papel aluminio		

*Procedimiento:* Una vez pesada la fórmula de PDA, se agregó al matraz que contenía los 1000 ml de agua destilada y se calentó hasta diluir. Finalmente se añadió el antibiótico cloranfenicol [200 µg/ml] y se cubrió con papel aluminio.

- **KERR'S (modificado)**

Materiales		Equipo
NaNO <sub>3</sub>	2 g	Campana de flujo laminar
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	1 g	Báscula analítica
KCl	0.5 g	Mechero Bunsen
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	0.5 g	Autoclave
FeSO <sub>4</sub>	0.010 g	Micropipeta
Sacarosa	30 g	
Extracto de levadura	0.5 g	
Agar bacteriológico	15 g	
Rosa de bengala	60 mg	
Agua destilada	1000 m	
Cloranfenicol	2 ml	
Matraz		
Cajas Petri desechables		
Papel aluminio		

*Procedimiento:* Al matraz con agua destilada se agregaron cada uno de los compuestos previamente pesados, se calentó hasta incorporarlos, finalmente se agregó el antibiótico y se tapó con papel aluminio.

La modificación del medio Kerr's, se refiere al tipo de antibiótico utilizado, ya que el original consiste de estreptomina y el aquí usado para todos los medios fue cloranfenicol [200 µg/ml], que resulta ser más conveniente, ya que es un antibiótico de amplio espectro y mucho más resistente a las temperaturas de esterilización, a diferencia de la estreptomina.

- **V8A (jugo ocho verduras-agar)**

<b>Materiales</b>		<b>Equipo</b>
Jugo V8 centrifugado	100 ml	Campana de flujo laminar
CaCO <sub>3</sub>	2 g	Centrifuga
Agar bacteriológico	15 g	Báscula analítica
Agua destilada	900 ml	Agitador vortex
Cloranfenicol	2 ml	Mechero Bunsen
Probeta graduada de 100 ml		Micropipeta
Tubos Falcón		Autoclave
Matraz		
Cajas Petri desechables		
Papel aluminio		

*Procedimiento:* En los tubos Falcón se colocó jugo V8 al cual se agregó carbonato de calcio (CaCO<sub>3</sub>) y se agitó hasta disolver. Una vez disuelto, se dejó reposar durante 10 minutos y se centrifugó para clarificar durante 20 minutos a 3, 000 rpm. Se decantó y acumuló el líquido resultante sin sólidos hasta completar 100 ml, los cuales se agregaron a la solución previamente hecha de agar-agua destilada, para así obtener 1 litro total de medio. Finalmente se añadió el antibiótico cloranfenicol [200 µg/ml] y se cubrió con papel aluminio.

- **Agua- Agar (AA)**

<b>Materiales</b>		<b>Equipo</b>
Agar bacteriológico	15 g	Campana de flujo laminar
Agua destilada	1000 ml	Báscula analítica
Cloranfenicol	2 ml	Mechero Bunsen
Matraz		Micropipeta
Cajas Petri desechables		Autoclave
Papel aluminio		

*Procedimiento:* Dentro del matraz con agua destilada se colocó el agar bacteriológico previamente pesado, se calentó y agitó hasta disolver, una vez

incorporado se adicionó el antibiótico cloranfenicol [200 µg/ml] y se tapó con papel aluminio.

Todos los medios fueron esterilizados en autoclave a 1.5 kg/cm<sup>3</sup> durante un tiempo aproximado de 15-20 minutos (Gilchrist *et al*, 2005).

El vaciado de los medios se realizó dentro de la campana de flujo laminar, tanto en cajas de Petri, como en cajas para cepa pura, ambas desechables. Una vez solidificado el medio dentro de las cajas Petri, se formaron pilas para envolverlas con papel aluminio y ser conservadas en refrigeración a 3°C hasta el momento de ser utilizadas.

## 2. 4 AISLAMIENTO

### 2. 4. 1 Dilución en serie (Dhingra y Sinclair, 1985; Trigiano *et al*, 2008)

Para poder ser estudiados los microorganismos que habitan los suelos en estudio es necesario aislarlos directamente de este medio, para lo cual resultó conveniente el uso de la técnica de dilución en serie.

Esta técnica nos permite visualizar fácilmente la diversidad de microorganismos presentes en un suelo, lo que brinda la oportunidad de reconocer no sólo a especies fitopatógenas, sino también, a otros saprobios, de entre los cuales pueden resultar especies con cualidades antagónicas. Al mismo tiempo es posible cuantificar los individuos de una especie, reflejando así el tamaño y persistencia de ciertas poblaciones.

Materiales		Equipo
Suelo	1 g	Campana de flujo laminar
Agua destilada estéril	54 ml	Báscula analítica
Gradilla		Agitador vortex
6 tubos de ensayo		Mechero Bunsen
6 cajas Petri con medios específicos		Micropipeta
6 tapones para tubo de ensayo		Cronómetro
5 puntas para micropipeta		

*Procedimiento:* Una vez que la campana de flujo laminar fue previamente desinfectada, se trasladó todo el material limpio y estéril. El mechero se ubicó dentro de un radio no mayor de 30 cm al área de trabajo. Se colocaron los 6 tubos de ensayo en la gradilla y se agregaron 9 ml de agua destilada estéril a cada tubo. Se peso 1 g de la muestra de suelo a ser analizado y se añadió al primer tubo, se tapó y

agitó por 3 minutos, luego se dejó reposar durante un período de 5 minutos y con ayuda de la micropipeta se tomó 1 ml de la disolución para transferirlo al segundo tubo. La operación de agitación y reposo se repitió y nuevamente se tomó 1 ml del segundo tubo para transferirlo al tercer tubo. Esta operación prosiguió hasta finalizar con los tubos restantes, sin olvidar cambiar la punta de la micropipeta por una nueva para cada transferencia.

De forma simultánea cuando se extrajo 1 ml para transferirlo a un siguiente tubo, se tomaron 0.5 ml más de cada tubo, cantidad que fue colocada en las cajas Petri que contenían los medios de cultivo específico que anteriormente fueron elaborados.

Esta cantidad fue distribuida uniformemente de modo que se humedeciera toda la superficie de la caja.

Se realizó una dilución para cada medio de cultivo, es decir un total de 3 diluciones obteniendo 6 cajas Petri por dilución, dando como resultado un total de 18 cajas por muestra de suelo. Las cuales se mantuvieron en incubación a una temperatura de 22°C y bajo observación las 24 horas hasta la obtención de resultados.

#### **2. 4. 2 Aislamiento por semilla** (Dhingra y Sinclair, 1985; Trigiano *et al*, 2008)

Dado que una gran variedad de organismos patógenos utilizan las semillas de las plantas que han invadido como estrategia de dispersión; se llevó a cabo el aislamiento de hongos a partir de semillas de chile guajillo colectadas de las plantaciones enfermas que precedieron en los suelos de estudio.

<b>Material</b>	<b>Equipo</b>
Semillas	Campana de flujo laminar
Agua destilada estéril	Agitador vortex
Hipoclorito de sodio	Mechero Bunsen
Frascos	Cronómetro
Probeta	
Pinzas	
12 cajas Petri con medios específicos	

*Procedimiento:* Se comenzó por hacer 12 grupos de 100 semillas cada uno.

Cada grupo de semillas fue colocado dentro de frascos que contenían una solución de hipoclorito de sodio al 20% y se agitaron de acuerdo al tiempo de exposición

deseado para cada frasco; para este trabajo se utilizaron tiempos de exposición de 30, 60, 90 y 120 segundos.

Para finalizar el contenido de cada frasco fue enjuagado perfectamente con agua destilada estéril y dentro de la campana de flujo laminar las semillas fueron trasladadas a las cajas Petri correspondientes con los tres medios de cultivo específicos e incubadas a 22°C.

## 2. 5 CEPA PURA (Gilchrist *et al*, 2005)

La técnica de cepa pura se refiere a la separación de cada una de las cepas obtenidas en los diferentes tipos de aislamientos con el fin de que se desarrollen por separado y libres de cualquier contaminante para lograr así, un microcultivo exitoso y por consiguiente su identificación.

Material	Equipo
Pinzas	Campana de flujo laminar
Aguja de disección	Mechero Bunsen
Cajas de cepa pura con medio	
Alcohol	
Papel filtro	
Papel parafilm	

*Procedimiento:* Con la ayuda de una aguja de disección bien desinfectada se tomó una porción pequeña de las estructuras visibles del hongo, las cuales fueron colocadas dentro de una caja de cepa pura con medio de cultivo, ahí mismo se añadieron tiras de papel filtro estériles rodeando todos los puntos de crecimiento de la especie esperando que ésta invadiera las tiras de papel para su posterior conservación.

## 2. 6 IDENTIFICACIÓN

### 2. 6. 1 Microcultivo

La técnica de microcultivo, es una técnica que nos permite observar las distintas fases de desarrollo de una especie, ayudando a visualizar con gran detalle y con la menor alteración cada una de las estructuras esenciales para su identificación.



<b>Materiales</b>	<b>Equipo</b>
Cajas Petri de cristal	Campana de flujo laminar
Triángulos de cristal	Mechero Bunsen
Portaobjetos	Micropipeta
Cubreobjetos	Autoclave
Agujas de disección	
Bisturí	
Pinzas	
Papel parafilm	
Alcohol	
Agua destilada estéril	
Papel filtro	

*Procedimiento:* Inicialmente se prepararon las cámaras de microcultivo, las cuales se armaron colocando dentro de la caja Petri un disco de papel filtro del tamaño de la caja como base, sobre él se colocó un triángulo de cristal de laboratorio (esto con la finalidad de evitar que el portaobjetos quedara en contacto directo sobre el papel filtro), enseguida se sobrepusó un portaobjetos con su respectivo cubreobjetos. Por último se cerraron y formaron pilas de cinco cajas que fueron envueltas en papel periódico para poder llevar a esterilizar.

Una vez listas las cámaras de microcultivo y dentro de la campana de flujo laminar se tomó un cuadro de 1 cm<sup>2</sup> aproximadamente, del medio de cultivo en que se obtuvo la especie y en el cual se ha estado trabajando, y se colocó sobre el portaobjetos, luego con la aguja de disección perfectamente desinfectada se tomó una muestra del hongo esporulado, a partir de la cepa pura ya obtenida y se rodeó con estas estructuras toda la periferia del cuadro de medio de cultivo que fue colocado previamente sobre el portaobjetos, cuidadosamente y con ayuda de unas pinzas se colocó el cubreobjetos sobre el cuadro de medio de cultivo, finalmente se agregó de manera uniforme 1 ml de agua destilada estéril sobre la superficie del papel filtro. Finalmente las cajas se sellaron con papel parafilm e incubaron a 22°C. Esta operación se repitió 4 veces para una sola especie, obteniendo así una serie de observación de 24, 48, 72 y 96 horas. La técnica de microcultivo se llevó a cabo para cada una de las especies aisladas.

### **2. 6. 2 Preparaciones permanentes** (Gilchrist *et al*, 2005)

La elaboración de preparaciones permanentes permite conservar las estructuras de los diferentes estados de desarrollo de la especie sin alteraciones por tiempo

indefinido y con la finalidad de que puedan ser utilizadas para posteriores observaciones.

<b>Materiales</b>	<b>Equipo</b>
Cubreobjetos	Campana de flujo laminar
Portaobjetos	Mechero Bunsen
Azul de lactofenol	
Barniz de uñas	
Alcohol	
Bisturí	

*Procedimiento:* Las laminillas para preparaciones permanentes resultan de las cámaras de microcultivo al ser detenidas cada 24 horas. El primer paso fue separar el cubreobjetos que se encontraba sobrepuesto sobre el cuadro de medio de cultivo, y con un bisturí previamente desinfectado se retiró dicho cuadro de medio, enseguida se colocó una gota de azul de lactofenol sobre el portaobjetos libre y se cubrió con un cubreobjetos limpio; para el caso del cubreobjetos que fue retirado al inicio, éste se sobrepuso en un portaobjetos limpio con una gota de azul de lactofenol. Finalmente se selló cada una de las laminillas obtenidas con barniz transparente aplicando sobre todo el perímetro del cubreobjetos.

### **2. 6. 3 Descripción morfológica**

Finalmente con las preparaciones permanentes elaboradas para cada especie y con ayuda del microscopio compuesto con cámara digital integrada, se hizo la observación y captura de micrográficas de todas y cada una de las laminillas de observación; se describieron y midieron todas las estructuras observadas, con la finalidad de facilitar el uso de las claves morfológicas logrando así la identificación de las especies.

Una vez identificada cada una de las especies se procedió a la elaboración de su ficha electrónica morfológica, donde se especifica su nombre científico, taxonomía, características morfológicas, la clave usada para su identificación, la descripción del género y de la especie en particular, así como la descripción de la colonia, la técnica por la cual se logró su aislamiento y la temperatura y el medio de cultivo en que se mantuvieron.

Dada la gran cantidad de especies aisladas y por consiguiente de fichas electrónicas generadas, resulta desmesurado integrarlas dentro de este trabajo, aún así, todas

ellas pueden ser consultadas en la siguiente dirección electrónica:  
<http://www.agricolaunam.org.mx/>

Un ejemplo de estas fichas electrónicas se muestra posteriormente. (*ver Anexos*)

## 2. 7 CONSERVACIÓN DE MATERIAL BIOLÓGICO (Fernández *et al*, 2004).

Por medio de esta técnica puede conservarse la cepa de una especie por largos períodos y en un espacio reducido, así de requerirse para futuros trabajos sólo es necesario reactivar la cepa sobre un medio de cultivo nuevo, lo que evita repetir el largo proceso de aislamiento.

Material	Equipo
Tubos viales	Campana de flujo laminar
Pinzas	Mechero bunsen
Alcohol	

*Procedimiento:* Al realizar las cajas de cepa pura fueron colocadas tiras de papel filtro estériles, las cuales quedaron invadidas con las estructuras del hongo conforme éste se desarrollo. Una vez cubiertas las tiras de papel filtro por el hongo, con la ayuda de unas pinzas previamente desinfectadas fueron retiradas las tiras de papel y colocadas en tubos viales, los cuales se etiquetaron con el nombre científico de la especie, el medio de cultivo donde se obtuvo y la fecha. Son conservados en refrigeración a 3°C.

## 2. 8 PRUEBAS ANTAGÓNICAS EN CULTIVO DUAL (Centro de Educacion y Tecnología, 2004)

Para las pruebas antagónicas en cultivo dual se utilizaron cajas Petri desechables con medio de cultivo PDA (papa-dextrosa-agar), y las cepas puras de los potenciales agentes antagónicos seleccionados, así como del/los agentes fitopatógenos.

De las cepas puras de cada una de las especies antagónicas se tomó un cuadro de 1 cm<sup>2</sup> y se colocó dentro de uno de los extremos de la caja Petri, opuesto a éste y de forma equidistante se colocó un cuadro del mismo tamaño pero de la especie fitopatógena correspondiente. Se realizó duplicado de cada una de las cajas duales.

Se manejaron 4 diferentes temperaturas de incubación: 7, 16, 25, y 30°C; las tres primeras corresponden a las temperaturas mínima, media y máxima promedio que registra la estación meteorológica El Sauz. La última temperatura se agregó con la finalidad de observar el comportamiento de las especies considerando que en la mayoría de los hongos su crecimiento se ve limitado a partir de esta temperatura. Las observaciones fueron hechas a los 7 y 10 días posteriores a su realización, utilizando como criterio de evaluación la escala de clases de Bell *et al*, 1982, misma que puede observarse en la Tabla 6.

**Tabla 6. Escala de clases para evaluar el grado de antagonismo de una especie**

<b>Clase 1</b>	El agente de control biológico crece completamente sobre la colonia del patógeno y cubre toda la superficie del medio de cultivo.
<b>Clase 2</b>	El agente de control biológico crece al menos sobre dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.
<b>Clase 3</b>	El agente de control biológico y el patógeno cubren aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo.
<b>Clase 4</b>	El patógeno crece al menos en las dos terceras partes del medio de cultivo limitando el crecimiento del agente de control biológico.
<b>Clase 5</b>	El patógeno crece sobre la colonia del agente de control biológico ocupando toda la superficie del medio de cultivo.

**Fuente:** Bell *et al*, 1982.

### III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 AISLAMIENTOS

Una vez hechos los aislamientos e incubados a una temperatura de 22°C la toma de datos fue realizada cada 24 horas. Haciéndose el conteo de las unidades formadoras de colonia (UFC) para cada dilución (1:10, 1:100, 1:1000, 1:10 000, 1:100 000, 1:1 000 000) y medio de cultivo utilizado.

Los suelos 1, 2 y 3 son muestras de suelos con problemas de “secadera”, a diferencia del suelo 4 que es una muestra de un suelo no infestado.

En los aislamientos realizados para cada una de las muestras de suelo fue fácilmente observable una diferencia en número y diversidad de especies fungosas a lo largo del período de evaluación de 72 horas; así se encontró, que los suelos 1, 2 y 3 presentaron al concluir la evaluación un total de 63, 79 y 135 UFC en medio Kerr's y 58, 91 y 174 UFC en medio V8 respectivamente (Tablas 7, 8 y 9), resultando menos diversos que la muestra 4 que resultó dos veces mayor en comparación al suelo 1 y 2 en la formación de colonias, con 171 UFC en medio Kerr's y 195 UFC en medio V8 (Tabla 10).

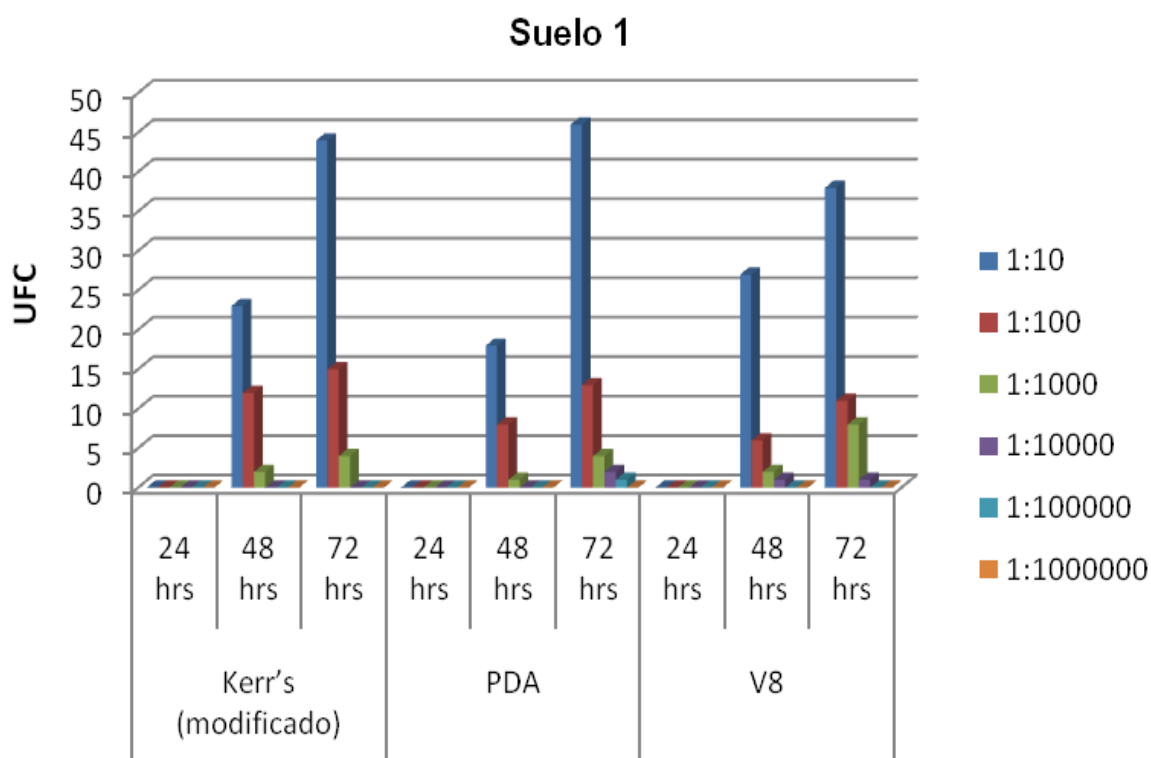
Es interesante resaltar que a pesar de ser todos suelos de agroecosistemas abiertos a las actividades agrícolas por más de 30 años, las diferencias en diversidad son notables lo que puede deberse quizá a que en los tres primeros suelos la alta densidad en la población de la especie patógena, que apareció de forma reiterada en dichas muestras y la cual fue determinada como *Fusarium oxysporum* (ver pag. 54) podría estar interfiriendo en el establecimiento de nuevas especies y/o limitar el desarrollo de las ya existentes, como resultado de una fuerte competencia principalmente por espacio y nutrientes. Aunado a ello, se ha mostrado la producción de ácido fusárico y ácido piridina-carboxylasa, en especies de *Fusarium oxysporum* con importante actividad fito y micotóxica, las cuales podrían también estar fuertemente relacionadas a dicha circunstancia (Duffy *et al*, 2003).

En las Tablas 7 y 8 de los suelos 1 y 2, indican que no hubo presencia de ninguna colonia a las 24 horas en ningún medio de cultivo, probablemente porque se trate en

su mayoría de especies que requieran mayor tiempo para la germinación y desarrollo de estructuras somáticas, o simplemente el cambio a las condiciones de laboratorio no fueron completamente favorables para su desarrollo. Los Gráficos 1 y 2 exponen con mayor claridad esta situación, a su vez pueden compararse con los Gráficos 3 y 4 que mostraron un comportamiento un tanto distinto.

**Tabla 7. Unidades Formadoras de Colonia en el suelo 1**

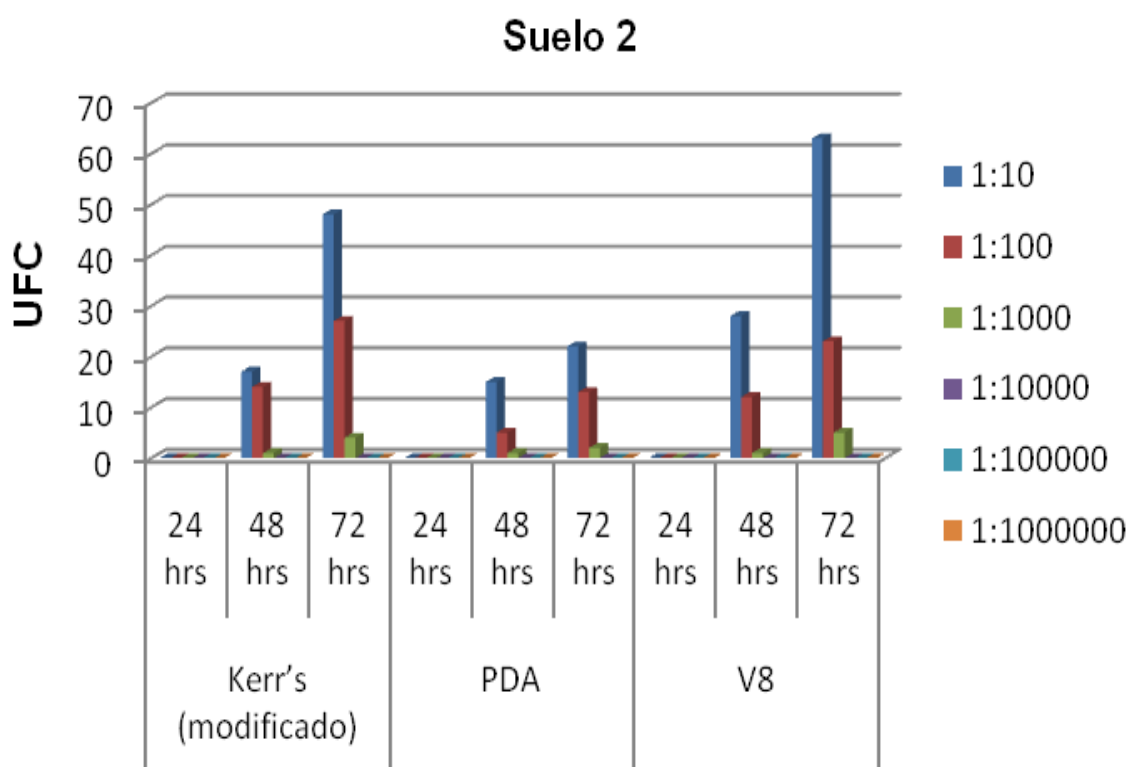
Unidades Formadoras de Colonia (UFC) Suelo 1									
	Kerr's (modificado)			PDA			V8		
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs
<b>1:10</b>	0	23	44	0	18	46	0	27	38
<b>1:100</b>	0	12	15	0	8	13	0	6	11
<b>1:1000</b>	0	2	4	0	1	4	0	2	8
<b>1:10000</b>	0	0	0	0	0	2	0	1	1
<b>1:100000</b>	0	0	0	0	0	1	0	0	0
<b>1:1000000</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0



**Gráfico 1.** Muestra las unidades formadoras de colonia (UFC) de la dilución en serie del suelo 1, en tres medios de cultivo y tiempos de observación distintos. Puede notarse que a las 72 hrs. la dilución 1: 10 alcanzó el mayor número de colonias en medio PDA.

**Tabla 8. Unidades Formadoras de Colonia en el suelo 2**

Unidades Formadoras de Colonia (UFC) Suelo 2									
	Kerr's (modificado)			PDA			V8		
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs
<b>1:10</b>	0	17	48	0	15	22	0	28	63
<b>1:100</b>	0	14	27	0	5	13	0	12	23
<b>1:1000</b>	0	1	4	0	1	2	0	1	5
<b>1:10000</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>1:100000</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>1:1000000</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0

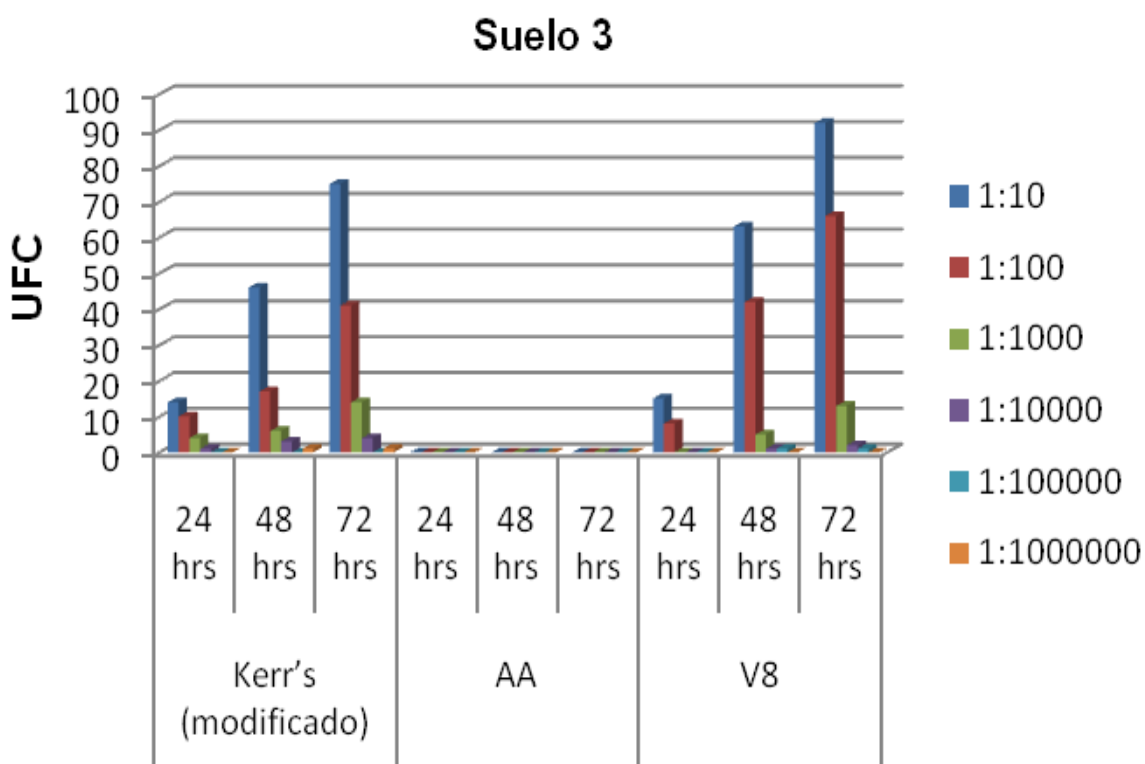


**Grafico 2.** Muestra el número de colonias obtenidas de la dilución en serie del suelo 2, en tres medios de cultivo y tiempos de observación diferentes. Donde destaca la dilución 1:10 como la más diversa en medio V8.

En el medio de cultivo de agua-agar del suelo 3 no hubo presencia de ninguna colonia durante el tiempo de evaluación (Tabla 9) y para el suelo 4 sólo mostró un total de 15 UFC en un período de 72 horas (Tabla 10), por lo que este medio de cultivo mostró ser el menos conveniente y nutritivo para el aislamiento de hongos en los suelos de estudio.

**Tabla 9. Unidades Formadoras de Colonia en el suelo 3**

Unidades Formadoras de Colonia (UFC) Suelo 3									
	Kerr's (modificado)			AA			V8		
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs
<b>1:10</b>	14	46	75	0	0	0	15	63	92
<b>1:100</b>	10	17	41	0	0	0	8	42	66
<b>1:1000</b>	4	6	14	0	0	0	0	5	13
<b>1:10000</b>	1	3	4	0	0	0	0	1	2
<b>1:100000</b>	0	0	0	0	0	0	0	1	1
<b>1:1000000</b>	0	1	1	0	0	0	0	0	0

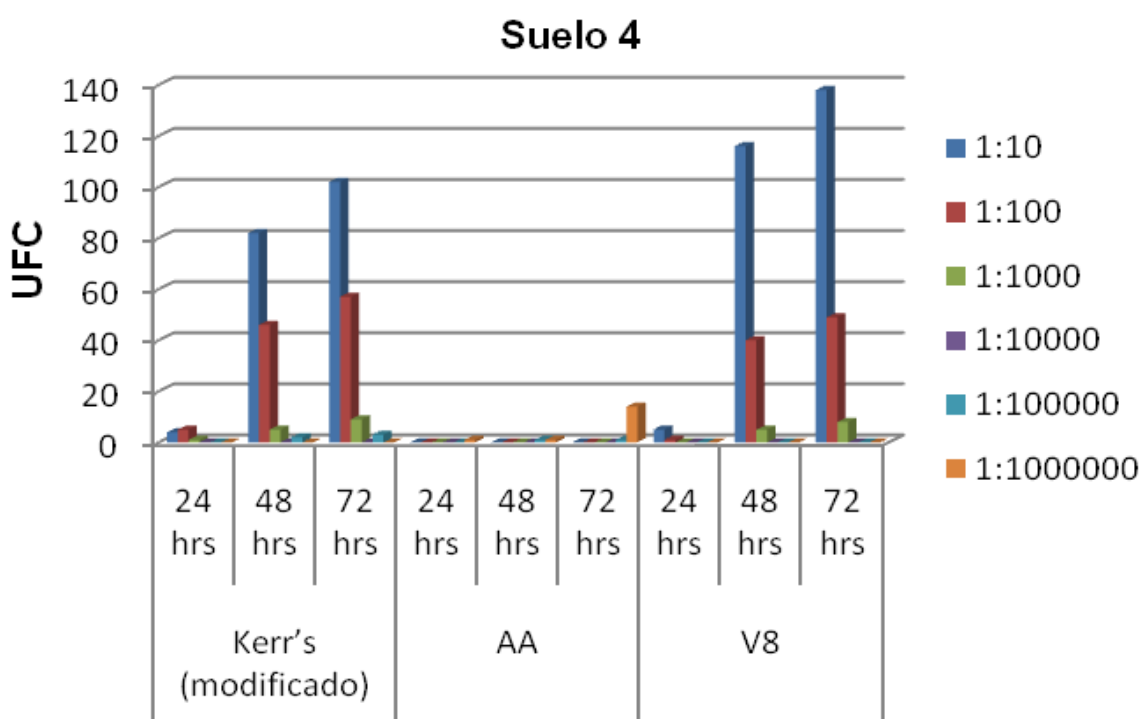


**Gráfico 3.** Presenta la cantidad de colonias formadas en la dilución en serie del suelo 3. Observándose lo poco útil que resultó el medio de cultivo agua-agar para el aislamiento.



**Tabla 10. Unidades Formadoras de Colonia en el suelo 4**

Unidades Formadoras de Colonia (UFC) Suelo 4									
	Kerr's (modificado)			AA			V8		
	24 hrs	48 hrs	72 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs	24 hrs	48 hrs	72 hrs
<b>1:10</b>	4	82	102	0	0	0	5	116	138
<b>1:100</b>	5	46	57	0	0	0	1	40	49
<b>1:1000</b>	1	5	9	0	0	0	0	5	8
<b>1:10000</b>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<b>1:100000</b>	0	2	3	0	1	1	0	0	0
<b>1:1000000</b>	0	0	0	1	1	14	0	0	0



**Grafico 4.** Muestra el número de unidades formadoras de colonias obtenidas en la dilución en serie del suelo 4, en tres medios de cultivo y tiempos de evaluación distintos. Reflejando una gran diversidad fungosa en comparación con los otros suelos.

Comparando los tres medios de cultivo restantes (Kerr's, PDA y V8), para los cuatro suelos analizados, se observó que el medio V8 destacó, exhibiendo el mayor número de UFC, seguido del medio PDA. Por lo que puede decirse que el medio V8, resultó ser el medio enriquecido idóneo para el aislamiento de hongos en estos suelos.

Finalmente de todos los aislamientos elaborados, fuesen a partir de suelo o semilla, se logró recopilar poco más de 40 especies diferentes, seleccionando aquellas que

mostraron ser mucho más frecuentes y con mayor número de UFC. Cada una de las especies fue identificada y posteriormente elaborada su ficha electrónica morfológica para poder ser ingresada a la colección fitopatológica de la FES Cuautitlán. Entre los géneros más comunes destacaron: *Alternaria ssp.*, *Aspergillus spp.*, *Rhizopus spp.*, *Cladosporium ssp.*, *Penicillium spp.*, *Mucor spp.*, *Fusarium spp.*, *Bipolaris spp.*, *Drechslera spp.*, *Chaetomium spp.*, *Gliocladium spp.*, *Trichoderma spp.*, *Verticillium spp.*, *Epicoccum spp.*, *Ulocladium spp.*, etc.

De forma general y para todas las especies se inició con la identificación de género, con el apoyo de las claves de género para el grupo de hongos imperfectos o *Deuteromycetes*, elaboradas por Kiffer y Morelet (2000) y Barnett y Hunter (1987). Claves que funcionan a partir de la descripción del proceso de conidiogénesis (proceso que se refiere a la producción de esporas mitóticas o conidias a partir de una hifa especializada llamada conidióforo) característico de la reproducción asexual de este grupo de hongos. Estas claves emplean básicamente parámetros como la ontogenia de las esporas, su pigmentación, forma y septación, así como el modo de agrupamiento del aparato conidial. Conjuntamente y con la finalidad de contar con un mayor número de referencias que redujeran la probabilidad de desacierto, fue consultado el Atlas Ilustrado de Hongos de Semilla y Suelo, de Watanabe (2002).

Una vez determinado el género, se procedió al uso de claves específicas para lograr la identificación hasta especie.

Para la definición de términos especializados que permitieran el manejo adecuado de todas las claves consultadas se recurrió al Diccionario Ilustrado de Micología, de Ulloa y Hanlin (2006).

### 3. 2 RECONOCIMIENTO DE ESPECIES FITOPATÓGENAS

#### 3. 2. 1 *Fusarium equiseti* (Corda) Sacc. Sensu Gordon

Teleomorfo: *Gibberella intricans* Wollenw

- **Taxonomía** (NCBI, 2011)

Super Reino: *Eukaryota*

Reino: *Fungi*

Subreino: *Dikarya*

División: *Ascomycota*

Subdivisión: *Pezizomycotina*

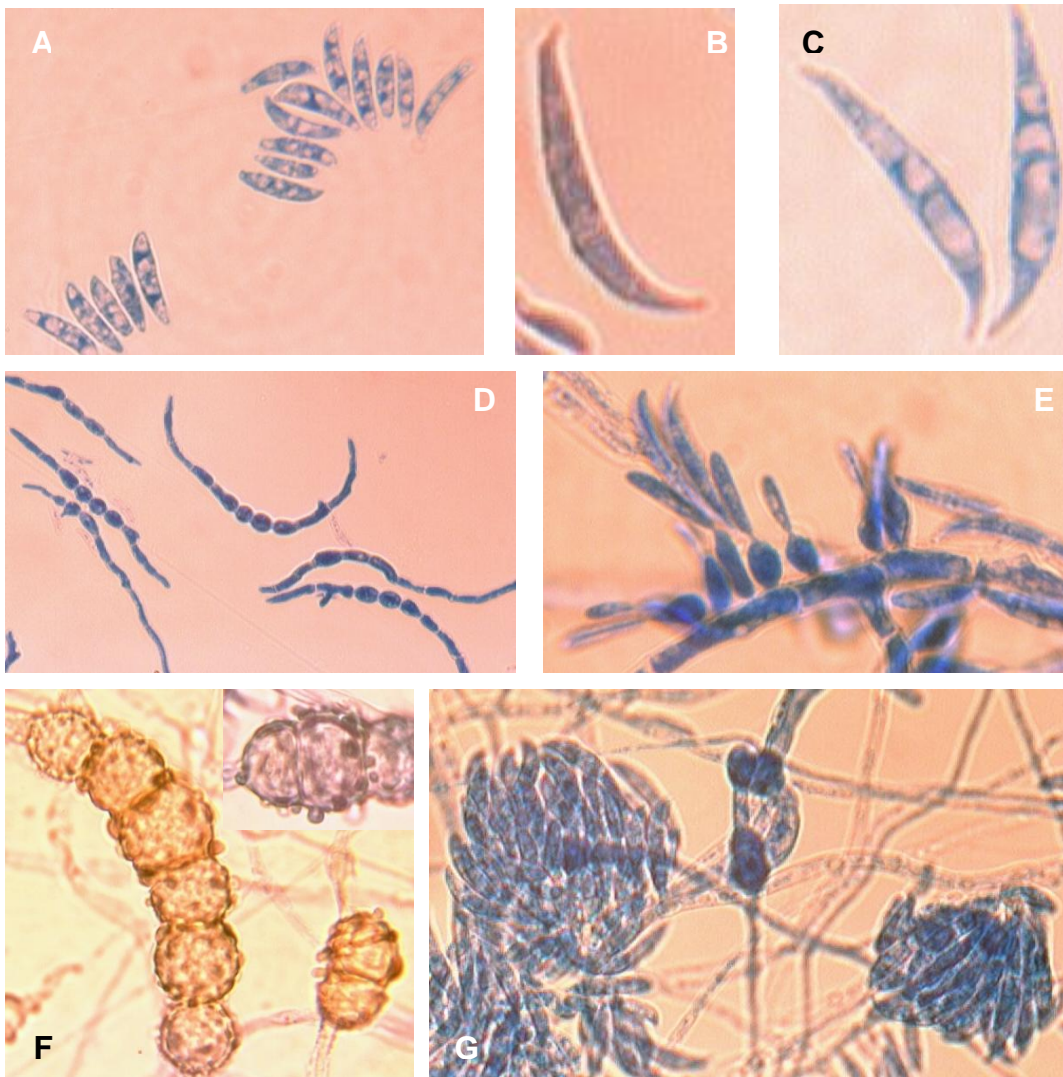
Clase: *Sordariomycetes*

Subclase: *Hypocreomycetidae*

Orden: *Hypocreales*

Familia: *Nectriaceae*

Género: *Fusarium*



**A.** Microconidias 100x. **B, C.** Macroconidias 100x. **D.** 24 hrs. Germinación multipolar de conidias 40x. **E.** Monofialides 100x. **F.** Clamidosporas 100x. **G.** 96 hrs. Formación de esporodocio y esporulación 40x.

- **Medio de cultivo**

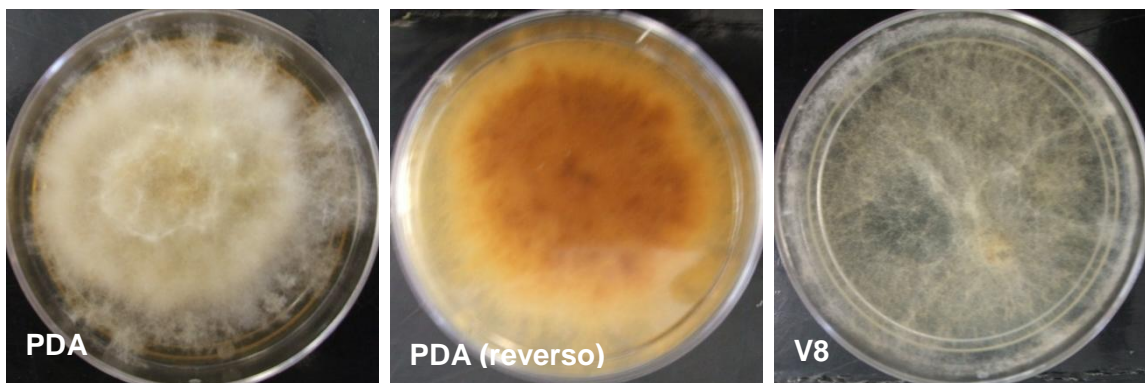
La especie se obtuvo en medio PDA y V8; con abundante formación de clamidosporas y nula o muy escasa esporulación; por lo que se trasladó a medio Kerr's (modificado) para inducir así la esporulación y contar con todos los criterios morfológicos para su identificación.

- **Incubación**

22°C

- **Características de la colonia**

En medio PDA y Kerr's (modificado) hubo abundante formación de micelio aéreo blanco de apariencia algodonosa; en PDA el medio se tiñó intensamente de color amarillo-anaranjado. En V8 hubo escasa formación de micelio aéreo y el medio se mostró incoloro a café intenso.



- **Clave morfológica de género**

**TUBERCULARIACEAE** (según Barnett y Hunter, 1987)

202c Conidias típicamente de más de 2 células, hialinas u oscuras.....	215
215a Conidias hialinas o ligeramente coloreadas.....	216
216b Conidias esbeltas, hialinas en masa.....	217
217a Macroconidia en forma de canoa; aunque también pueden estar presentes conidias de 1 célula.....	<b>Fusarium</b>

**PHIALOSPORAE CON ESPORODOQUIO** (según Kiffer y Morelet, 2000)

137. Esporodoquio no compuesto de una sola y larga capa de células.....	138
138. Esporodoquio sin un estroma basal hialino.....	139
139. Conidia exógena.....	144
144. Conidia hialina.....	147
147. Conidia multicelular.....	157
157. Conidia del tipo fragmospora o helicospora.....	158
158. Conidia no helicoidal.....	159

159. Conidia sin protuberancia hacia la punta.....160  
160. Macroconidia aguda hacia la punta y con una base en forma de pie....**Fusarium**

- **Descripción del género**

Hasta ahora son conocidas 50 especies diferentes de este género, son en general especies agresivas y saprobios altamente competitivos que pueden degradar una amplia variedad de sustratos. Las especies de *Fusarium* son favorecidas por suelos secos, llegando a ser mucho más activos a potenciales de agua entre -15 y -100 hasta los -120 bares. Se calcula que más de 120 géneros de plantas superiores son fuertemente afectadas por estos organismos.

De forma general presentan conidióforos solitarios o agregados formando un esporodoquio, pero lo que las caracteriza es la formación de dos tipos distintos de conidias, una larga, septada y hialina con forma de media luna, y una pequeña que puede tener una o dos células, hialina y de forma piriforme, fusiforme u ovoide (Mycology Online\*\*, 2011; Cook y Baker, 1983).

- **Descripción de la especie**

Especie cosmopolita. Su rango de temperatura puede variar desde los 5-25°C y prefiere pH de 5.5-7.5 (Carrillo, 2003). Desarrolla monofiálides ramificadas o no ramificadas. Puede presentar microconidias en el micelio aéreo en forma de coma u ovals. Las macroconidias son fuertemente septadas, de pared gruesa y en forma de hoz con una curvatura distintiva. El lado ventral es suavemente arqueado pero el lado dorsal es abruptamente más curvo. La célula apical puede ser más o menos elongada dando énfasis a la curvatura de la espora; en ocasiones puede ser muy larga dando una apariencia de látigo. La célula basal es distintivamente en forma de pie, algunas veces exageradamente. Forma clamidosporas de forma abundante, de pared gruesa y muy rugosa, formando grupos o cadenas (Nelson *et al*, 1983).

Se ha reportado como patógeno en un amplio número de especies leguminosas (frijol, haba, garbanzo, alfalfa, chícharo, etc.) así como en cultivos de colza, cebada, trigo, avena y en campos de ginseng, provocando principalmente síntomas de desintegración radical con descortezamiento y decoloración de la región del cuello.

Han sido aislados una gran cantidad de compuestos micotóxicos como los tricotecenos, diacetoxiscirpenol, zearalenona, fusarocromanona y moniliformina que resultan ser altamente tóxicos en animales y humanos, quienes son indirectamente afectados al consumir alimentos contaminados con dicho hongo. También se ha detectado la producción de antibióticos fuertemente inhibitorios para bacterias gram-positivas (Burmeister *et al*, 1974; Carrillo, 2003).

### 3. 2. 2 *Fusarium oxysporum* (Schlecht. emend. Snyder & Hans)

- **Taxonomía** (NCBI, 2011)

Super Reino: *Eukaryota*

Reino: *Fungi*

Subreino: *Dikarya*

División: *Ascomycota*

Subdivisión: *Pezizomycotina*

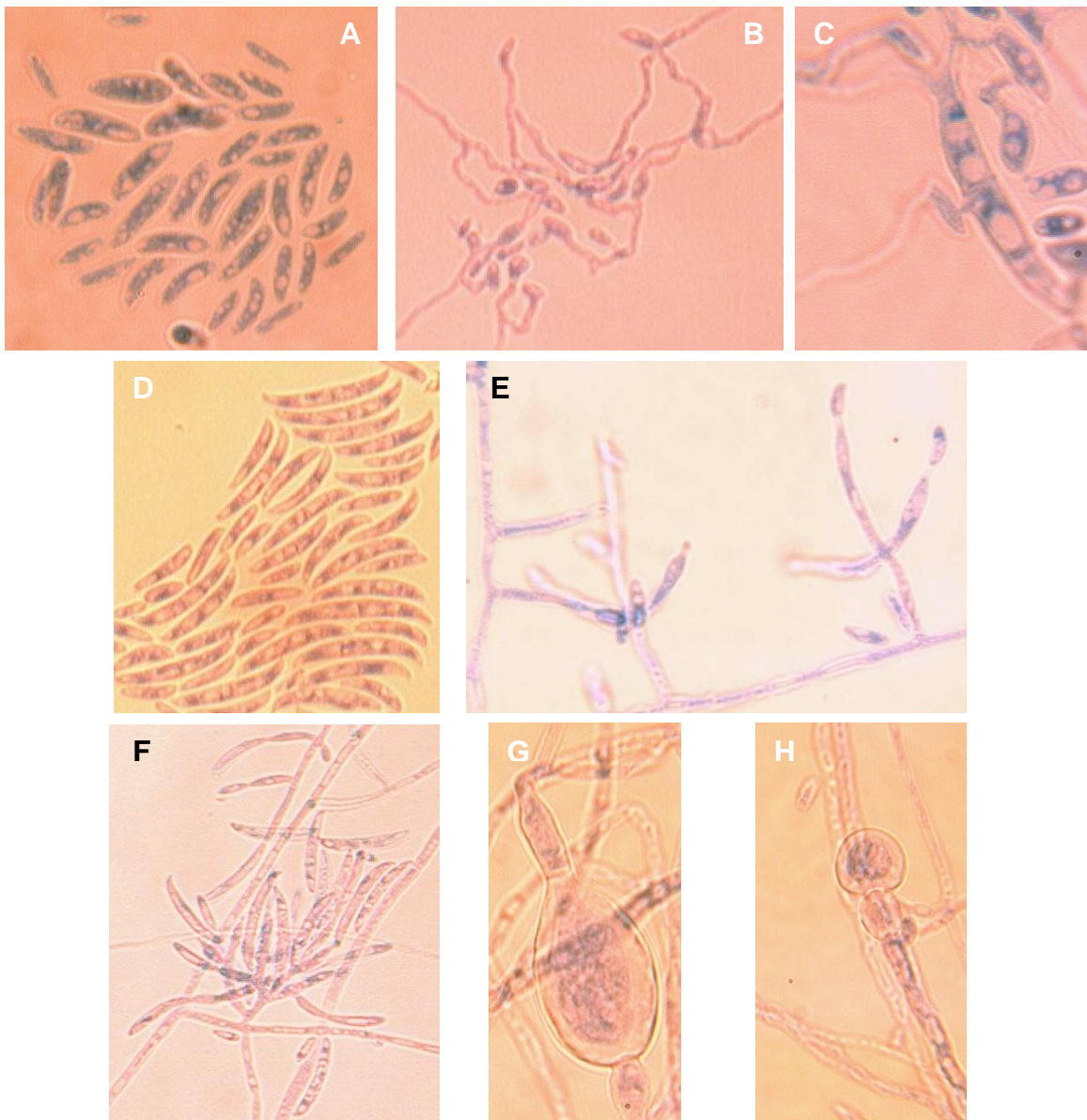
Clase: *Sordariomycetes*

Subclase: *Hypocreomycetidae*

Orden: *Hypocreales*

Familia: *Nectriaceae*

Género: *Fusarium*



**A, B.** 24 hrs. Detalle y germinación polar de microconidias 100 y 40x. **C, D.** 24 hrs. Detalle y germinación multipolar de macroconidias 100 y 40x. **E.** 48 y 72 hrs. Monofiálides 100x. **F.** 96 hrs. Esporulación 40x. **G, H.** Clamidosporas 100x.

- **Medio de cultivo**

V8

- **Incubación**

22°C

- **Características de la colonia**

Colonia única de forma irregular con micelio aéreo blanquecino de apariencia algodonosa. En medio V8 no provocó ninguna tinción. Pero en PDA mostró una coloración púrpura, en ocasiones muy intensa.



- **Clave morfológica de género**

**TUBERCULARIACEAE** (según Barnett y Hunter, 1987)

202c Conidias típicamente de más de 2 células, hialinas u oscuras.....	215
215a Conidias hialinas o ligeramente coloreadas.....	216
216b Conidias esbeltas, hialinas en masa.....	217
217a Macroconidia en forma de canoa; aunque también pueden estar presentes conidias de 1 célula.....	<b>Fusarium</b>

**PHIALOSPORAE CON ESPORODOQUIO** (según Kiffer y Morelet, 2000)

137. Esporodoquio no compuesto de una sola y larga capa de células.....	138
138. Esporodoquio sin un estroma basal hialino.....	139
139. Conidia exógena.....	144
144. Conidia hialina.....	147
147. Conidia multicelular.....	157
157. Conidia del tipo fragmospora o helicospora.....	158
158. Conidia no helicoidal.....	159
159. Conidia sin protuberancia hacia la punta.....	160
160. Macroconidia aguda hacia la punta y con una base en forma de pie....	<b>Fusarium</b>

- **Descripción del género**

Hasta ahora son conocidas 50 especies diferentes de este género, son en general especies agresivas y saprobios altamente competitivos que pueden degradar una



amplia variedad de sustratos. Las especies de *Fusarium* son favorecidas por suelos secos, llegando a ser mucho más activos a potenciales de agua entre -15 y -100 hasta los -120 bares. Se calcula que más de 120 géneros de plantas superiores son fuertemente afectadas por estos organismos.

De forma general presentan conidióforos solitarios o agregados formando un esporodoquio, pero lo que las caracteriza es la formación de dos tipos distintos de conidias, una larga, septada y hialina con forma de media luna, y una pequeña que puede tener una o dos células, hialina y de forma piriforme, fusiforme u ovoide (MicolgyOnline, 2011; Cook y Baker, 1983).

- **Descripción de la especie**

Especie cosmopolita muy abundante en zonas tropicales y templadas del mundo, su desarrollo óptimo se presenta a 20°C, sin embargo tiene un rango que puede ir de los 5 a 28°C. Estas temperaturas acompañadas de alta humedad relativa, días cortos de baja intensidad lumínica, suelos ácidos, arenosos, pobres en nitrógeno y con altos suministros de potasio favorecen ampliamente su desarrollo (Carrillo, 2003; RaU, 2010).

Las microconidias son abundantes, generalmente de una sola célula de forma arriñonada u oval, pueden medir 5-12 x 2.2-3.5 µm. Las macroconidias también son abundantes, ligeramente en forma de hoz, de pared delgada, con la célula apical atenuada y la célula basal en forma de pie, generalmente de 3-5 septos y de 27-46 x 3-4.5 µm. Las monofiálides pueden ser simples o ramificadas. Las clamidosporas pueden estar solitarias o en pares, son de pared lisa, elipsoidales a cilíndricas de 5-12 x 2.3-3.5 µm y son altamente resistentes a la degradación química y microbiológica. Pueden permanecer viables hasta después de 40 años (Cook y Baker, 1983; Micolgy Online<sup>\*\*\*</sup>, 2011; Nelson *et al*, 1983).

Se encuentra entre las especies más abundantes y complejas pues tiene más de 100 formas especiales caracterizadas por su alta especificidad en las plantas hospedantes que afecta; entre ellas especies cultivadas desde granos básicos, hortalizas, frutales, especies ornamentales, hasta cultivos ilícitos como plantas de coca, marihuana y amapola. Hecho por el cual durante la década de 1960 el

gobierno de los Estados Unidos de América propuso el uso de este hongo como un micoherbicida para la erradicación de dichas plantaciones en Colombia, sin embargo esta propuesta fue rechazada debido al amplio rango de hospederos y al riesgo potencial sobre otros ecosistemas naturales.

Es una especie que coloniza los conductos xilemáticos de la planta; bloqueando y tapando los vasos, determinando la aparición de síntomas de pudrición de raíces y de la base del tallo, clorosis y marchitamiento de hojas, pudrición de frutos y muerte total de la planta. Puede ser dispersado a corta distancia por irrigación y equipo contaminado. A larga distancia es diseminado por el viento y por el traslado de plántulas, frutos y/o semillas infectados (University of Hawaii - Manoa, 2010). Ha sido reportada la producción de micotoxinas del tipo moniliformina y fumonisinas relacionadas con lesiones precancerosas y cancerosas en esófago; y ácido fusárico causantes de afecciones importantes en animales y el hombre (Carrillo, 2003).

Para las especies de *Fusarium* la clave de género utilizada fue: Especies de *Fusarium*: Un Manual Ilustrado para su Identificación, de Nelson *et al* (1983), la cual cuenta con la descripción de 30 especies y se basa en caracteres morfológicos pero sin presentar dimensiones de las estructuras; así como también de las características culturales de la colonia, principalmente maneja la pigmentación en medio PDA, razón por la cual la especie número dos de *Fusarium*, que sólo fue obtenida en medio V8, tuvo que ser previamente probada en dicho medio, con la finalidad de ser observada la coloración mencionada en la clave, la cual, fue confirmada al teñir bajo la superficie del medio con un color púrpura, muy intenso en algunas ocasiones.

Esto combinado con la descripción morfológica dentro de esta clave nos llevó a determinar la especie como *Fusarium oxysporum*. Con la finalidad de corroborar y dar provecho a las medidas tomadas durante la observación de las laminillas en microscopio, fueron comparadas con los datos presentados por Cook y Baker (1983) en el compendio de antagonistas, capítulo 9 de su libro "Naturaleza y prácticas de control biológico de patógenos de plantas", en el cual mencionan para la especie de *F. oxysporum*, las siguientes dimensiones: microconidias 5.0-12.0 x 2.2-3.5 µm; macroconidias de 3-5 septos y de 27.0-46.0 x 3.0-4.5 µm; rangos dentro de los

cuales se encuentra la especie aislada, con 4.5-15.0 x 1.8-2.7  $\mu\text{m}$  para las microconidias y 20.0-30.6 x 2.7-3.6  $\mu\text{m}$  para las macroconidias, con ello se confirmó una vez más la especie como *F. oxysporum*.

Caso contrario, ocurrió para la especie de *F. equiseti* de la cual no se tuvo una referencia directa sobre la dimensión de sus estructuras, para poder comparar los datos obtenidos de: macroconidias de 14.4-37.5 x 2.5-4  $\mu\text{m}$ , microconidias de 5.4-11.7 x 2.0-3.0  $\mu\text{m}$  y clamidosporas de 7.5-15.0 x 9.9-17.0  $\mu\text{m}$ . A pesar de ello, esto no representó grandes complicaciones, en virtud de la pigmentación del medio PDA y el tipo de clamidosporas muy características de esta especie y fácilmente identificables.

A partir de la identificación de todas las especies aisladas se reconoció como fitopatógenas a las ya mencionadas, dado que *Fusarium oxysporum*, de acuerdo a análisis fitopatológicos en suelos de otras regiones del país con padecimientos similares reportadas por otros investigadores, coincide entre los principales hongos asociados a la “secadera” del chile (González *et al*, 2002; González *et al*, 2004; Guerrero *et al*, 2004; Luna y Vásquez, 1996; Mojica *et al*, 2009; González *et al*, 2006; 2011; Rodríguez *et al*, 2007; SMBB, 2011; Velásquez *et al*, 2004; Velásquez y Lara, 2007). Así como para el presente trabajo, donde se registró su presencia en dos de las tres muestras de suelo infestadas (suelo 1 y 2), además de haberse mostrado reiteradamente en diluciones 1: 10, 1:100 y 1: 1000, reflejando la alta densidad de población de la especie e incrementando la probabilidad de que sea éste el principal agente asociado a la “secadera” dentro de los agroecosistemas de la comunidad El Salto.

De manera similar, *Fusarium equiseti*, que fue aislado a partir de semillas de chile guajillo, coincide con lo mencionado por González *et al* (2004) y por Velásquez y Lara (2007); aunque éstos últimos lo aislaron a partir de otras variedades de chile como mirasol, ancho, pasilla y puya; y no definen con exactitud la especie de *Fusarium*.

### 3. 3 RECONOCIMIENTO DE ESPECIES ANTAGÓNICAS

#### 3. 3. 1 *Chaetomium funicola* (Cooke)

- **Taxonomía** (NCBI, 2011)

Super Reino: *Eukaryota*

Reino: *Fungi*

Subreino: *Dikarya*

División: *Ascomycota*

Subdivisión: *Pezizomycotina*

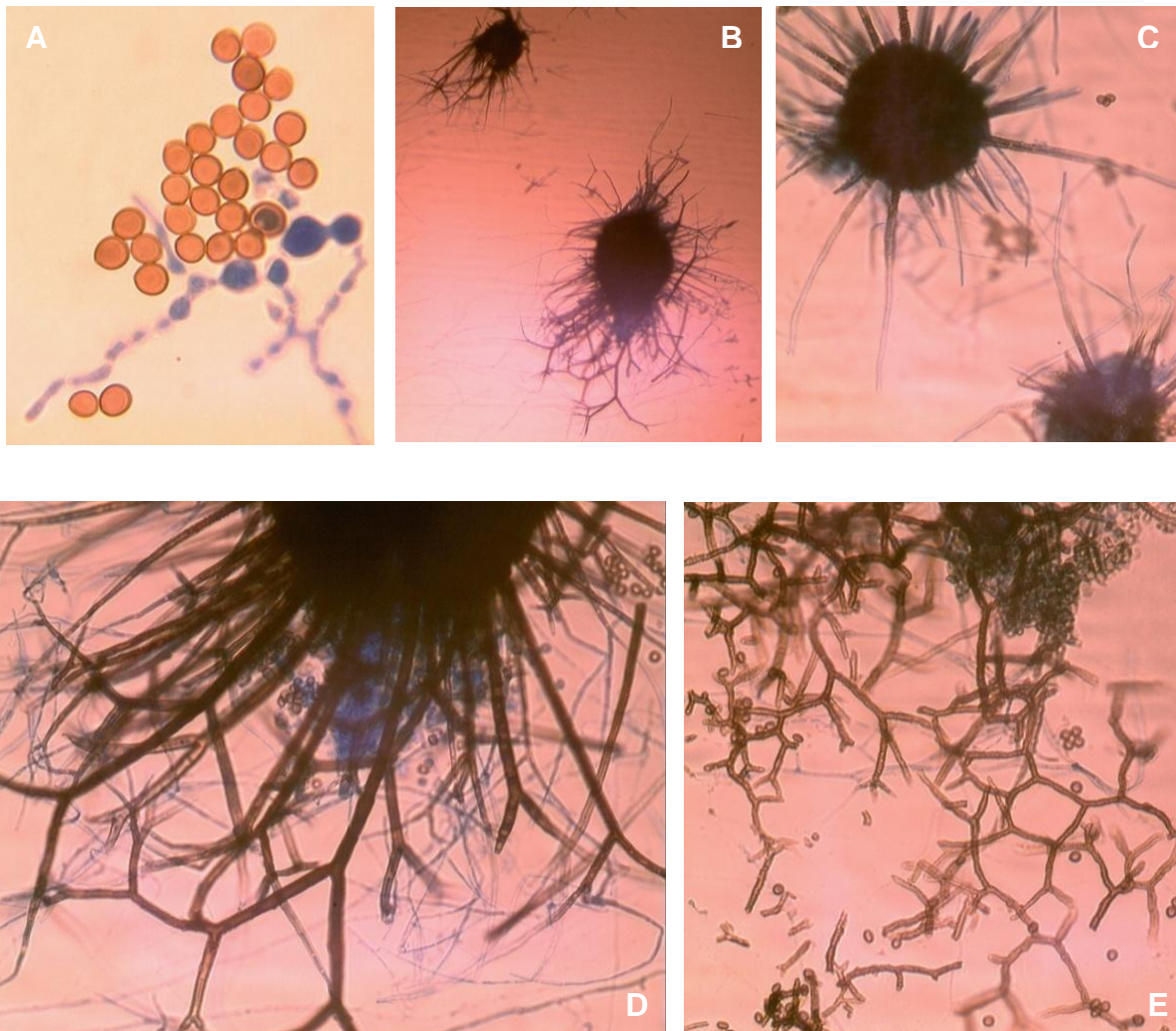
Clase: *Sordariomycetes*

Subclase: *Sordariomycetidae*

Orden: *Sordariales*

Familia: *Chaetomiaceae*

Género: *Chaetomium*



**A.** 96 hrs. Germinación polar de ascosporas 100x. **B, C.** Peritecios 10x. **D, E.** Detalle de pelos terminales 40x.

- **Medio de cultivo**

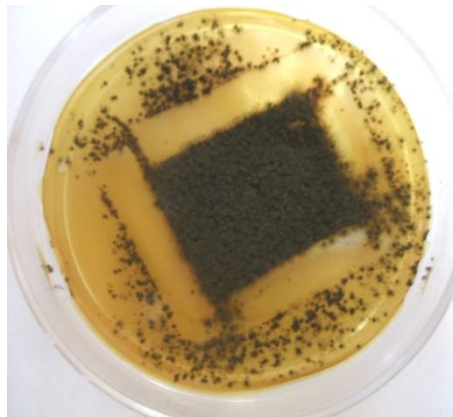
PDA

- **Incubación**

22°C

- **Características de la colonia**

Colonia sin micelio aéreo aparente, donde lo que se aprecian son las fructificaciones (peritecios) fuertemente compactadas resultando un agregado de apariencia aterciopelada color verde oscuro. El medio puede teñirse ligera a intensamente amarillo.



- **Clave morfológica de género** (según Hanlin, 1990)

1. Ascosporas no filiformes.....	2
2. Ascosporas no alantoides.....	4
4. Ascosporas claras a café oscuro.....	39
39. Asca unitunicada o prototunicada.....	40
40. Ascoma peritecioide o apotecioide.....	42
42. Ascoma peritecioide.....	43
43. Ascosporas iguales en ambos extremos.....	44
44. Asca de pared evanescente.....	45
45. Ascosporas con poro germinal.....	46
46. Ascosporas con un poro germinativo.....	47
47. Ascosporas café oliváceas a café oscuro, no dextrinoides.....	<b>Chaetomium</b>

- **Descripción de género**

Son especies comunes en sustratos celulósicos, semillas, suelos y estiércol.

Su ascoma es un peritecio ostiolado, globoso, subgloboso, elongado obpiriforme o en forma de florero, de color café y rodeado de pelos de distintas formas. El asca de pared evanescente puede contener de 4-8 ascosporas. Las ascosporas son de una

célula, con un poro germinal en uno o ambos extremos a menudo limoniformes, las cuales, algunas veces son arrojadas fuera del ostiolo en un cirro.

Sus anamorfos son *Acremonium*, *Botryotrichum*, *Scytalidium* y *Sporothrix* (Cook y Baker, 1983; Hanlin, 1990).

- **Calve morfológica de especie** (según Watanabe, 2002)

- 1. Pelos terminales ramificados.....10
- 10. Pelos terminales simples o ramificados.....12
- 12. Ascosporas con forma de limón.....**C. funicola**

- **Descripción de la especie**

Peritecio café, subgloboso a ovado, de 90.0-250.0 x 55.0-150.0  $\mu\text{m}$  de diámetro, cubierto con pelos terminales sobre la superficie, éstos son de color café y pueden ser de dos tipos: rectos en forma de seta o curvos, ramificados dicotómicamente pero ambos suelen tener un grosor de 3.5-5.0  $\mu\text{m}$ . Las ascas de 20.0-37.5 x 6.2-10.0  $\mu\text{m}$ , son hialinas, clavadas con un pie celular y evanescentes, contienen 8 ascosporas de 5.0-6.3 x 2.8-4.5  $\mu\text{m}$  de color olivo o verde grisáceo, elipsoidales o en forma de limón y apiculadas hacia uno o ambos extremos (Watanabe, 2002).

### 3. 3. 2 *Chaetomium fusiforme* (Chivers)

- **Taxonomía** (NCBI, 2011)

Super Reino: *Eukaryota*

Reino: *Fungi*

Subreino: *Dikarya*

División: *Ascomycota*

Subdivisión: *Pezizomycotina*

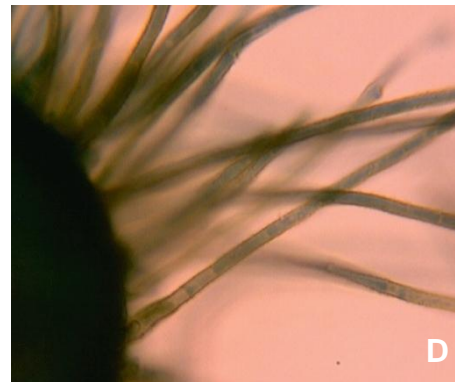
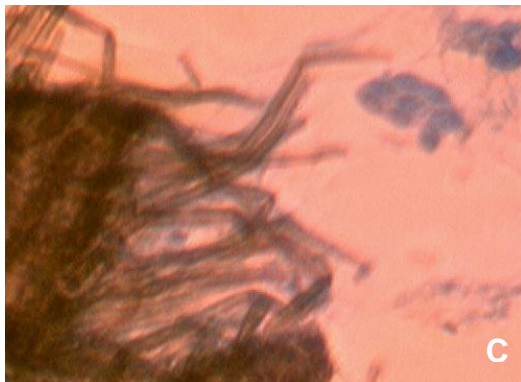
Clase: *Sordariomycetes*

Subclase: *Sordariomycetidae*

Orden: *Sordariales*

Familia: *Chaetomiaceae*

Género: *Chaetomium*



**A.** Peritecio inmaduro 40x. **B.** Peritecio en varios estados de madurez 10x. **C.** Asca liberada, mostrando 8 ascosporas inmaduras 100x. **D, E.** Detalle de pelos terminales que se crespan al madurar 100x y 40 x. **F.** Detalle de ascosporas maduras 100x.

- **Medio de cultivo**

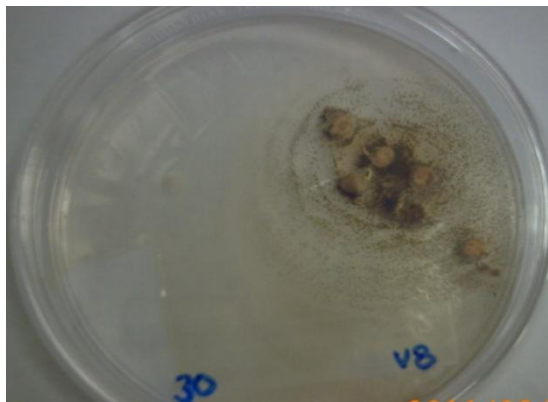
V8 y PDA

- **Incubación**

22°C

- **Características de la colonia**

Única colonia de forma esférica con micelio aéreo blanquecino poco aparente donde se notan las fructificaciones (peritecios) como puntuaciones de color verde oliváceo oscuro.



- **Clave morfológica de género** (según Hanlin, 1990)

1. Ascosporas no filiformes.....	2
2. Ascosporas no alantoides.....	4
4. Ascosporas claras a café oscuro.....	39
39. Asca unitunicada o prototunicada.....	40
40. Ascoma peritecioide o apotecioide.....	42
42. Ascoma peritecioide.....	43
43. Ascosporas iguales en ambos extremos.....	44
44. Asca de pared evanescente.....	45
45. Ascosporas con poro germinal.....	46
46. Ascosporas con un poro germinativo.....	47
47. Ascosporas café oliváceas a café oscuro, no dextrinoides.....	<b>Chaetomium</b>

- **Descripción de género**

Son especies comunes en sustratos celulósicos, semillas, suelos y estiércol.

Su ascoma es un peritecio ostiolado, globoso, subgloboso, elongado obpiriforme o en forma de florero, de color café y rodeado de pelos de distintas formas. El asca de pared evanescente puede contener de 4-8 ascosporas. Las ascosporas son de una



célula, con un poro germinal en uno o ambos extremos a menudo limoniformes, las cuales, algunas veces son arrojadas fuera del ostiolo en un cirro.

Sus anamorfos son *Acremonium*, *Botryotrichum*, *Scytalidium* y *Sporothrix* (Cook y Baker, 1983; Hanlin, 1990).

- **Clave morfológica de especie** (según Watanabe, 2002)

1. Pelos terminales simples.....2
2. Pelos terminales enroscados.....6
6. Pelos terminales enroscados por todos lados.....7
7. Asca clavada, ascosporas no dispuestas en una sola hilera.....8
8. Ascosporas en forma de huso y de más de 12 m de longitud..... **C. fusiforme**

- **Descripción de la especie**

El peritecio de 170.0-240.0 x 120.0-220.0  $\mu\text{m}$ , café o negro, ovado o subgloboso, cubierto con pelos terminales sobre la superficie, ondulados a ligeramente enrollados con 1-3 espirales de 200  $\mu\text{m}$  de longitud por 2.5-3.8  $\mu\text{m}$  de ancho. Las ascas evanescentes, hialinas, de forma clavada conteniendo 8 ascosporas que pueden ir de los 35.0-52.5 x 13.7-16.3  $\mu\text{m}$ . Las ascosporas son de color olivo, fusiformes a elipsoidales con un surco elipsoidal, de 12.5-14.0 x 7.5-8.8  $\mu\text{m}$  (Watanabe, 2002).

Para las dos especies anteriores que obviamente no pertenecen a la clase de los *Deuteromycetes* se recurrió al uso de claves para la clase de *Ascomycetes* a la cual corresponden; estas fueron las de Hanlin (1990) y Watanabe (2002), éste último también consultado para la determinación de la especie.

Los datos a comparar fueron los siguientes; para *C. funicola* se registraron peritecios de 140.0-210.0 x 137.5-190.0  $\mu\text{m}$  y ascosporas de 2.7-5.4 x 4.5-5.4  $\mu\text{m}$ , las ascas no fueron claramente apreciables en esta especie por lo que no se contó con datos acerca de ellas. Sin embargo, fue claro que los peritecios y ascosporas se ubicaron dentro de los rangos mencionados por Watanabe.

Para *C. fusiforme* los peritecios fueron de 78.4-98.0 x 68.6-88.2  $\mu\text{m}$ , los pelos mostraron longitudes de 78.4-294.0  $\mu\text{m}$ , las ascosporas de 5.0-7.5 x 10.0-17.5  $\mu\text{m}$  y las ascas que para esta especie si fueron claramente observadas conteniendo 8 ascosporas, alcanzaron longitudes de 27.5-50.0  $\mu\text{m}$ .

Para esta especie la longitud de los pelos y las ascas coincidió con las reportadas por Watanabe, no así para el tamaño de los peritecios que resultaron menores, quizá a que se hayan medido en un estado aún inmaduro o como consecuencia de algún otro factor abiótico como temperatura, luz o medio de cultivo, que probablemente hayan interferido con el desarrollo de la especie, lo cual habría de verificarse consultando otras referencias.

De forma similar las ascosporas se encontraron dentro del rango de longitud, pero no en el ancho, pues éstas se mostraron un tanto más esbeltas.

### 3. 3. 3 *Epicoccum purpurascens* (Ehrenb: Schlecht) = *E. nigrum* (Link)

- **Taxonomía** (NCBI, 2011)

Super Reino: *Eukaryota*

Reino: *Fungi*

Subreino: *Dikarya*

División: *Ascomycota*

Subdivisión: *Pezizomycotina*

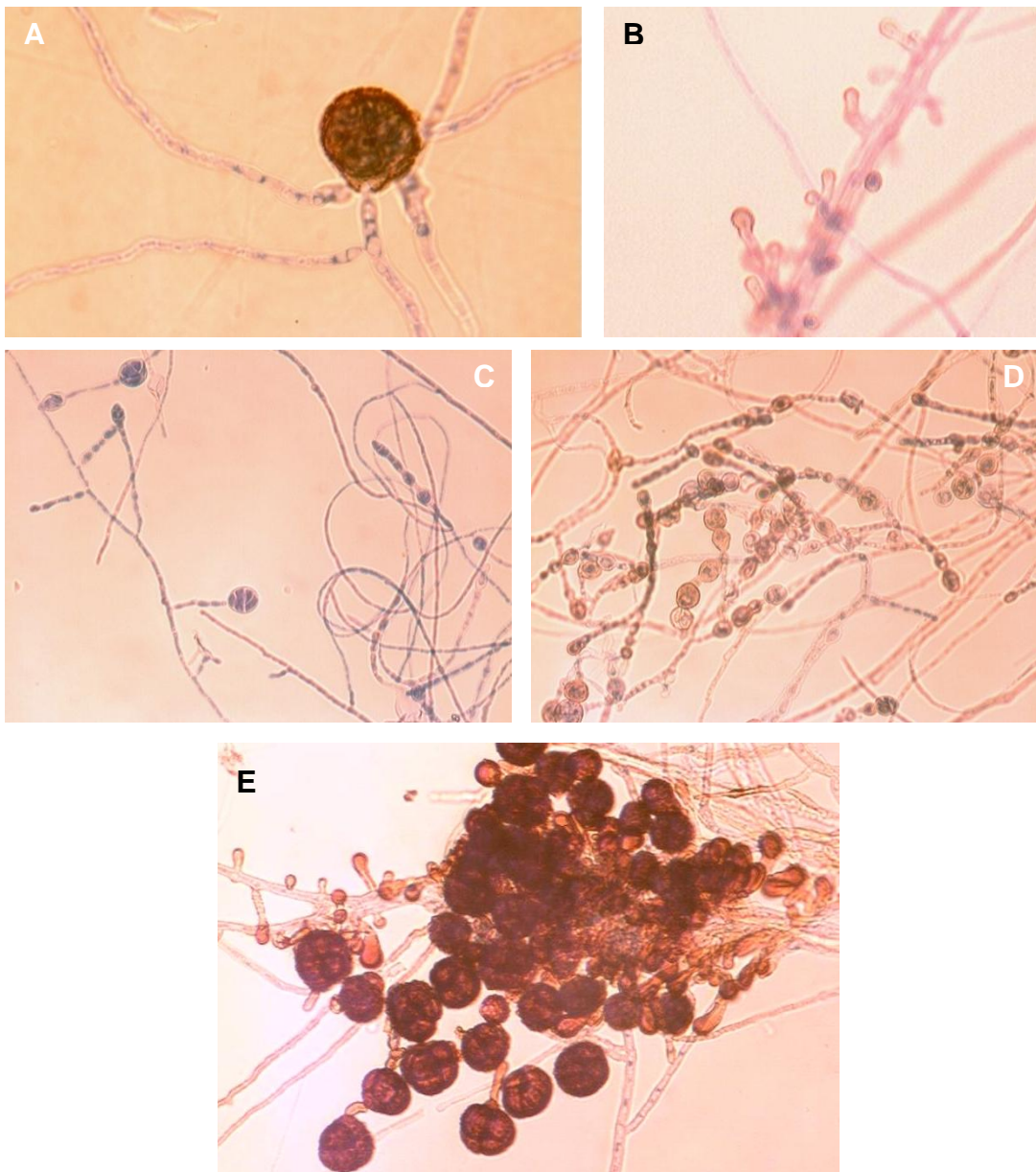
Clase: *Dothideomycetes*

Subclase: *Pleosporomycetidae*

Orden: *Pleosporales*

Familia: *Pleosporaceae*

Género: *Epicoccum*



**A.** 24 y 48 hrs. Germinación multipolar de esporas. **B.** 168 hrs. Desarrollo de conidióforos. **C, D.** 192 hrs. Desarrollo de conidias. **E.** 216 hrs. Esporulación.

- **Medio de cultivo**

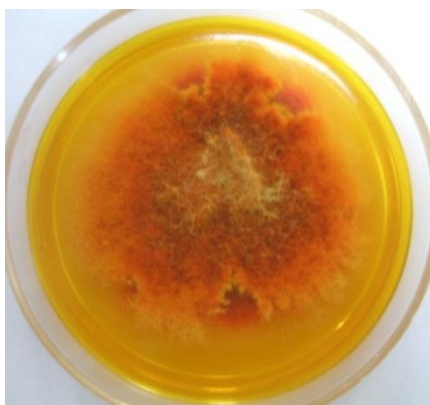
PDA

- **Incubación**

22°C

- **Características de la colonia**

Colonia lobulada de apariencia algodonosa, pigmentada fuertemente de color anaranjado el cual se difunde por completo en el medio; al madurar se aprecian las fructificaciones como puntuaciones oscuras.



- **Clave morfológica de género**

**TUBERCULARIACEAE** (según Barnett y Hunter, 1987)

202c Conidia típicamente de más de 2 células, hialinas u oscuras.....	215
215a Conidia oscura.....	218
218b Conidias no ramificadas ni lobuladas.....	220
220a Conidia muriforme (dictiospora).....	221
221a Conidia globosa a subglobosa.....	<b><i>Epicoccum</i></b>

**ALEURIOSPORAE Y MONOBLASTOSPORAE** (segun Kiffer y Morelet)

1. Hyphales.....	2
2. Conidióforos y conidia de una forma constante y definida.....	18
18. Aparato conidial melanizado.....	36
36. Conidia septada.....	65
65. Conidia del tipo dictiospora.....	66
66. Conidia en su mayor parte melanizada.....	67
67. Conidia no formada desde una célula central melanizada o de células hialinas satelitales.....	72
72. Conidia de tamaño pequeño a medio.....	74
74. Conidia más o menos isodiamétrica.....	75
75. Conidia espinosa y más o menos esférica.....	<b><i>Epicoccum</i></b>

- **Descripción del género**

Este género cuenta con una sola especie conocida hasta el momento por lo que será descrita en el siguiente apartado.

- **Descripción de la especie**

Saprobio cosmopolita de distribución mundial, que en ocasiones suele comportarse como un patógeno oportunista en plantas; puede aislarse desde el aire, suelo, piel humana, una gran variedad de plantas e insectos, etc (Bleoju, 2007).

Presenta conidióforos ligeramente pigmentados café amarilláceos, cortos no muy bien diferenciados desde la hifa, miden poco más de 20  $\mu\text{m}$ . Las conidias pueden encontrarse solitarias o densamente compactadas formando un esporodoquio, miden entre 15.0-25.0  $\mu\text{m}$  de diámetro, son de color café, globosas, muriformes transversal y longitudinalmente, rugosas en la superficie, poseen una base en forma de embudo que muestra una amplia cicatriz. Ocasionalmente con un hilo cilíndrico, que puede ser consecuencia del desprendimiento del conidóforo de las conidias (Mycology Online\*, 2011; Watanabe, 2002).

Se caracteriza por la producción de una gran variedad de pigmentos entre ellos  $\beta$ -carotenos,  $\gamma$ -carotenos, rodoxantina, torularodina, licopeno y flavipina, esta última se ha reportado que posee propiedades antifúngicas, así como polímeros marrones de tipo ácido húmico (Bleoju, 2007).

La identificación de esta especie no representó ninguna complicación debido a la situación antes descrita, por lo que lo único que se pudo aportar de más, fueron los datos de la dimensión de las estructuras observadas, que fueron de 19.8-22.5  $\mu\text{m}$  de diámetro para las conidias y los conidióforos exhibieron una longitud entre los 22.5-27.5  $\mu\text{m}$ .

### 3. 3. 4 *Gliocladium roseum* (Bainier)

Teleomorfo: *Nectria gliocladioides* Smalley y Hans

- **Taxonomía** (NCBI, 2011)

Super Reino: *Eukaryota*

Reino: *Fungi*

Subreino: *Dikarya*

División: *Ascomycota*

Subdivisión: *Pezizomycotina*

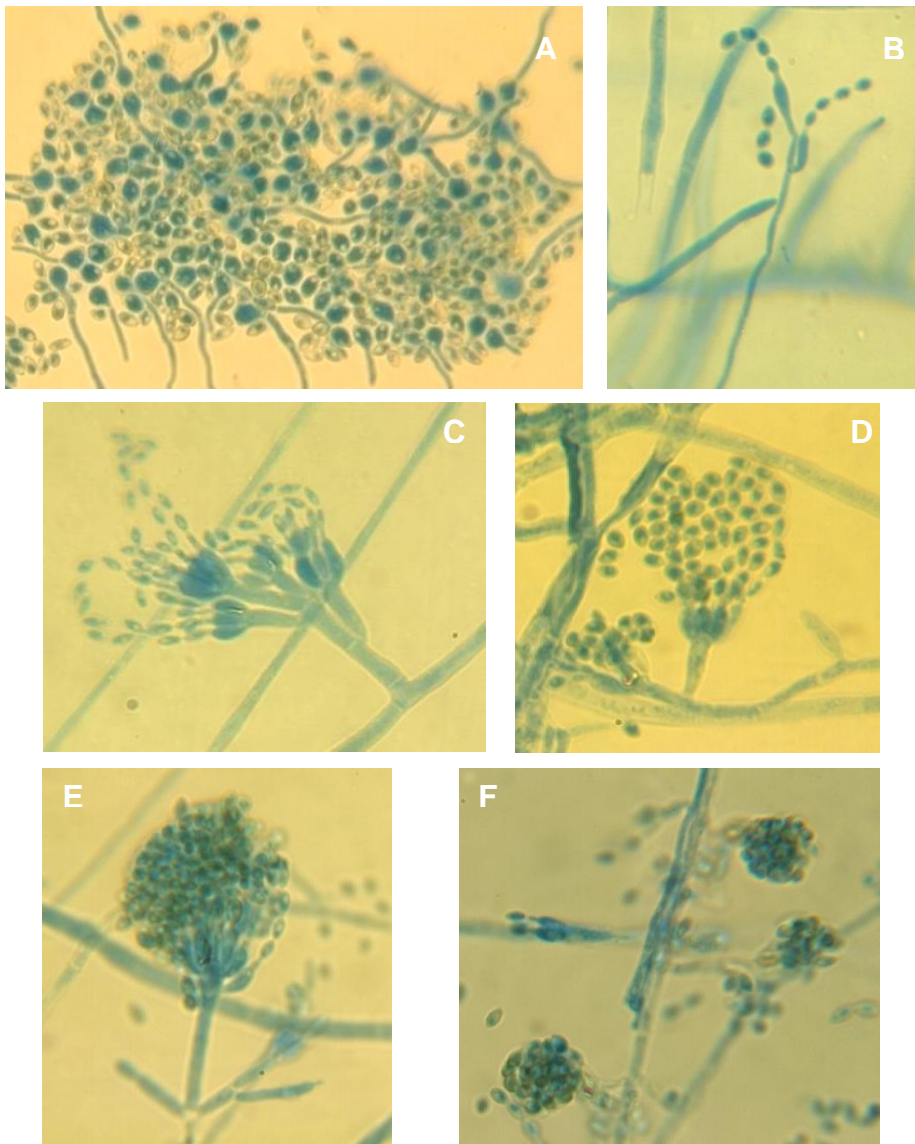
Clase: *Sordariomycetes*

Subclase: *Hypocreomycetidae*

Orden: *Hypocreales*

Familia: *Bionectriaceae*

Género: *Gliocladium*



**A.** 24 hrs. Germinación de fialosporas 100x. **B.** 48 hrs. Desarrollo de conidióforos y fiálides 100x. **C, D.** 72 hrs. Esporulación 100x. **E, F.** 96 hrs. Detalle de cabezas conidiales 100x.

- **Medio de cultivo**

V8

- **Incubación**

22°C

- **Características de la colonia**

Colonia de forma poco uniforme, se extiende por todo el medio en varios manchones, su apariencia es aterciopelada de coloración rosada, con un halo de coloración más intensa hacia el borde de la colonia.



- **Clave morfológica de género**

**MONILIACEAE** (según Barnett y Hunter, 1987)

11a Conidia típicamente de 1 célula, globosa la mayoría de las veces más larga que ancha.....	12
12a Conidióforos diferentes, aunque algunas veces cortos.....	19
19c Sin estado conidial de mildiu polvoso.....	20
20a Conidias de distintas formas, que nacen en células apicales del conidióforo....	21
21b Conidióforos mayormente ramificados, fiálides sí están presentes, en grupos o en cabezas.....	38
38b Conidias no dispuestas en cabezas compactas, conidióforos simples o ramificados cerca del ápice.....	41
41c Conidias no catenuladas.....	45
45b Aleuriosporas de pared celular gruesa ausentes.....	48
48a Conidias producidas hacia o cerca del ápice ya sea en fiálides o ramificaciones del conidióforo.....	49
49b Ramificación del conidióforo irregular, no verticilada.....	51
51b Conidias dispuestas en cabezas.....	54
54a Conidióforos ramificados en forma de cepillo o brocha, similar a <i>Penicillium</i> .....	<b><i>Gliocladium</i></b>

**PHIALOSPORAE** (según Kiffer y Morelet, 2000)

1. Hyphales.....	2
2. Hongo hialino.....	3

3. Conidia unicelular.....	4
4. Conidia en cabezas mucosas.....	5
5. Fiálides normalmente desarrolladas.....	11
11. Fiálides en racimos, verticilos, cabezas, etc.....	14
14. Fiálides no agrupadas en una ámpula terminal.....	15
15. Fiálides en forma de brocha terminal.....	16
16. Fiálides convergentes.....	17
17. Conidias agregadas en una cabeza común con todas las fiálides dispuesta en forma de brocha.....	<b>Gliocladium</b>

- **Descripción del género**

Este género incluye 13 especies. Las cuales son cosmopolitas comunes en suelo, viven comúnmente como saprobios en residuos vegetales, pero también pueden comportarse como micoparásitos.

Poseen conidióforos más o menos erectos, hialinos y ramificados terminalmente en forma penicilada, las fiálides son divergentes y en forma de botella; las fialosporas están dispuestas en cabezas terminales, que agrupadas se notan de color verde (Cook y Baker, 1983; Kiffer y Morelet, 2000; Mycology Online\*\*\*\*, 2011).

De algunas especies son conocidos los teleomorfos *Hypocrea*, *Hypomyces*, *Nectria*, *Sphaerostilbella* y *Roumegueriella*.

- **Clave morfológica de especie** (según Watanabe, 2002)

1. Conidióforos penicilados y verticilados.....	3
3. Conidióforos de 21 a 37 µm de largo, colonias rosas.....	<b>G. roseum</b>

- **Descripción de la especie**

Hongo común en suelo, ocurre particularmente en suelos alcalinos o neutros y en áreas pantanosas pero también es común en la rizosfera. Su temperatura óptima de crecimiento es de 25°C.

Posee conidióforos hialinos, erectos, simples o ramificados, generalmente con una longitud de 21 a más de 36.5 x 2.1-2.7 µm de ancho, forma una masa de esporas sobre fiálides con forma de brocha en los ápices de las ramificaciones. Las conidias son fialosporas, hialinas, de una célula, elipsoidales a ovadas, ligeramente apiculadas en los extremos y de pared delgada con dimensiones desde 4.3-6.1 x 2.6-3.9 µm (Cook y Baker, 1983; Watanabe, 2002).



Es una especie que se caracteriza por su capacidad micoparásita, de la que destaca principalmente por atacar esclerocios.

Recientemente se le ha atribuido la producción de compuestos de hidrógeno y carbono, con potencial para la producción de biocombustible.

La especie de *Gliocladium roseum* fue fácilmente determinada por su peculiar colonia de coloración rosada que la distingue del resto de las especies de este género, además de coincidir con las características descritas por Cook y Baker (1983) y Watanabe (2002). Los datos a comparar fueron: conidióforos de 5.0-50.0 x 1.8-2.0  $\mu\text{m}$  y conidias de 3.75-5.0 x 1.25-2.5  $\mu\text{m}$ .

### 3. 3. 5 *Trichoderma aureoviride* (Rifai 1969)

- **Taxonomía** (NCBI, 2011)

Super Reino: *Eukaryota*

Reino: *Fungi*

Subreino: *Dikarya*

División: *Ascomycota*

Subdivisión: *Pezizomycotina*

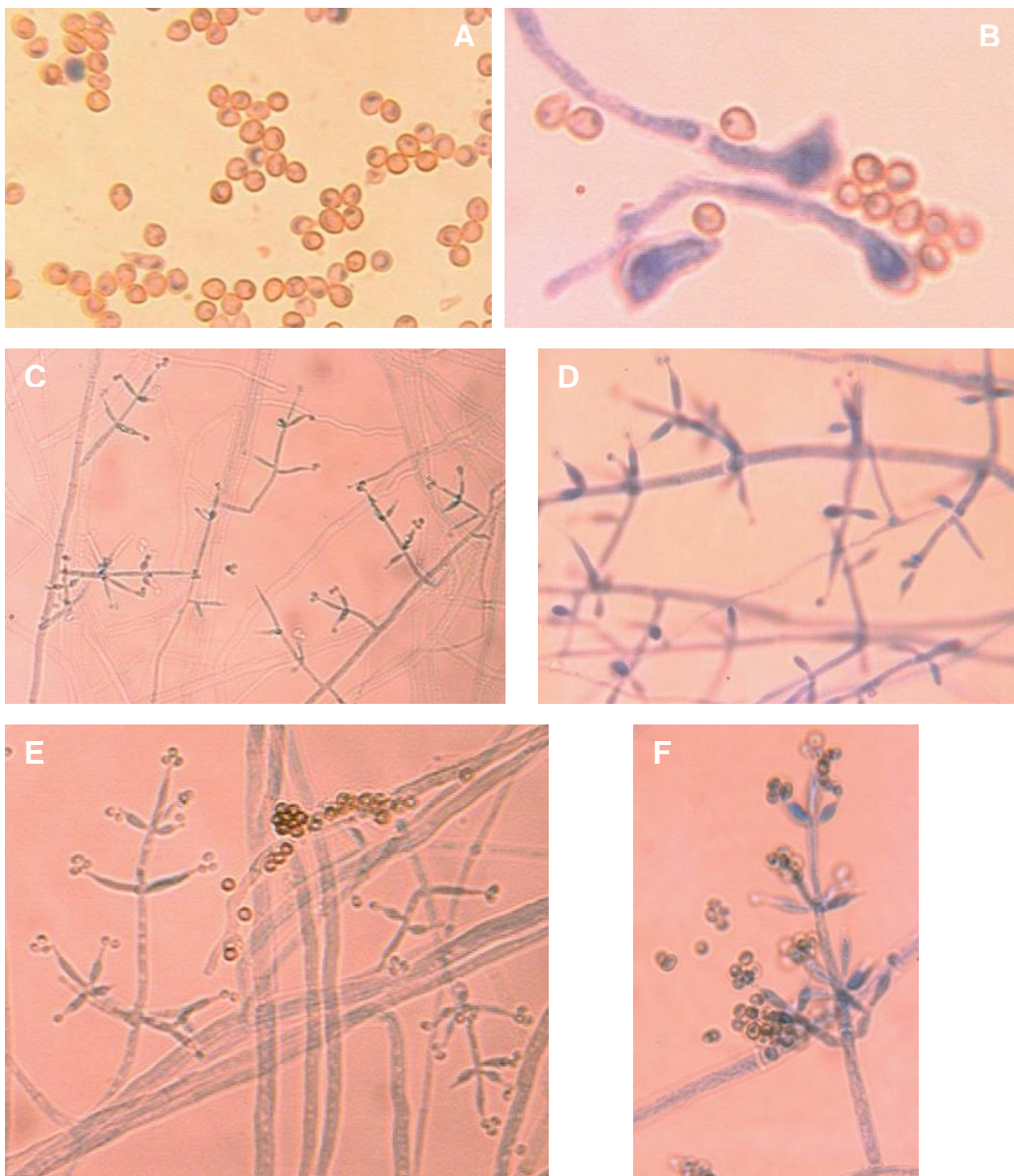
Clase: *Sordariomycetes*

Subclase: *Hypocreomycetidae*

Orden: *Hypocreales*

Familia: *Hypocrea*

Género: *Trichoderma*



**A.** Detalle de fialosporas 100x. **B.** 24 hrs. Germinación de conidias 100x. **C, D.** 48 hrs. Formación de conidióforos y fiálides 10x y 40x. **E, F.** 72 y 96 hrs. Esporulación 40x y 100x.

- **Medio de cultivo**

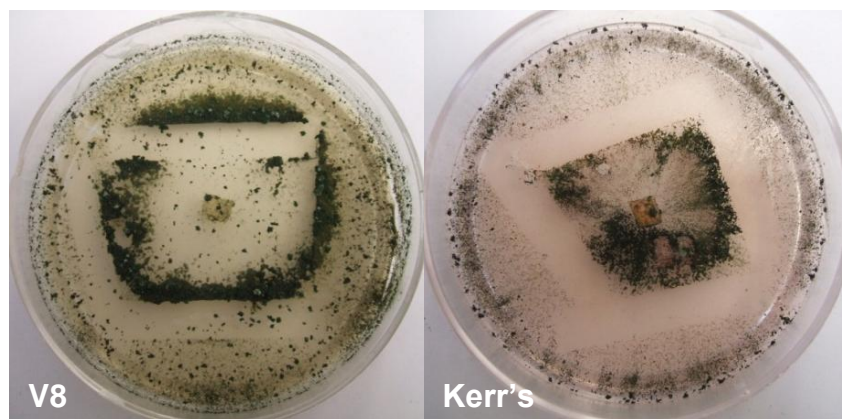
V8 y Kerr's (modificado)

- **Incubación**

22°C

- **Características de la colonia**

Colonia única uniforme, esférica, donde las fructificaciones forman múltiples y dispersos agregados color verde oscuro. De olor indistinto o terroso.



- **Clave morfológica de sección** (según Kubicek y Harman, 1998)

- 1(b) Conidiación efusa, fasciculada o pustulada, conidia a menudo verde; conidióforos con frecuente ramificación lateral; fiálides en su mayoría lageniformes a ampuliformes.....2
- 2(b). Conidióforos repetidamente ramificados; ramificación y fiálides en pares o verticilada, también aquellos que se encuentran en posición terminal; conidia de pared lisa o verrucosa.....3
- 3(b). Conidióforos y ramificación estrecha; fiálides comúnmente en verticilos de 2 o 3 (-5), lageniformes a subuladas, conidia siempre verde.....**sección *Trichoderma***

- **Clave morfológica de género**

**MONILEACEAE** (según Barnett y Hunter, 1987)

- 11a Conidia típicamente de 1 célula, globosa la mayoría de las veces más larga que ancha.....12
- 12a Conidióforos diferentes, aunque algunas veces cortos.....19
- 19c Sin estado conidial de mildiu polvoso.....20
- 20a Conidias de distintas formas, que nacen en células apicales del conidióforo.....21
- 21b Conidióforos mayormente ramificados, fiálides sí están presentes, en grupos o en cabezas.....38
- 38b Conidias no dispuestas en cabezas compactas, conidióforos simples o ramificados cerca del ápice.....41
- 41c Conidias no catenuladas.....45
- 45b Aleuriospora de pared celular gruesa ausentes.....48

48a Conidias producidas hacia o cerca del ápice ya sea en fiálides o ramificaciones del conidióforo.....	49
49b Ramificación del conidióforo irregular, no verticilado.....	51
51b Conidias dispuestas en cabezas.....	54
54b Conidióforos con ramificación difusa no en forma de cepillo o brocha.....	<b>Trichoderma</b>

**PHIALOSPORAE** (según Kiffer y Morelet, 2000)

1. Hyphales.....	2
2. Hongo hialino.....	3
3. Conidia unicelular.....	4
4. Conidia en cabezas mucosas.....	5
5. Fiálides normalmente desarrolladas.....	11
11. Fiálides en racimos, verticilos, cabezas, etc.....	14
14. Fiálides no agrupadas en una ámpula terminal.....	15
15. Fiálides en cepillos terminales.....	16
16. Fiálides que surgen aproximadamente en ángulo recto al conidiófo.....	<b>Trichoderma</b>

• **Descripción del género**

Este género cuenta hasta ahora con 36 especies diferentes, son cosmopolitas, viven como saprobios en suelos, residuos vegetales o en madera, comúnmente se reportan como micoparásitos.

Tienen conidióforos hialinos, muy ramificados, fiálides simples o en grupos, cilíndricas, subuladas, lageniformes, ampuliformes o subglobosas; conidia del tipo fiálospora, hialina o verde, ovoide, subglobosa, elipsoidal u oblonga; y dispuestas en pequeños racimos terminales (gleosporas). Comúnmente forman clamidosporas, dispuestas intercaladamente, raramente terminales y de forma globosa o elipsoidal y de pared lisa. Son fácilmente reconocidos por sus colonias de rápido crecimiento y la formación de pústulas compactas de conidias en tonos verdes, algunas especies poseen un aroma parecido a coco o alcanfor.

Los teleomorfos conocidos corresponden a *Hypocrea*, *Podostroma*, *Sarawakus* y *Thuemenella* (Cook y Baker, 1983; Kiffer y Morelet, 2000; Kubicek y Harman, 1998; Mycology Online\*\*\*\*\*, 2011).

• **Clave morfológica para especies de la sección *Trichoderma*** (según Kubicek y Harman, 1998)

- 1(b). Colonias de rápido crecimiento.....2
- 2(a). Colonias verde amarilláceas y flocosas; fiálides delgadas, casi del tipo *Verticillium* pero curvas; conidias obovoides con base truncada, de 3.0-5.0 x 2.0-3.2

µm.....***T. aureoviride***

- **Descripción de la especie**

Posee conidióforos hialinos, erectos, ramificados principalmente en la base formando una estructura piramidal, las fiálides dispuestas en forma verticilada, de 2-3 verticilos, de forma ampuliforme a lageniforme de 7.0-18.0 x 2.0-2.5 µm, las conidias forman masas en la parte apical de las fiálides, son lisas, ovadas con la base truncada, de una célula, hialinas o ligeramente verdes, miden 3.0-5.0 x 2.0-3.2 µm. Clamidosporas de 5.2-7.5 µm de diámetro.

### 3. 3. 6 *Trichoderma harzianum* (Rifai 1969)

- **Taxonomía** (NCBI, 2011)

Super Reino: *Eukaryota*

Reino: *Fungi*

Subreino: *Dikarya*

División: *Ascomycota*

Subdivisión: *Pezizomycotina*

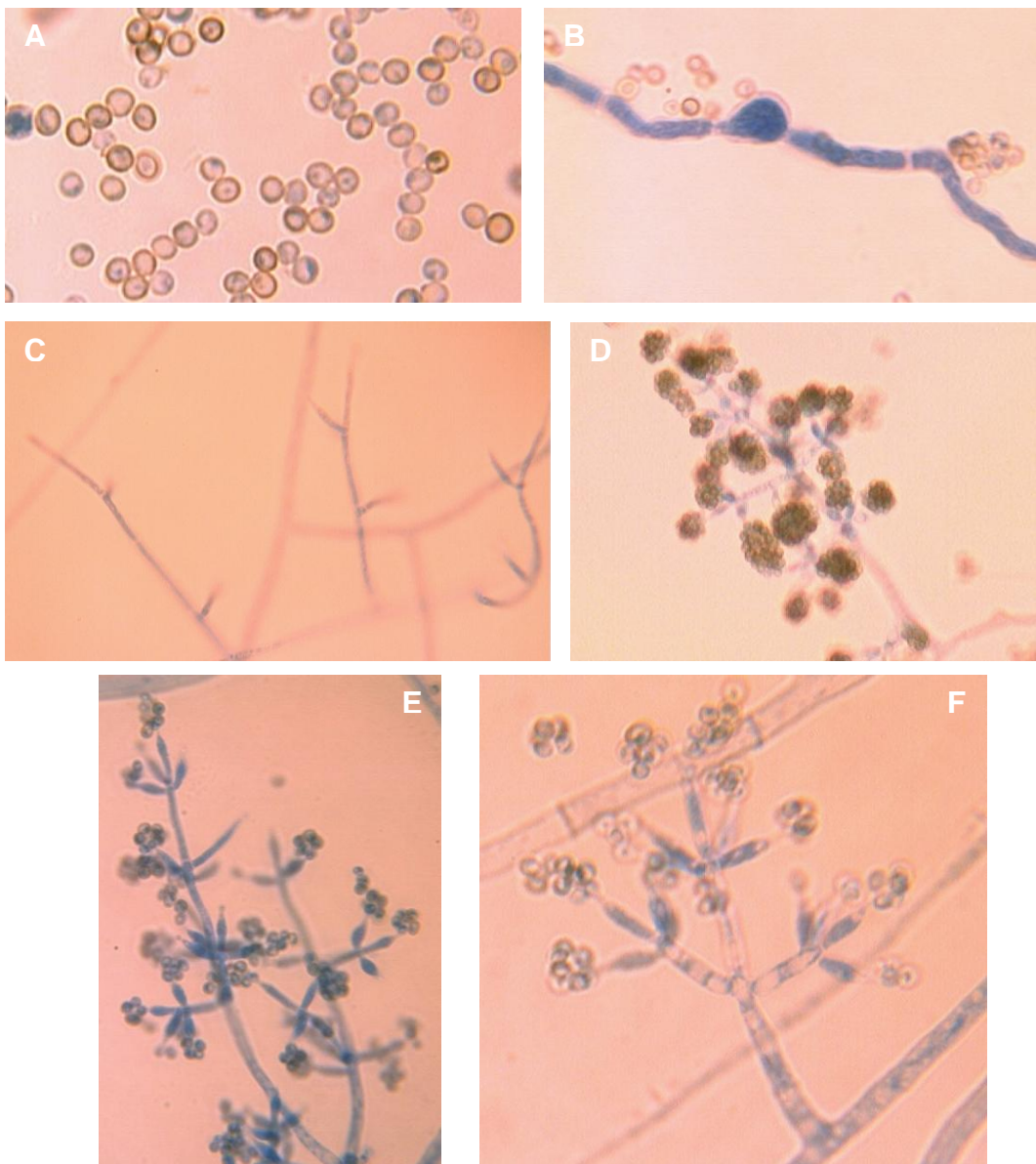
Clase: *Sordariomycetes*

Subclase: *Hypocreomycetidae*

Orden: *Hypocreales*

Familia: *Hypocrea*

Género: *Trichoderma*



**A.** Detalle de conidias 100x. **B.** 24 hrs. Germinación bipolar de conidias, aunque en su mayoría es unipolar 100x. **C.** 48 hrs. Formación de conidióforos y fiálides 40x. **D,** **E,** 40 x y **F** 100x. 72 y 96 hrs. Esporulación.

- **Medio de cultivo**

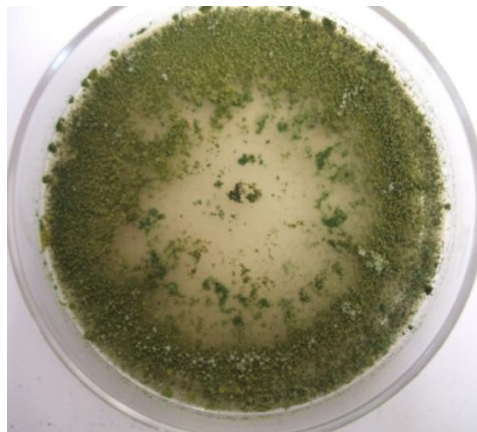
V8

- **Incubación**

22°C

- **Características de la colonia**

Colonia de forma uniforme, esférica, que fructifica hacia la periferia en múltiples y pequeños agregados de color verde oliváceo. De olor indistinto o terroso.



- **Clave morfológica de sección** (según Kubicek y Harman, 1998)

- 1(b) Conidiación efusa, fasciculada o pustulada, conidia a menudo verde; conidióforos con frecuente ramificación lateral; fiálides en su mayoría lageniformes a ampuliformes.....2
- 2(b). Conidióforos repetidamente ramificados; ramificación y fiálides en pares o verticilada, también aquellos que se encuentran en posición terminal; conidia de pared lisa o verrucosa.....3
- 3(b). Conidióforos y ramificación estrecha; fiálides comúnmente en verticilos de 2 o 3 (-5), lageniformes a subuladas, conidia siempre verde.....**sección *Trichoderma***

- **Clave morfológica de género**

**MONILEACEAE** (según Barnett y Hunter, 1987)

- 11a Conidia típicamente de 1 célula, globosa la mayoría de las veces más larga que ancha.....12
- 12a Conidióforos diferentes, aunque algunas veces cortos.....19
- 19c Sin estado conidial de mildiu polvoso.....20
- 20a Conidias de distintas formas, que nacen en células apicales del conidióforo.....21
- 21b Conidióforos mayormente ramificados, fiálides sí están presentes, en grupos o en cabezas.....38
- 38b Conidias no dispuestas en cabezas compactas, conidióforos simples o ramificados cerca del ápice.....41

41c Conidias no catenuladas.....	45
45b Aleuriospora de pared celular gruesa ausentes.....	48
48a Conidias producidas hacia o cerca del ápice ya sea en fiálides o ramificaciones del conidióforo.....	49
49b Ramificación del conidióforo irregular, no verticilado.....	51
51b Conidias dispuestas en cabezas.....	54
54b Conidióforos con ramificación difusa no en forma de cepillo o brocha.....	<b>Trichoderma</b>

**PHIALOSPORAE** (según Kiffer y Morelet, 2000)

1. Hyphales.....	2
2. Hongo hialino.....	3
3. Conidia unicelular.....	4
4. Conidia en cabezas mucosas.....	5
5. Fiálides normalmente desarrolladas.....	11
11. Fiálides en racimos, verticilos, cabezas, etc.....	14
14. Fiálides no agrupadas en una ámpula terminal.....	15
15. Fiálides en cepillos terminales.....	16
16. Fiálides que surgen aproximadamente en ángulo recto al conidiófo.....	<b>Trichoderma</b>

• **Descripción del género**

Este género cuenta con 36 especies diferentes, son cosmopolitas, viven como saprobios en suelos, residuos vegetales o en madera, comúnmente se reportan como micoparásitos.

Tienen conidióforos hialinos, muy ramificados, fiálides simples o en grupos, cilíndricas, subuladas, lageniformes, ampuliformes o subglobosas; conidia del tipo fiálospora, hialina o verde, ovoide, subglobosa, elipsoidal u oblonga; y dispuestas en pequeños racimos terminales (gleosporas). Comúnmente forman clamidosporas, dispuestas intercaladamente, raramente terminales y de forma globosa o elipsoidal y de pared lisa. Son fácilmente reconocidos por sus colonias de rápido crecimiento y la formación de pústulas compactas de conidias en tonos verdes, algunas especies poseen un aroma parecido a coco o alcanfor.

Los teleomorfos conocidos corresponden a *Hypocrea*, *Podostroma*, *Sarawakus* y *Thuemenella* (Cook y Baker, 1983; Kiffer y Morelet, 2000; Kubicek y Harman, 1998; Mycology Online\*\*\*\*, 2011).

• **Clave morfológica para especies de la sección *Trichoderma*** (según Kubicek y Harman, 1998)

1(b). Colonias de rápido crecimiento.....	3
---	---



- 3(b). Conidia sobglobosa a ligeramente elipsoidal u ovada.....4  
4(b). Conidia subglobosa a ligeramente elipsoidal.....5  
5(a). Conidia totalmente madura de color verde claro, 2.5-3.5 x 2.1-3.0  
µm.....**T. harzianum**

- **Descripción de la especie**

Especie común en suelo que muestra un desarrollo más favorable y mejor actividad en pH 5 y humedad de -1.35 bares. Su temperatura óptima de crecimiento es de 30°C y la máxima de 36°C. Puede sobrevivir sin una fuente alimenticia hasta por 130 días. Se ha observado que su desarrollo se ve limitado en la rizosfera de frijol.

Produce  $\beta$ -1-3-glucanasas y quitinasas. Por lo que ha mostrado ser un micoparásito efectivo contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*.

Sus conidióforos de 60-110 µm de longitud, son hialinos erectos, ramificados y con fiálides dispuestas en forma verticilada formando una estructura piramidal, usualmente 3-4 verticilos, las cuales miden 3.5-7.5 x 2.4-3.8 µm y son de forma ampuliforme a lageniforme. Las conidias están dispuestas en masas en los ápices de las fiálides, son de forma globosa, subglobosa u ovoide de una célula, de pared lisa y pueden ser hialinas o ligeramente verdes; miden 2.5-3.5 x 2.1-3.0 µm. Clamidosporas de 6.2-8.8 µm de diámetro

### 3. 3. 7 *Trichoderma koningii* (Oud 1902)

- **Taxonomía** (NCBI, 2011)

Super Reino: *Eukaryota*

Reino: *Fungi*

Subreino: *Dikarya*

División: *Ascomycota*

Subdivisión: *Pezizomycotina*

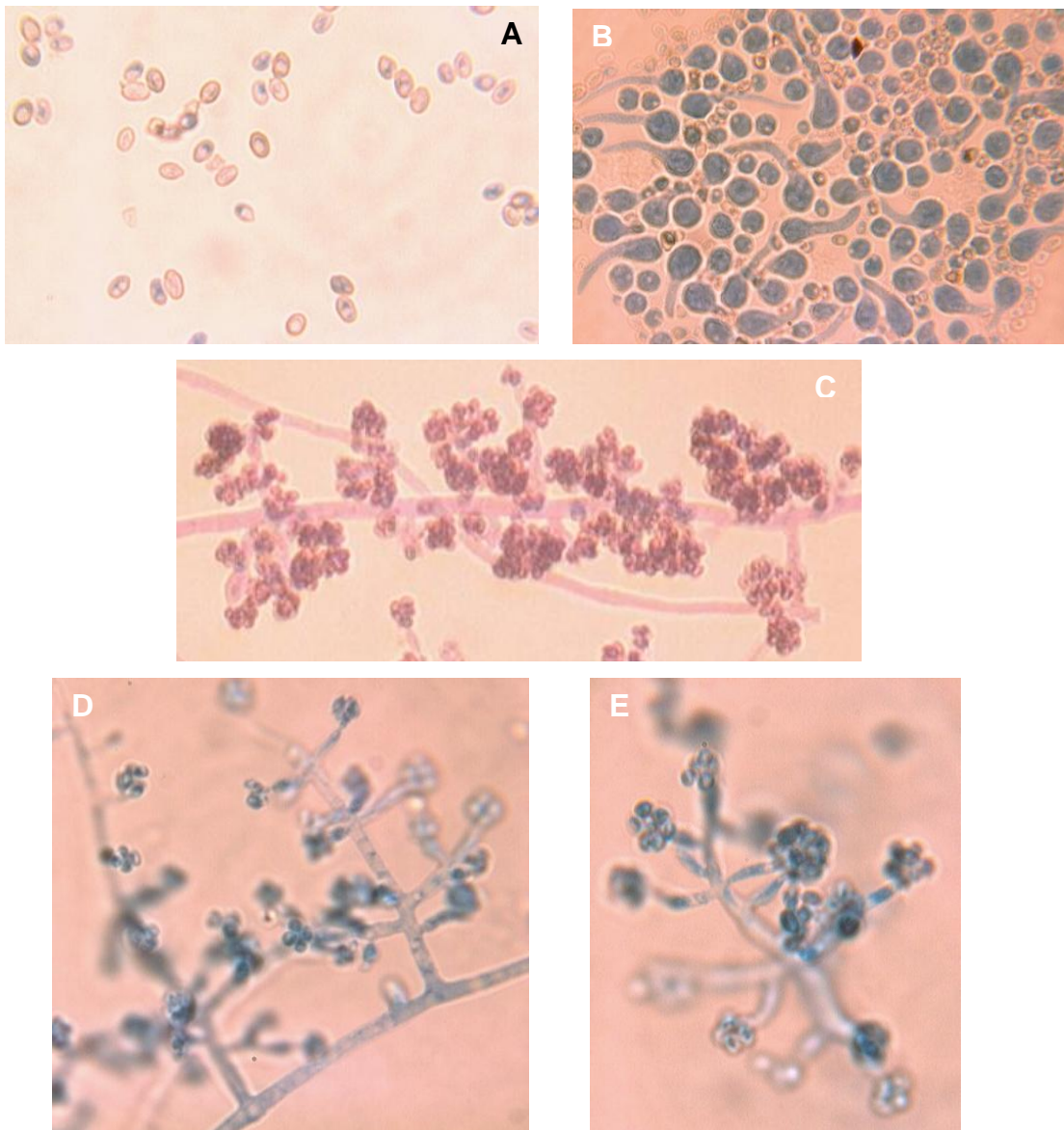
Clase: *Sordariomycetes*

Subclase: *Hypocreomycetidae*

Orden: *Hypocreales*

Familia: *Hypocrea*

Género: *Trichoderma*



**A.** Detalle de conidias 100x. **B.** 24 hrs. Germinación de esporas 100x. **C.** 48 hrs. Desarrollo de conidióforos y fiáldes 40x. **D.** 40x y **E.** 72 hrs. Esporulación 100x.

- **Medio de cultivo**

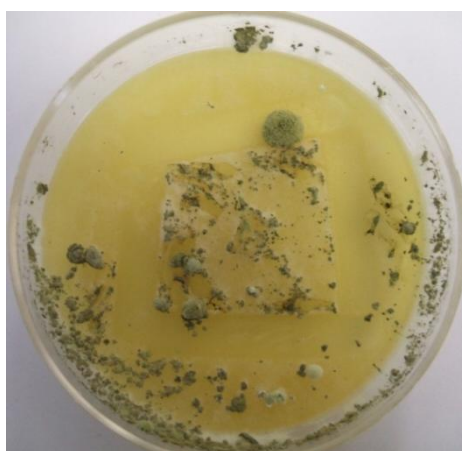
PDA

- **Incubación**

22°C

- **Características de la colonia**

Colonia esférica con poca formación de micelio aéreo blanquecino, donde las fructificaciones forman costras de color verde oliváceo y el medio se tiñe de color amarillo pálido.



- **Clave morfológica de sección** (según Kubicek y Harman, 1998)

- 1(b) Conidiación efusa, fasciculada o pustulada, conidia a menudo verde; conidióforos con frecuente ramificación lateral; fiálides en su mayoría lageniformes a ampuliformes.....2
- 2(b). Conidióforos repetidamente ramificados; ramificación y fiálides en pares o verticilada, también aquellos que se encuentran en posición terminal; conidia de pared lisa o verrucosa.....3
- 3(b). Conidióforos y ramificación estrecha; fiálides comúnmente en verticilos de 2 o 3 (-5), lageniformes a subuladas, conidia siempre verde.....**sección *Trichoderma***

- **Clave morfológica de género**

**MONILEACEAE** (según Barnett y Hunter, 1987)

- 11a Conidia típicamente de 1 célula, globosa la mayoría de las veces más larga que ancha.....12
- 12a Conidióforos diferentes, aunque algunas veces cortos.....19
- 19c Sin estado conidial de mildiu polvoso.....20
- 20a Conidias de distintas formas, que nacen en células apicales del conidióforo.....21
- 21b Conidióforos mayormente ramificados, fiálides sí están presentes, en grupos o en cabezas.....38
- 38b Conidias no dispuestas en cabezas compactas, conidióforos simples o ramificados cerca del ápice.....41

41c Conidias no catenuladas.....	45
45b Aleuriospora de pared celular gruesa ausentes.....	48
48a Conidias producidas hacia o cerca del ápice ya sea en fiálides o ramificaciones del conidióforo.....	49
49b Ramificación del conidióforo irregular, no verticilado.....	51
51b Conidias dispuestas en cabezas.....	54
54b Conidióforos con ramificación difusa no en forma de cepillo o brocha.....	<b>Trichoderma</b>

#### **PHIALOSPORAE** (según Kiffer y Morelet, 2000)

1. Hyphales.....	2
2. Hongo hialino.....	3
3. Conidia unicelular.....	4
4. Conidia en cabezas mucosas.....	5
5. Fiálides normalmente desarrolladas.....	11
11. Fiálides en racimos, verticilos, cabezas, etc.....	14
14. Fiálides no agrupadas en una ámpula terminal.....	15
15. Fiálides en cepillos terminales.....	16
16. Fiálides que surgen aproximadamente en ángulo recto al conidiófo.....	<b>Trichoderma</b>

#### • **Descripción del género**

Este género cuenta con 36 especies diferentes, son cosmopolitas, viven como saprobios en suelos, residuos vegetales o en madera, comúnmente se reportan como micoparásitos.

Tienen conidióforos hialinos, muy ramificados, fiálides simples o en grupos, cilíndricas, subuladas, lageniformes, ampuliformes o subglobosas; conidia del tipo fiálospora, hialina o verde, ovoide, subglobosa, elipsoidal u oblonga; y dispuestas en pequeños racimos terminales (gleosporas). Comúnmente forman clamidosporas, dispuestas intercaladamente, raramente terminales y de forma globosa o elipsoidal y de pared lisa. Son fácilmente reconocidos por sus colonias de rápido crecimiento y la formación de pústulas compactas de conidias en tonos verdes, algunas especies poseen un aroma parecido a coco o alcanfor.

Los teleomorfos conocidos corresponden a *Hypocrea*, *Podostroma*, *Sarawakus* y *Thuemenella* (Cook y Baker, 1983; Kiffer y Morelet, 2000; Kubicek y Harman, 1998; Mycology Online\*\*\*\*, 2011).

- **Clave morfológica para especies de la sección *Trichoderma*** (según Kubicek y Harman, 1998)

- 1(b). Colonias de rápido crecimiento.....3  
3(a). Conidia cilíndrica de 3.0-4.8 x 1.9-2.8..... **T. koningii**

- **Descripción de la especie**

Especie ubicua común en suelo. Su temperatura óptima de crecimiento está entre los 24-33°C. Posee conidióforos hialinos, erectos y/o ramificados. Las fiálides de 7.2-12.2 x 2.5-3.5 µm, de forma lageniforme o más o menos ampuliforme, usualmente en pares o dispuestas en verticilos de 3-5. Las conidias están dispuestas en masas hacia el ápice de las fiálides (fialosporas), son hialinas a ligeramente verdes, ovadas a elípticas y de una célula, miden 3.0-5.5 x 1.9-3.2 µm.

Para la identificación de las especies de *Trichoderma* se recurrió a tres recursos bibliográficos, Kubicek y Harman (1998), Cook y Baker (1983) y Watanabe (2002).

Las claves propuestas por estos dos últimos autores son claves hasta cierto punto sencillas. Manejan la descripción de tan sólo 5 especies diferentes del género *Trichoderma*, por lo que es de suponer que se trate de las especies más comunes. Por ello se inició usando estas dos claves, de manera tal, que si la especie a identificar no fue encontrada dentro de las descritas por estos autores, se recurrió al empleo de la clave de Kubicek y Harman; y aún, si la especie fue encontrada en las dos primeras claves se corroboró la identificación con esta última.

Kubicek y Harman manejan una clave mucho más estricta, que incluye un total de 34 especies con la finalidad de relacionar otros individuos que son morfológicamente similares, así como destacar y acomodar el amplio rango de variaciones morfológicas que presenta este género; para ello divide previamente al género en 4 secciones (*Hypocreanum*, *Longibrachiatum*, *Pachybasium* y *Trichoderma*) y a partir de cada una de ellas incluye entonces la descripción de las especies correspondientes a cada sección.

Las características morfológicas que diferencian cada sección son muy fáciles de detectar, por ejemplo, para la sección *Hypocreanum* los conidióforos no presentan o raramente ramificación lateral y las fiálides si están presentes se disponen en un sólo y simple verticilo terminal; para *Longibrachiatum* las fiálides no están dispuestas en forma verticilada, sino más bien surgen de forma individual; y *Pachybasium*

posee conidióforos muy gruesos de más de 10  $\mu\text{m}$ , además de presentar una extensión infértil del apéndice terminal del conidióforo muy distintiva.

De todas estas características antes mencionadas ninguna fue observada en las tres especies que fueron aisladas, por lo que descartamos estas secciones comenzando la identificación dentro de la sección *Trichoderma*.

Para cada una de las especies aisladas se encontró con situaciones específicas para lograr su determinación.

Por ejemplo, para el caso de *T. aureoviride*, Cook y Baker (1983) no cuentan con descripción alguna para esta especie, y entre los otros dos autores existen grandes diferencias en el tamaño de conidias, Watanabe menciona 2.4-2.7 x 2.1-2.5  $\mu\text{m}$ , dimensiones que resultan ser mucho menores que las que manejan Kubicek y Harman de 3.0-5.0 x 2.0-3.2  $\mu\text{m}$ . Los datos a comparar fueron conidias de 2.5-4.5 x 2.5-3.6  $\mu\text{m}$  las cuales coinciden mejor con los rangos manejados por estos últimos. Para el caso de las fiálides no existe gran diferencia, Watanabe indica 2.4-2.7 x 8.5-11  $\mu\text{m}$ , Kubicek y Harman 2.0-2.5 x 7.0-18.0  $\mu\text{m}$  y los datos registrados fueron de 1.8-2.5 x 4.5-12.5  $\mu\text{m}$  para las fiálides laterales o verticiladas y para la terminal se observaron longitudes que iban desde 12.5-20.0  $\mu\text{m}$ , por tanto estas dimensiones se ajustan a ambos rangos con la mínima diferencia que se encontraron fiálides a partir de 4.5  $\mu\text{m}$  de longitud, es decir de un tamaño menor.

Dichas situaciones ocasionaron desconcierto con la especie de *T. atroviride*, especie que guarda gran relación con *T. aureoviride* en el tamaño de las estructuras, sin embargo, esta fué descartada debido a que el resto de la descripción de esta especie, como el olor a coco de la colonia, conidias subglobosas y fiálides solitarias, rara vez dispuestas en verticilos, no coincidieron con lo observado. Concluyendo que se trataba de *Trichoderma aureoviride*.

Para *T. harzianum*, Watanabe presenta tamaño de conidias de 2.1-4.0  $\mu\text{m}$  si son globosas y de 4.0-6.0 x 2.8-4.8  $\mu\text{m}$  cuando son ovadas, y fiálides de 7.2-9.8 x 2.4-2.7  $\mu\text{m}$ ; Cook y Baker mencionan conidias de 2.4-3.2 x 2.2-2.8  $\mu\text{m}$ ; Kubicek y Harman de 2.5-3.5 x 2.1-3.0  $\mu\text{m}$  y fiálides de 3.5-7.5 x 2.5-3.8  $\mu\text{m}$ . Por su parte los datos observados fueron de 2.7-3.6 x 2.5-2.75  $\mu\text{m}$  para conidias y fiálides de 7.5-10.0 x 2.0-2.5  $\mu\text{m}$ , todos datos muy similares con excepción de Watanabe para el tamaño

de conidias. Dichas estimaciones aunadas a la descripción indicaron con certeza a la especie como *Trichoderma harzianum*.

Finalmente para el caso de la especie *T. koningii* resultó un tanto más sencilla de identificar, pues todos los autores coinciden en la descripción de ésta especie.

Los autores mencionan que *T. koningii* es una de las especies que posee las conidias de menor tamaño dentro de esta sección, hecho que se debe a la forma subcilíndrica que estas poseen; siendo las tres referencias sumamente similares y por consiguiente muy acertadas con las observaciones de la especie aislada, de 2.7-3.6 x 1.8-3.6  $\mu\text{m}$  y fiálides de 6.3-9.0 x 2.0-2.5  $\mu\text{m}$ , así pues, Watanabe refiere conidias de 3.0-4.5 x 2.4-3.0  $\mu\text{m}$  y fiálides de 7.2-12.0 x 2.1-2.7  $\mu\text{m}$ ; Cook y Baker señalan conidias de 3.0-4.8 x 1.9-2.8  $\mu\text{m}$ ; Kubicek y Harman indican conidias de 3.0-5.5 x 1.9-3.2  $\mu\text{m}$  y fiálides de 7.5-12.0 x 2.5-3.5  $\mu\text{m}$ . Llevando a establecer la especie como *Trichoderma koningii*.

Seis de las siete especies antagónicas reconocidas anteriormente fueron seleccionadas del resto de las especies aisladas, de acuerdo a la información y antecedentes que existen a nivel mundial sobre su uso para el control de diversos patógenos, contando algunas de ellas ya con acontecimientos muy exitosos.

Caso contrario sucedió para la especie *Epicoccum purpurascens*, la cual ha sido escasamente probada dentro del control de enfermedades, sin embargo la especie despertó gran interés ya que la colonia formada produce una coloración intensa muy llamativa, situación que llevó a sugerir que los compuestos relacionados en la generación de dichos pigmentos pudieran tener alguna propiedad antifúngica. Así en la búsqueda de información acerca de dichas propiedades se halló el importante papel que juega dentro de la industria de los colorantes, pero además se encontraron estudios que revelan ciertamente la producción de una sustancia antibiótica llamada flavipina (Bleoju, 2007). Por tanto no se dudó en poner a prueba esta cualidad contra especies patógenas, pero sin olvidar que aunque pocos, existen reportes que indican, que esta especie puede comportarse como un fitopatógeno oportunista. Por lo cual de resultar un buen biocontrolador, lo siguiente sería probar su efecto sobre el crecimiento en plantas de chile (*Capsicum annum*).

Además cabe destacar que las especies biocontroladoras seleccionadas como: *Trichoderma harzianum*, *T. aureoviride* y *T. koningii*, fueron obtenidas de suelos no

infestados con “secadera”; *Epicoccum purpurascens*, *Gliocladium roseum* y *Chaetomium funicola* obtenidos de suelos con problemas de “secadera”; y *Chaetomium fusiforme* obtenido a partir de semillas de chile guajillo (*Capsicum annuum*).

### 3. 4 PRUEBAS DE ANTAGONISMO EN CULTIVO DUAL

Para el caso de las pruebas de antagonismo en cultivo dual se elaboraron las siguientes tablas que corresponden a los resultados cualitativos obtenidos a los 7 y 10 días posteriores a su realización y que corresponden a los valores dentro de la escala de clases utilizada, propuesta por Bell *et al*, 1982 (Tabla 6).

**Tabla 11. Evaluación del grado de antagonismo en cultivo dual a los 7 días.**

7 DÍAS	<i>Fusarium oxysporum</i>				<i>Fusarium equiseti</i>			
	7°C	16°C	25°C	30°C	7°C	16°C	25°C	30°C
<i>Trichoderma koningii</i>	-	2	2	2	-	2	3	2
<i>T. harzianum</i>	-	2	2	2	-	3	2	2
<i>T. aureoviride</i>	-	2	2	2	-	2	3	2
<i>Epicoccum purpurascens</i>	-	3	3	3	-	3	3	3
<i>Gliocladium roseum</i>	-	3	4	3	-	3	3	3
<i>Chaetomium funicola</i>	-	3	4	3	-	3	3	3
<i>C. fusiforme</i>	-	3	3	3	-	3	3	3

**Tabla 12. Evaluación del grado de antagonismo en cultivo dual a los 10 días.**

10 DÍAS	<i>Fusarium oxysporum</i>				<i>Fusarium equiseti</i>			
	7°C	16°C	25°C	30°C	7°C	16°C	25°C	30°C
<i>Trichoderma koningii</i>	-	2	2	2	-	2	2	2
<i>T. harzianum</i>	-	2	2	2	-	2	2	2
<i>T. aureoviride</i>	-	2	2	2	-	2	2	2
<i>Epicoccum purpurascens</i>	-	3	4	4	-	3	3	4
<i>Gliocladium roseum</i>	-	5	4	4	-	3	4	4
<i>Chaetomium funicola</i>	-	3	4	4	-	3	4	4
<i>C. fusiforme</i>	-	3	4	4	-	3	3	3



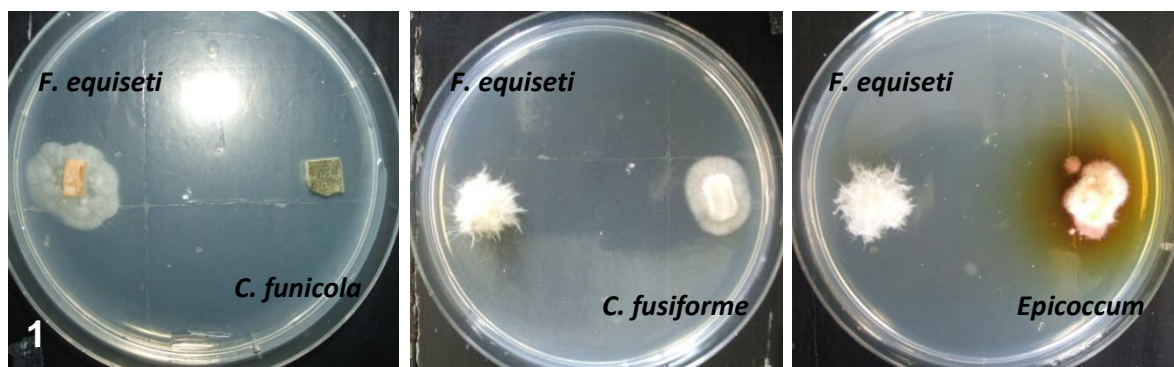
En las Tablas 11 y 12 resulta relevante la respuesta en el crecimiento tanto de las especies antagonistas como de las especies patógenas a temperatura de 7°C el cual fue severamente limitado y en algunos casos nulo, impidiendo que estas fueran clasificadas dentro de la escala de clases (Fotografías 1-14).

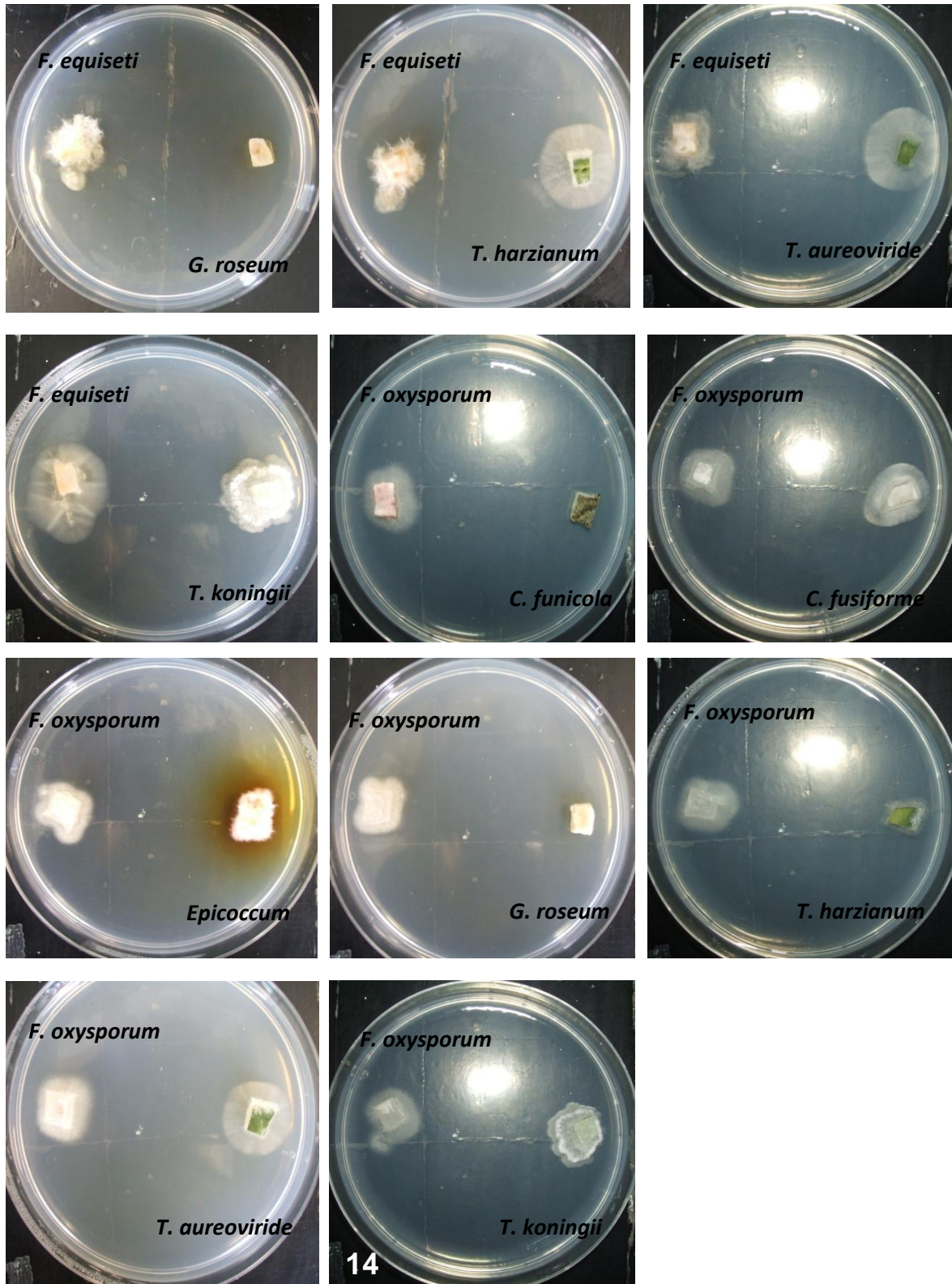
Especies como *T. koningii*, *T. harzianum*, *T. aureoviride*, *Chaetomium fusiforme*, *Epicoccum purpurascens*, *Fusarium oxysporum* y *F. equiseti* mostraron, aunque lento, desarrollo de fase somática posterior a los 7 días; por el contrario especies como *Chaetomium funicola* y *Gliocladium roseum* resultaron seriamente afectadas al detenerse por completo su crecimiento (Fotografías 1-14).

Esto indica que durante el período invernal de bajas temperaturas en la zona de estudio, no sólo el agente biocontrolador podría verse debilitado, sino también el patógeno, y es durante este período que podría tomarse primacía contra él, combinando acciones que ayuden a reducir significativamente su densidad de población antes de la liberación inoculativa del potencial agente biocontrolador, condición que le brindaría a éste último, mayor ventaja competitiva.

Ejemplos que llevarían a reducir la densidad de población de la especie patógena son: el cambio de la planta hospedera, seleccionando una especie vegetal que no sólo responda satisfactoriamente a las bajas temperaturas y otros factores abióticos del lugar, sino también que resulte ser una especie que cuente con características que puedan ser aprovechadas como biofumigante, ejemplos de las cuales ya han sido mencionadas con anterioridad (*ver apartado 1.5*).

Así mismo, estos resultados advierten que durante la estación invernal no sería recomendable la inoculación de antagonistas ya que resultaría inefectiva.



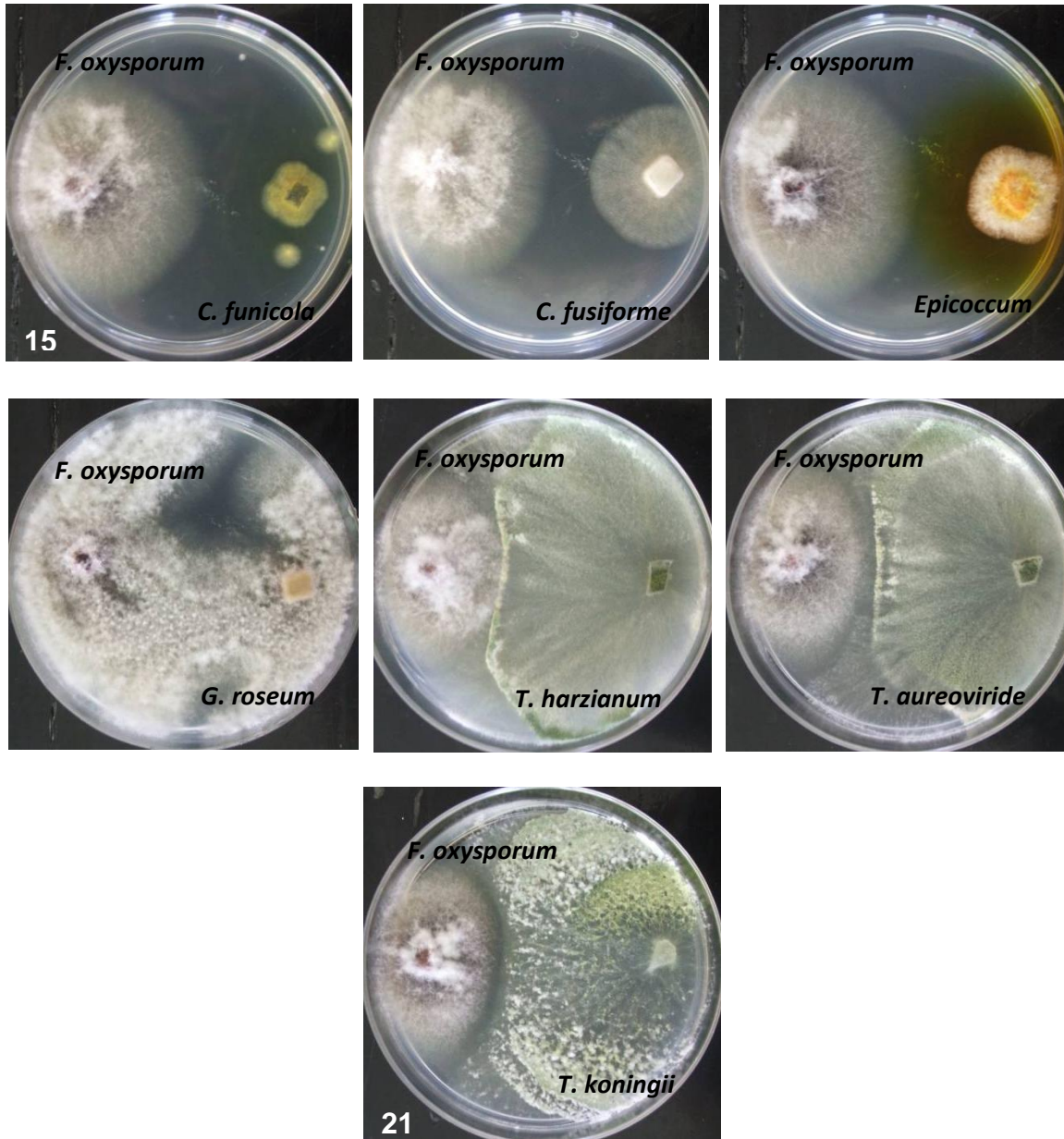


**Fotografías 1-14.** Cultivos duales mostrando el desarrollo de las especies a bajas temperaturas (7°C). Y donde se observa que el crecimiento no alcanza valores dentro de la escala de clases.

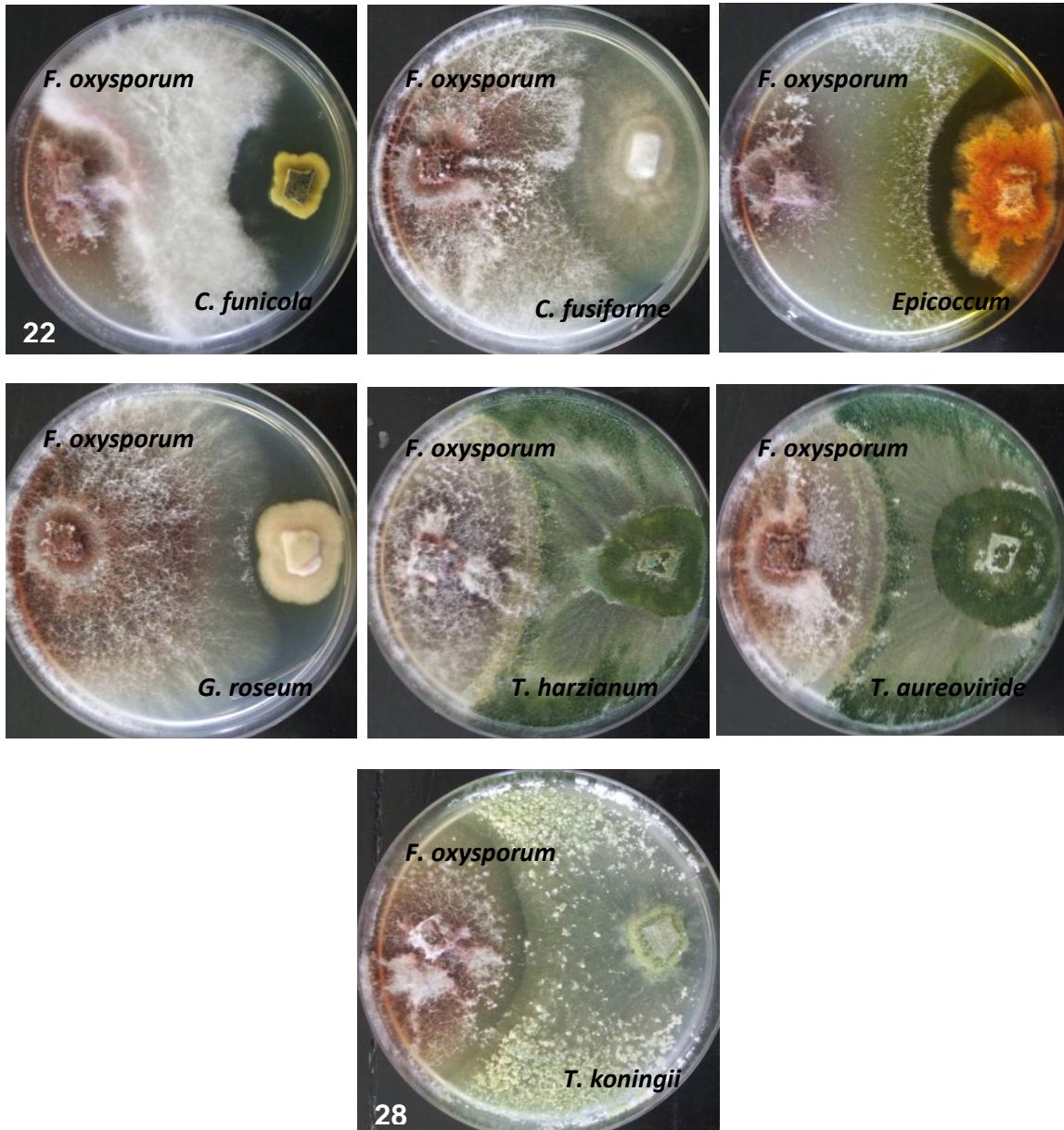
Para las temperaturas de 16°C (Fotografías 15-21), 25°C (Fotografías 22-28) y 30°C (Fotografías 29-35), en donde la especie patógena a controlar fue *Fusarium oxysporum*, se encontró que a partir de los 7 días, especies como *T. koningii*, *T. harzianum* y *T. aureoviride* destacaron al mostrar una excelente velocidad de crecimiento, alcanzando la clase tipo 2 en la escala y conservándola hasta los 10 días en que nuevamente fueron evaluadas.

El resto de las especies controladoras mostraron escaso desarrollo ocupando menos de la mitad de la superficie total del medio de cultivo permitiendo que llegados los 10 días esta superficie hubiese sido ocupada por el patógeno, ubicándose así, algunos de ellos en la clase 3, 4 y 5 de la escala de clases. Esta situación fue caso especial para especies como *C. fusiforme*, *C. funicola* y *G. roseum*, manteniendo reiteradamente este comportamiento en las tres temperaturas.

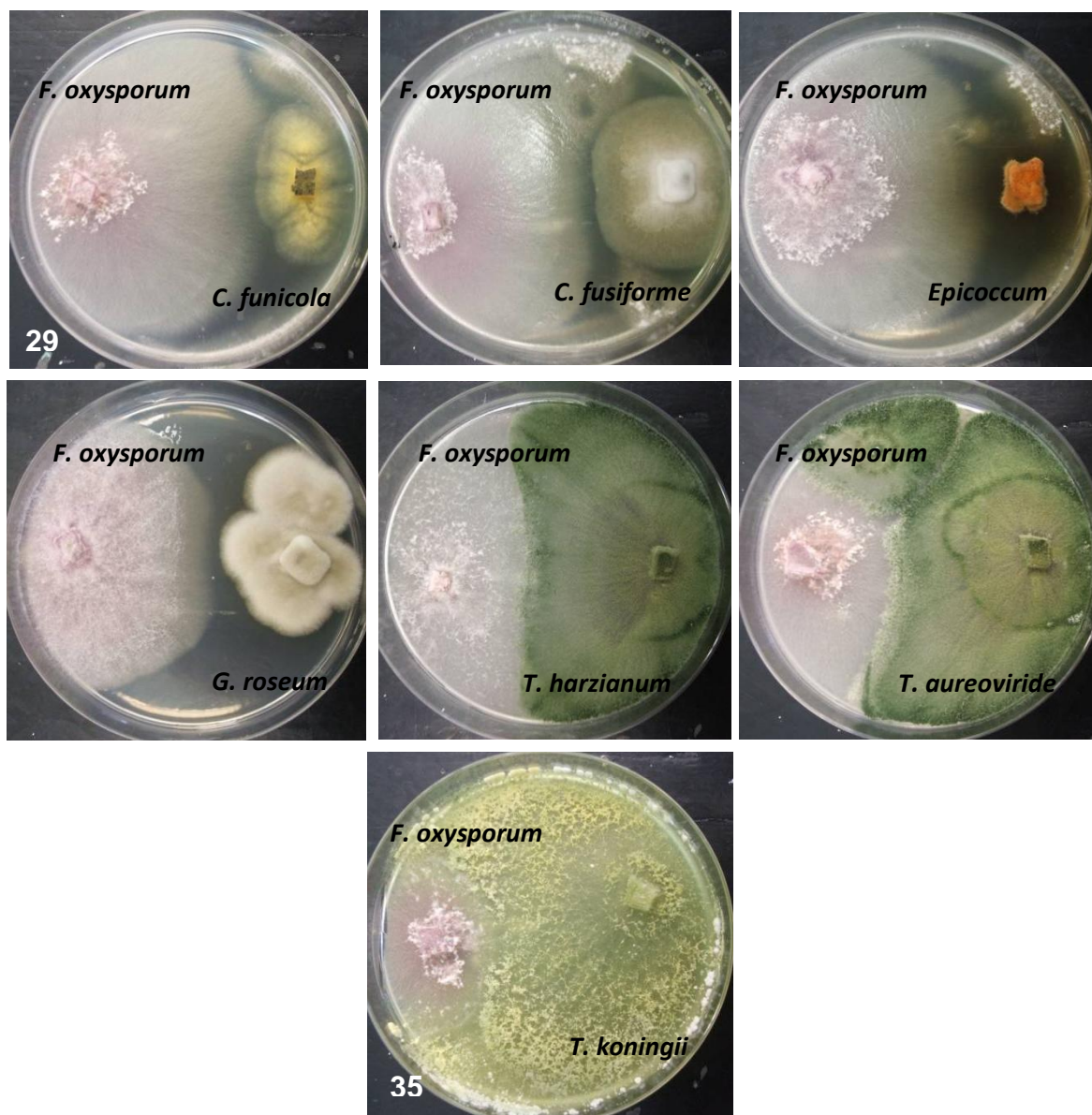
Aunque a temperatura de 25°C (Fotografías 22-28) la especie *Epicoccum purpurascens*, no ocupó más del 50% de la superficie del medio, sí alcanzó un mayor crecimiento en comparación con el resto de las temperaturas de incubación, lo cual permitió observar un halo bien definido que logró limitar fuertemente el crecimiento del patógeno, fuese *F. oxysporum* o *F. equiseti*. Esto pudo ser observado incluso hasta días posteriores a los 10 de evaluación. Situación en la que probablemente podría estar jugando un papel muy importante el antibiótico flavipina (Bleoju, 2007). Lo que sugiere que el mecanismo de acción de éste y/o probablemente de otros compuestos antifúngicos, bien pueden ser aprovechados y combinados con especies antagónicas de mayor clase para lograr un control más efectivo de ambos patógenos.



**Fotografías 15-21.** Cultivos duales a temperatura de 16°C, mostrando la clase 2 alcanzada por las tres especies de *Trichoderma* y la completa invasión de *G. roseum* por el patógeno.



**Fotografías 22-28.** Cultivos duales a 25°C, observándose un desarrollo muy favorable de la especie patógena y el crecimiento clase 2 de las tres especies de *Trichoderma*. Además se aprecia el halo antifúngico creado por la especie *Epicoccum purpurascens*.



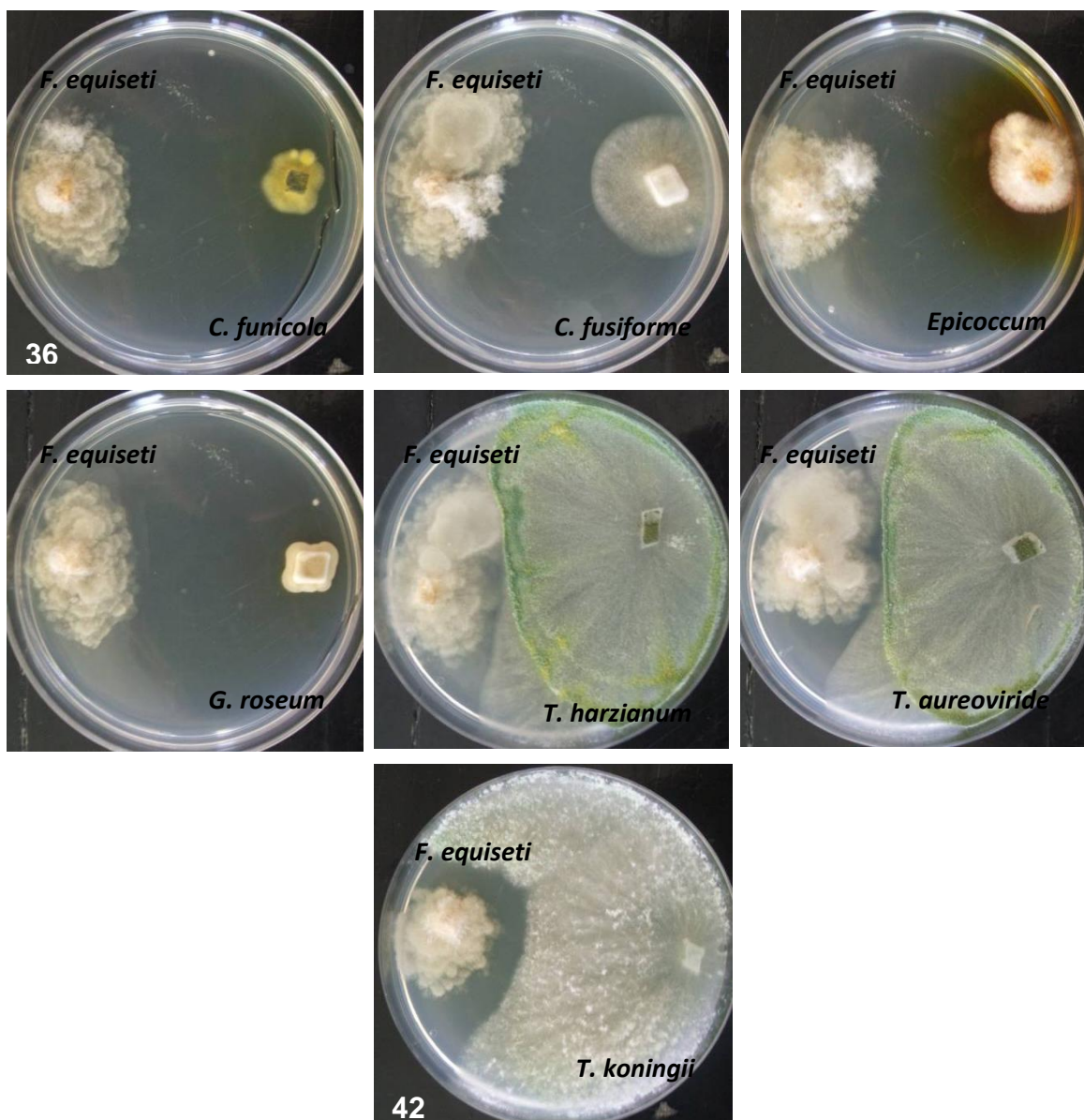
**Fotografías 29-35.** Cultivos duales a 30°C, donde las tres especies de *Trichoderma* muestran clase 2, destacando la especie *T. koningii*.

Para el caso de las cajas donde se trataba del patógeno *F. equiseti*, fue observada una situación muy similar a la que se presentó con *F. oxysporum*, destacando nuevamente el buen desarrollo y esporulación de las tres especies de *Trichoderma* a temperaturas de 16°C (Fotografías 36-42), 25°C (Fotografías 43-49) y 30°C (Fotografías 50-56), las cuales a partir de los 7 días ya habían alcanzado un grado 2 en la escala de clases, limitando de forma favorable el crecimiento del patógeno.

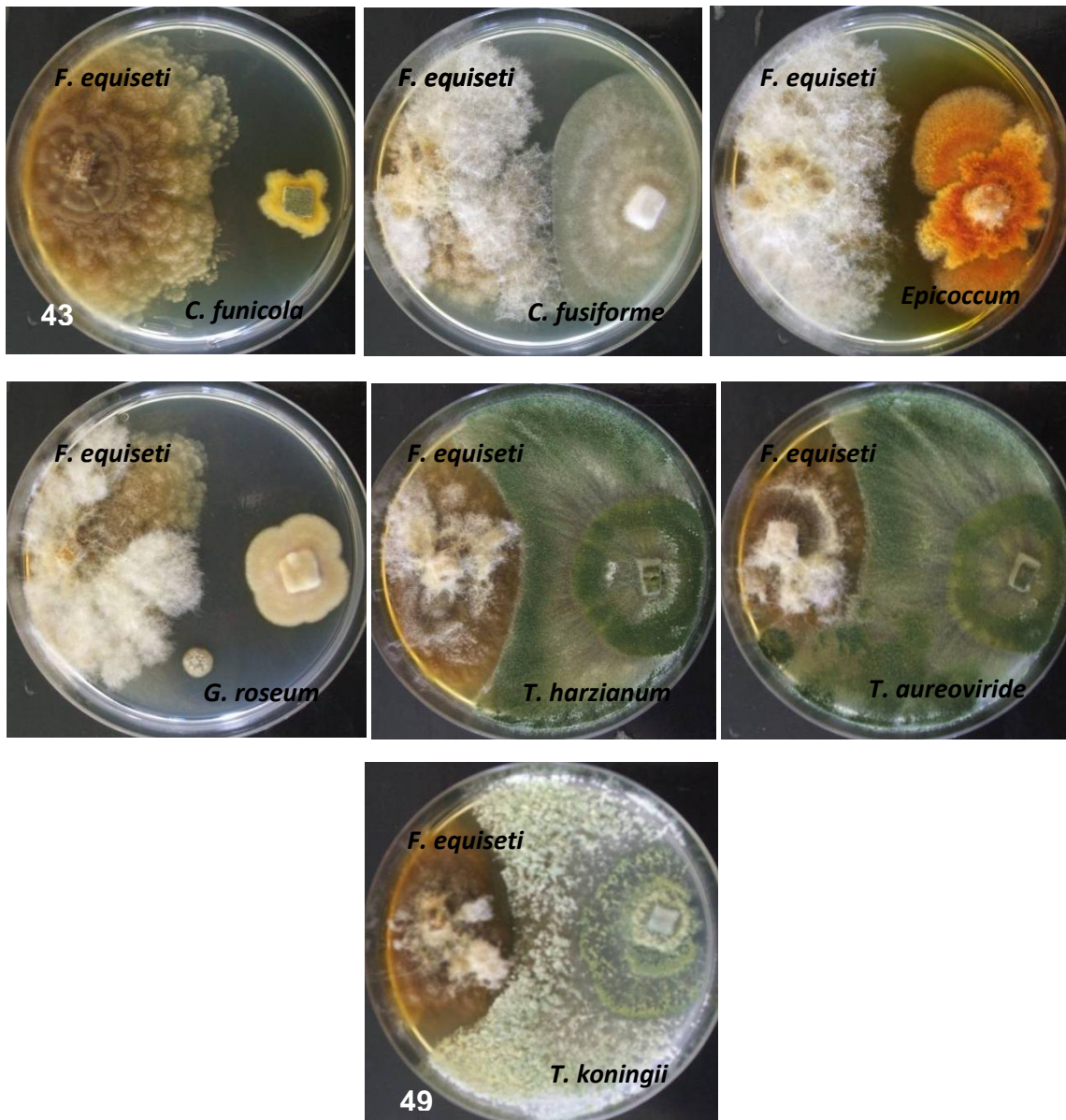
Únicamente a temperatura de 16°C (Fotografías 36-42) fue apreciable la dificultad de crecimiento tanto para el patógeno, como para las especies *C. funicola*, *C.*

*fusiforme*, *E. purpurascens* y *G. roseum*. En temperaturas de 25°C (Fotografías 43-49) y 30°C (Fotografías 50-56) el patógeno tomó ventaja contra dichas especies alcanzando a ocupar el 50% o más, de la superficie total del medio llegando a tornarse hasta en clase 4 algunos de ellos.

Así también siguió conservándose la característica del halo antifúngico formado por la especie de *E. purpurascens*, zona a partir de la cual no es observado el crecimiento de estructuras de la especie patógena, esto puede apreciarse mejor a temperatura de 25°C (Fotografías 43-49), temperatura a la que dicho organismo alcanzó un mayor y más competitivo crecimiento, llegando casi a igualarse con la especie patógena.



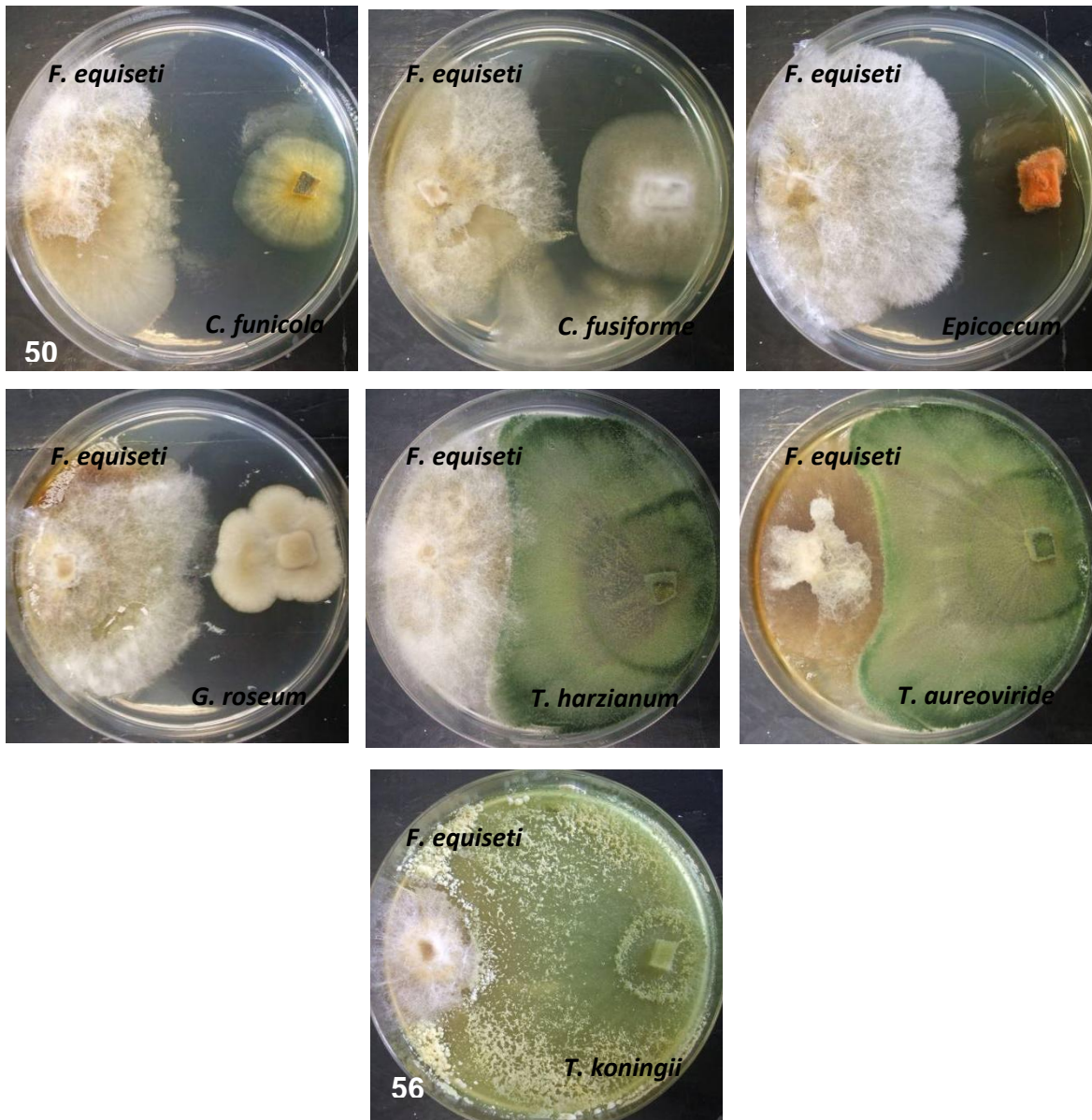
**Fotografías 36-42.** Cajas de cultivo dual a temperatura de 16°C, mostrando lento crecimiento del patógeno y la clase 2 alcanzada por las especies de *Trichoderma*.



**Fotografías 43-49.** Cajas de cultivo dual a temperatura de 25°C, en las que se observa que dicha temperatura favorece el crecimiento de la especie patógena. Además muestra el característico halo antifúngico formado por la especie *E. purpurascens*.

A 30°C guarda especial atención la participación de *T. koningii* quien ocupó una amplia zona de la superficie del medio de cultivo impidiendo por completo el crecimiento de la especie patógena (Fotografías 50-56).





**Fotografías 50-56.** Cajas de cultivo dual a 30°C donde se aprecia la clase 2 alcanzada por las especies de *Trichoderma*, destacando la especie *T. koningii*.

Cabe mencionar que días posteriores a los de evaluación se logró percibir que en las cajas que contenían a las especies de *T. harzianum*, y a ambos patógenos, fuese *F. oxysporum* o *F. equiseti*, estos últimos comenzaron, aunque con dificultad a ingresar en zonas que ya estaban ocupadas por *T. harzianum*, comportamiento que ha sido definido como micoparasitismo inverso, es decir, la especie patógena ha conseguido la habilidad para contraatacar a especies de *Trichoderma*.

Pues, en las especies de *Fusarium*, se ha determinado que muestran insensibilidad al antibiótico 2,4-DAPG (diacetilfloroglucinol) producido por algunas especies de *Trichoderma*, y esto aunado a la producción de toxinas como ácido fusárico, ácido piridina-carboxílico y cianuro, interfieren en la biosíntesis de glucanasas, quitinasas y antibióticos en especies de *Trichoderma*.

El motivo principal por el cual se cree que surge esta condición, es porque el patógeno ha coevolucionado junto con el agente biocontrolador (Duffy *et al*, 2003), lo cual podría explicarse debido al gran uso generalizado y constante de la especie de *T. harzianum* para el control de enfermedades. Es por ello importante también que dentro de las prácticas de control biológico se combine el uso de diferentes especies de agentes biocontroladores y de otras prácticas.

En las especies de *T. koningii* y *T. aureoviride* no se observó la situación antes descrita, sino por el contrario estas especies sí lograron detener por completo el crecimiento del patógeno.

De forma similar se comportó la especie *E. purpurascens*, la cual generó un definido halo antifúngico que limitó el desarrollo de las especies patógenas.

Ello refleja la posibilidad de tener a tres especies potenciales como agentes de control contra los fitopatógenos *F. oxysporum* y *F. equiseti* asociados a la “secadera” del chile en la localidad El Salto.

Es importante agregar que ninguna de estas dos últimas especies de *Trichoderma*, mostró un sobrecrecimiento en la especie patógena, empero, mostraron limitar el crecimiento de la especie, por lo que puede sugerirse que el principal mecanismo de control es mayor por competencia que por contacto directo o por el efecto de compuestos antifúngicos (El-Katatny *et al*, 2006).

Aún cuando ninguna de las especies biocontroladoras logró alcanzar una clase 1 se considera al igual que otros autores que las especies *T. koningii* y *T. aureoviride* poseen una buena capacidad micoparásitica (Benítez *et al*, 2004; El-Katatny *et al*, 2006; Kolombet *et al*, 2001; Ochoa, 2002; Rojo *et al*, 2007). Los cuales además han reportado una disminución de la enfermedad hasta en un 65% en condiciones de invernadero (Cruz, 2000; Kolombet *et al*, 2001).

*T. koningii* ha reportado incrementar la productividad de las plantas inoculadas hasta en un 300% (Benítez *et al*, 2004).

Refiriendo que dicho efecto se debe a la producción de moléculas tipo citocininas, zeatina y giberelinas GA3 que estimulan el crecimiento de las plantas, así como la liberación de ácidos orgánicos que solubilizan fosfatos, magnesio, fierro y manganeso haciéndolos más disponibles para la planta, y a ésta más saludable y por tanto menos propensa al ataque por patógenos (Benítez *et al*, 2004; Donoso *et al*, 2008; Guigón y González, 2004; Ochoa, 2008).

Para pruebas específicas en plántulas de chile se han observado incrementos en la emergencia, tamaño, área foliar, número de flores y peso seco de las plantas inoculadas con especies de *Trichoderma* (Guigón y González, 2004).

## IV. CONCLUSIONES

- La técnica de dilución en serie mostró ser una técnica apropiada para el aislamiento de hongos de suelo, reflejando así la densidad de población de las especies.
- A partir de la técnica de dilución en serie es posible aislar una amplia diversidad de especies fungosas, las cuales pueden ser manejadas según nuestro interés.
- El medio de cultivo idóneo para el aislamiento de hongos en los suelos de estudio fue V8.
- Los hongos fitopatógenos asociados a la “secadera” en la localidad El Salto, Zacatecas fueron *Fusarium oxysporum* y *F. equiseti*.
- Las especies de *Trichoderma koningii* y *T. aureoviride* mostraron las mejores características antagónicas contra las especies fitopatógenas de *Fusarium oxysporum* y *F. equiseti*.
- Ningún agente de biocontrol mostró clase 1 según la escala de clases a los 10 días de evaluación.
  
- Se acepta que a partir del aislamiento de una gran diversidad de hongos de suelo, fueron encontrados los hongos asociados a la enfermedad y a sus posibles agentes de control.
- Se acepta que el uso de microorganismos con características antagónicas limita el crecimiento de los hongos asociados a la “secadera”.

## V. REFERENCIAS

1. Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. 5a. ed. Academic Press, Inc., California, USA. 803 p.
2. Alabouvette, C., C. Olivain, Q. Migheli and C. Steinberg. 2009. Microbiological control of soil-borne phytopathogenic fungi with special emphasis on wilt-inducing *Fusarium oxysporum*. New Phytologist 184: 529-544.
3. Altieri, M. A. 1999. The ecological role of biodiversity in agroecosystems. Agriculture, Ecosystems and Environment 74: 19-31.
4. Barnett, H. L. and B. B. Hunter. 1987. Illustrated genera of imperfect fungi. 4a. ed. Macmillan Publishing, New York, USA. 218 p.
5. Bell, D. K., H. D. Wells and C. R. Markham. 1982. In vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Ecology and Epidemiology 72 (4): 379-382.
6. Benítez, T., A. M. Rincón, M. C. Limón and A. C. Codón. 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. International Microbiology 7: 249-260.
7. Blanco-Labra A. y C. Aguirre M. 2002. Proteínas involucradas en los mecanismos de defensa de las plantas. Acta Universitaria. Universidad de Guanajuato 12 (3): 03-28.
8. Bleoju, M. 2007. Estudio de estabilidad y algunas propiedades tecnológicas de pigmentos sintetizados por *Epicoccum nigrum*. Tesis de Maestría. Universidad de Burgos, España.
9. Brimner, T. A. and G. J. Boland. 2003. A review of the non-target effects of fungi used to biologically control plant diseases. Agriculture, Ecosystems and Environment 100: 03-16.
10. Brown, M. E. and J. E. Beringer. 1983. The potencial of antagonist for fungal control. Agriculture, Ecosystems and Environment 10: 127-141.
11. Buée, M., W. De Boer, F. Martin, L. van Overbeek, and E. Jurkevitch. 2009. The rhizosphere zoo: An overview of plant-associated communities of microorganisms, including phages, bacteria, archaea, and fungi, and of some their structuring factors. Plant Soil 321: 189-212.
12. Burmeister, H. R., G. A. Bennett, R. F. Vesonder and C. W. Hesseltine. 1974. Antibiotic produced by *Fusarium equiseti* NRRL 5537. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 5: 634-639.
13. Campbell, R. 1989. Biological control of microbial plant pathogens. University of Cambridge. 217 p.
14. Carrillo, L. 2003. Los hongos de los alimentos y forrajes. Universidad Nacional de Salta, 128 p. Disponible en: <http://www.unsa.edu.ar/matbib/micologia.htm>. Consultado en diciembre de 2010.
15. Centro de Educación y Tecnología. 2004. Manual producción y utilización de *Trichoderma spp.* Fundación para la Innovación Agraria, Santiago, Chile. 26 p.
16. Cervantes, M. J. 2003. Fundamentos del control biológico en México. Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, División de ciencias biológicas de la salud, Departamento de producción agrícola y animal. 263 p.
17. Cook, R. J. and K. F. Baker. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. The American Phytopathological Society, Minnesota, USA. 539 p.
18. Cruz, M. L. C. 2007. Estandarización del proceso de producción masiva del hongo *Trichoderma koningii* Th003 mediante fermentación bifásica a escala

- piloto. Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias, Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
19. Dhingra, O. D. and J. B. Sinclair. 1985. Basic plant pathology methods. CRC Press, Inc., Florida, USA. 355 p.
  20. Donoso, E., G. A. Lobos y N. Rojas. 2008. Efecto de *Trichoderma harzianum* y compost sobre el crecimiento de plántulas de *Pinus radiata* en vivero. *Bosque* 29 (1): 52-57.
  21. Duffy, B., A. Schouten and J. M. Raaijmakers. 2003. Pathogen self-defense: Mechanisms to counteract microbial antagonism. *Annual Review of Phytopathology* 41: 501-538.
  22. El-Katatny, M. H., H. M. A. Abdelzaher and M. A. Shoukamy. 2006. Antagonistic actions of *Pythium oligandrum* and *Trichoderma harzianum* against phytopathogenic fungi (*Fusarium oxysporum* and *Pythium ultimum* var. *ultimum*). *Archives of Phytopathology and Plant Protection* 39 (4): 289-301.
  23. FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations). Estadísticas. 2009. Disponible en: <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>. Consultado en febrero de 2011.
  24. Fernández, C., G. C., V. Sosa, J. L. León L. y J. León C. 2004. Colecciones biológicas de los Centros de Investigación CONACYT. México, D. F. 126 p.
  25. Ferrera-Cerrato, R. y A. Alarcón. 2007. Microbiología Agrícola: hongos, bacterias, micro y macrofauna, control biológico y planta microorganismo. Trillas, México. 568 p.
  26. Gilchrist, S. L., G. Fuentes D., C. Martínez C., R. M. López A., E. Duveiller, R. P. Singh, M. Henry e I. García A. 2005. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. 2a. ed. CIMMYT, México, D.F. 68 p.
  27. Gnanamanickam, S. S. 2002. Biological control of crop diseases. Marcel Dekker Inc., New York, USA. 468 p.
  28. González, C. M., I. Torres P. y H. Guzmán M. 2002. Patógenos involucrados en la márchitez del chile. *Proceedings of the 16th International Pepper Conference*. Tamaulipas, Mexico.
  29. González, C. M. M., E. Villordo P., I. Torres P., F. Delgadillo S., R. Rodríguez G., S. H. Guzmán M., J. L. Pons H., R. G. Guevara G., L. Guevara O. 2006. Disponible en: [http://octi.guanajuato.gob.mx/octigto/formularios/ideasConcyteg/Archivos/16022006\\_BUSQUEDA\\_GENOTIPOS\\_RESISTENTES\\_PATOGENOS\\_CHILE.pdf](http://octi.guanajuato.gob.mx/octigto/formularios/ideasConcyteg/Archivos/16022006_BUSQUEDA_GENOTIPOS_RESISTENTES_PATOGENOS_CHILE.pdf). Consultado en febrero de 2011.
  30. González, P. E., M. J. Yáñez M., V. Santiago S. y A. Montero P. 2004. Biodiversidad fungosa en la márchitez del chile y algunos factores involucrados, en Tlacotepec de José Manzano, el Verde, Puebla. *Agrociencia* 38 (6): 653-661.
  31. Guédez, C., C. Castillo, L. Cañizales y R. Olivar. 2008. Control biológico: una herramienta para el desarrollo sustentable y sostenible. *Academia* 7 (13): 50-74.
  32. Guerrero, A. B., M. M. Gonzalez C., I. Torres P., R. Gonzalez G., H. Guzmán M., R. Rodríguez G., E. Villordo P., B. Cabañas C., A. G. Bravo L., L. Olvera G. y R. Rodríguez M. 2004. Diversidad genética de patógenos de raíz en chile (*Capsicum annuum*) en la región norte centro de México. *Primera Convención Mundial del Chile* 67-72 p.
  33. Guigón, L. C. y P. A. González G. 2001. Estudio regional de las enfermedades del chile (*Capsicum annuum* L.) y su comportamiento temporal en el sur de Chihuahua, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 19 (1): 49-56.

34. Guigón, L. C. y P. A. González G. 2004. Selección de cepas nativas de *Trichoderma spp.* con actividad antagónica sobre *Phytophthora capsici* leoniana y promotoras de crecimiento en el cultivo de chile (*Capsicum annuum*). Revista Mexicana de Fitopatología 22 (1): 117-124.
35. Guzmán, M. S. H., I. Torres P., M. González C., M. A. Mora A., M. G. Herrera H. y D. Hernández L. 2004. Análisis preliminar de compuestos fenólicos y capsicinoides en variedades de chile con diferente capacidad pungente. Primera Convención Mundial del Chile. 115-122 p.
36. Hanlin, R. T. 1990. Illustrated genera of Ascomycetes vol. I. APS Press, Minnesota, USA. 263 p.
37. Heydari, A. and M. Pessarakli. 2010. A review on biological control of fungal plant pathogens using microbial antagonists. Journal of biological Sciences 10 (4): 273-290.
38. Hinsinger, P., A. G. Bengough, D. Vetterlein and I. M. Young. 2009. Rhizosphere: biophysics, biogeochemistry and ecological relevance. Plant Soil 321: 117-152.
39. Hoitink, H. A. J. y M. J. Boehm. 2001. Control biológico en comunidades microbianas del suelo: un fenómeno de dependencia de sustrato. Manejo Integrado de Plagas 62: 4-17.
40. Huffaker, C. B. 1986. Introduction to symposium on biological control. Agriculture, Ecosystems and Environment 15: 85-93.
41. INECOL (Instituto de Ecología). 2011. Disponible en: <http://www3.inecol.edu.mx/csmbgbd/index.php/la-biodiversidad-del-suelo/10-biodiversidad-de-los-hongos-fitopatogenos-del-suelo-de-mexico>. Consultado en marzo de 2011.
42. Issac, S. 1992. Fungal-plant interactions. Chapman & Hall, London, England. 418 p.
43. Jauch, C. 1985. Patología vegetal. 3a. ed. El Ateneo, Buenos Aires, Argentina. 320 p.
44. Kiffer, E. and M. Morelet. 2000. The Deuteromycetes Mitosporic Fungi Clasification and generic keys. Science Publishers Inc, USA. 273 p.
45. Kolombet, L. V., S. K. Jigletsova, V. V. Derbyshev, D. V. Ezhov, N. I. Kosareva and E. V. Bystrova. 2001. Studies of mycofungicide, a preparation based on *Trichoderma viride*, for plant infection control. Applied Biochemistry and Microbiology 37 (1): 98-102, traducido desde Prikladnaya Biokhimiya i Mikrobiologiya 37 (1): 110-114.
46. Krishna, K. R. 2005. Mycorrhizas a molecular analysis. Science Publisher, Inc. USA. 316 p.
47. Kubicek, C. P. and G. E. Harman. 1998. Trichoderma and Gliocladium basic biology, taxonomy and genetics vol. I. Taylor & Francis, London, England. 278 p.
48. Lambers, H., C. Mougel, B. Jaillard and P. Hinsinger. 2009. Plant-microbe-soil interactions in the rhizosphere: an evolutionary perspective. Plant Soil 321: 83-115.
49. Lavania, M., P. S. Chauhan, S. V. S. Chauhan, H. B. Singh and C. S. Nautiyal. 2006. Induction of plant defense enzymes and phenolics by treatment with plant growth-promoting rhizobacteria *Serratia marcescens* NBRI1213. Current Microbiology 52: 363-368.
50. Lesur, L. 2006. Manual del cultivo del chile: una guía paso a paso. Trillas. México. 80 p.

51. Luna, R. J. J. y O. Vásquez M. 1996. Perspectivas del mejoramiento genético y la propagación *in vitro* en el cultivo de chile (*Capsicum spp.*). Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma Aguascalientes 17: 2-6.
52. Mojica, M. V., H. A. Luna O., C. F. Sandoval C., B. Pereyra A., L. H. Morales R., N. A. González A., C. E. Hernández L. y O. G. Alvarado G. 2009. Control biológico de la márchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) por *Bacillus thuringiensis*. Revista Internacional de Botánica Experimental 78: 105-110.
53. Mukherjee, P. K., C. S. Nautiyal and A. N. Mukhopadhyay. 2008. Molecular mechanisms of biocontrol by *Trichoderma spp.* Disponible en <http://www.springerlink.com/content/978-3-540-75574-6/#section=215630&page=1&locus=0>. Consultado en diciembre de 2010.
54. Mukerji, K. G. and K. L. Garg. 1988. Biocontrol of plant diseases Vol. II. CRC Press, Inc., Florida, USA. 198 p.
55. Müller, H., C. Westendfor, E. Leitner, L. Chernin, K. Riedel, S. Schmidt, L. Eberl and G. Berg. 2008. Quorum-sensing effects in the antagonistic rhizosphere bacterium *Serratia plymuthica* HRO-C48. FEMS Microbiology Ecology 67: 468-478.
56. Mycology Online\*. 2011. The University of Adelaide, Australia. Disponible en: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(dematiaceous\)/Epicoccum/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(dematiaceous)/Epicoccum/). Consultado en febrero de 2011.
57. Mycology Online\*\*. 2011. The University of Adelaide, Australia. Disponible en: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(hyaline\)/Fusarium/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Fusarium/). Consultado en enero 2011.
58. Mycology Online\*\*\*. 2011. The University of Adelaide, Australia. Disponible en: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(hyaline\)/Fusarium/oxysporum.html](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Fusarium/oxysporum.html). Consultado en enero de 2011.
59. Mycology Online\*\*\*\*. 2011. The University of Adelaide, Australia. Disponible en: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(hyaline\)/Gliocladium/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Gliocladium/). Consultado en enero 2011.
60. Mycology Online\*\*\*\*\*. 2011. The University of Adelaide, Australia. Disponible en: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(hyaline\)/Trichoderma/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(hyaline)/Trichoderma/). Consultado en febrero de 2011.
61. Naraghi, L., A. Heydari, S. Rezaee, M. Razavi, H. Jahanifar and E. M. Khaledi. 2010. Biological control of tomato Verticillium wilt disease by *Talaromyces flavus*. Journal of Plant Protection Research 50 (3): 360-365.
62. NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2011. Disponible en <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Consultado en junio de 2011.
63. Nelson, E. B. 2004. Biological control of Oomycetes and fungal pathogens. Marcel Dekker, Inc. Encyclopedia of Plant and Crop Science, New York, USA. 137-140 p.
64. Nelson, P. E., T. A. Toussoun and W. F. O. Marasas. 1983. Fusarium species An illustrated manual for identification. University of Pennsylvania, USA. 193 p.
65. Ochoa, A. F. A. 2008. Efecto *in vitro* y en invernadero de cepas mejoradas de *Trichoderma spp.* en el control de *Rhizoctonia solani* (Kühn). Tesis de Licenciatura. Facultad de Ciencias Agronómicas, Universidad de Chile.
66. Ochoa, M. M. E. 2002. Antibiosis y Micoparásitismo de cepas nativas de *Trichoderma spp.* (Hyphomycetes: Hyphales), sobre *Mycosphaerella fijiensis* (Loculoascomycetes: Dothideales). Tesis de Maestría. Universidad de Colima, México.



67. Pal, K. K. and B. M. Gardener. 2006. Biological control of plant pathogens. The Plant Health Instructor 1-25 p. Disponible en <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Documents/PHI-BiologicalControl.pdf>. Consultado en diciembre 2010.
68. Palm, C. A., M. J. Swift and P. L. Woomer. 1996. Soil biological dynamics in slash-and-burn agricultura. Agriculture, Ecosystems and Environment 58: 61-74.
69. RaU (Red Académica Uruguaya). 2006. Disponible en: [http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium\\_tom.html](http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium_tom.html). Consultado en diciembre de 2010.
70. Rodríguez, B. L. A. y H. C. Arredondo B. 2007. Teoría y Aplicación del Control Biológico. Sociedad Mexicana de Control Biológico. 303 p.
71. Rodríguez, J., B. V. Peña O., A. Gil M., B. Martínez C., F. Manzo y L. Salazar L. 2007. Rescate *in situ* del chile poblano en Puebla, México. Revista Fitotecnia Mexicana 30 (1): 25-32.
72. Rojo, F., M. Ferez, M. Reynoso, A. Torres and S. Chulze. 2007. Effect of *Trichoderma* species on growth of *Fusarium proliferatum* and production of fumonisins, fusaproliferin and beauvericin. Mycotoxin Research 23 (4): 173-179.
73. SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2010. Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/images/stories/infogramas/100705-monografia-chile.pdf>. Consultado en enero de 2011.
74. Siller, C. J. H. 1999. Situación actual de la industria hortofrutícola en México. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C. Sinaloa, México. 33 p.
75. SMBB (Sociedad Mexicana de Biotecnología y Bioingeniería). Disponible en: [http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA\\_IV/OIV-3.pdf](http://www.smbb.com.mx/congresos%20smbb/veracruz01/TRABAJOS/AREA_IV/OIV-3.pdf). Consultado en marzo de 2011.
76. SMCB (Sociedad Mexicana de Control Biológico). Disponible en <http://www.controlbiologico.org.mx/>. Consultado en febrero de 2011.
77. SMN (Servicio Meteorológico Nacional) Disponible en [http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com\\_content&view=article&id=42&Itemid=75](http://smn.cna.gob.mx/index.php?option=com_content&view=article&id=42&Itemid=75). Consultado en marzo de 2011.
78. Suárez, M. C. L., R. J. Fernández B., N. O. Valero, R. M. Gámez C., y A. R. Páez R. 2008. Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma harzianum* Rifai sobre *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., asociado a la marchitez en maracuyá. Revista Colombiana de Biotecnología 10 (2): 35-43.
79. Trigiano, R. N., M. T. Windham and A. S. Windham. 2008. Plant pathology concepts and laboratory exercises. 2a. ed. CRS Press, Florida, USA. 558 p.
80. Ulloa, M. y R. T. Hanlin. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. The American Phytopathological Society. Minnesota, USA. 672 p.
81. University of Hawaii, Manoa. 2010. Disponible en: [http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/f\\_oxys.htm](http://www.extento.hawaii.edu/kbase/crop/type/f_oxys.htm). Consultado en diciembre de 2010.
82. Velásquez, V. R. y F. Lara V. 2007. Presencia de patógenos en almacigos y semillas de chile (*Capsicum annuum* L.) en Aguascalientes y Zacatecas, México. Revista Mexicana de Fitopatología 25 (001): 75-79.
83. Velásquez, V. R., M. M. Medina A. y L. M. Macías V. 2004. La pudrición de la raíz del chile (*Capsicum annuum* L.) en el norte centro de México. Primera Convención Mundial del Chile. 138-143 p.
84. Watanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of soil and seed fungi. Morphologies of cultured fungi and key to species. 2th ed. CRC Press. USA. 484 p.

## VI. ANEXOS

### Anexo. 1 Normales Climatológicas de la estación meteorológica El Sauz

ESTADO DE: ZACATECAS													
NORMALES CLIMATOLÓGICAS 1971-2000													
ESTACION: 00032018 EL SAUZ, FRESNILLO													
LATITUD: 23°11'00" N. LONGITUD: 103°14'00" W. ALTURA: 2,050.0 msnm													
ELEMENTOS	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ANUAL
<b>Temperatura máxima</b>													
Normal	21.6	23.5	26.5	29.2	31.5	29.4	26.4	25.7	25.0	25.0	23.8	21.8	<b>25.8</b>
Máxima mensual	23.6	26.3	29.9	32.5	33.9	32.1	29.4	28.9	27.4	27.9	26.2	24.9	
Año de máxima	1996	1982	1982	1982	1998	1989	1998	1997	1985	1979	1984	1984	
Máxima diaria	29.0	30.5	35.0	36.0	38.5	40.0	35.0	32.0	39.0	32.5	30.0	29.0	
Años con datos	24	28	30	29	30	27	30	29	28	28	29	23	
<b>Temperatura media</b>													
Normal	11.0	12.3	14.8	17.4	20.2	20.7	19.2	18.7	17.8	16.1	13.5	11.7	<b>16.1</b>
Años con datos	24	28	30	29	30	27	30	29	28	28	29	23	
<b>Temperatura mínima</b>													
Normal	0.4	1.2	3.2	5.7	8.9	12.1	12.0	11.6	10.6	7.2	3.3	1.7	<b>6.5</b>
Mínima mensual	-2.5	-0.8	0.7	3.1	6.9	10.3	10.1	9.6	8.4	4.7	-0.4	-1.7	
Año de mínima	1999	1983	1996	1996	1976	1974	1971	1972	1975	1979	1979	1999	
Mínima diaria	-9.5	-6.5	-5.0	-2.5	0.5	5.5	5.5	4.5	0.5	-1.5	-6.5	-10.5	
Años con datos	24	28	30	29	30	27	30	29	28	28	29	25	
<b>Precipitación</b>													
Normal	19.2	5.2	2.0	1.8	12.8	61.2	99.0	93.3	63.9	30.4	10.9	12.4	<b>412.1</b>
Máxima mensual	157.4	40.2	30.7	12.3	59.6	149.9	276.2	224.4	145.6	87.7	87.4	46.4	
Año de máxima	1992	1990	1997	1988	1983	1985	1976	1973	1973	1996	1976	1985	
Máxima diaria	49.7	26.1	17.7	5.6	25.6	45.9	67.2	60.0	62.8	47.0	31.7	29.9	
Años con datos	27	28	30	29	30	28	30	29	28	28	29	26	
<b>Evaporación Total</b>													
Normal	102.8	132.0	198.7	221.7	238.2	207.4	173.8	157.8	135.6	128.1	107.8	94.5	<b>1,898.4</b>
Años con datos	24	28	30	29	30	27	30	29	27	28	29	24	
<b>Numero de días con lluvia</b>													
Normal	2.5	1.4	0.6	0.8	3.4	9.4	12.9	12.6	9.6	5.6	2.0	2.3	<b>63.1</b>
Años con datos	27	28	30	29	30	28	30	29	28	28	29	26	
<b>Niebla</b>													
Normal	0.8	0.5	0.2	0.2	0.6	0.5	0.8	1.1	2.1	1.3	1.0	0.6	<b>9.7</b>
Años con datos	27	28	30	29	30	28	30	29	28	28	29	24	
<b>Granizo</b>													
Normal	0.0	0.0	0.1	0.1	0.1	0.0	0.2	0.1	0.1	0.1	0.1	0.0	<b>0.9</b>
Años con datos	27	28	30	29	30	28	30	29	28	28	29	24	

## Anexo 2. Fichas informativas de la toma de muestras de los suelos en estudio.

### Toma de muestra de suelos

- Datos generales

Muestra No. 1  
 Localidad Rancho El Salto, Fresnillo, Zacatecas  
 Predio Luis Alberto Valdez  
 Fecha 07 Febrero 2011  
 Coordenadas geográficas 103° 03' 17.5" long. O, 23° 11' 29.69" lat. N  
 Altitud 2088 msnm

- Características de la muestra

Profundidad de la muestra 20 cm.

- Antecedentes del lugar

Período de barbecho Marzo  
 Última especie cultivada Frijol (antes chile)  
 Tiempo por el que se ha cultivado 25 años  
 Sistema de riego Pozo profundo y gravedad  
 Presento algún tipo de daño el cultivo si( x ) no( )  
 Apariencia general de la planta enferma Tristeza y marchitamiento en chile  
 Período en que ataco a la planta Junio y julio  
 Órganos afectados Hojas y fruto  
 Tipo de síntoma:

Plesionecrosis	x
Holonecrosis	x
Hipoplasia	
Hiperplasia	

### Toma de muestra de suelos

- Datos generales

Muestra No. 2  
 Localidad Rancho El Salto, Fresnillo, Zacatecas  
 Predio Luis Alberto Valdez  
 Fecha 07 Febrero 2011  
 Coordenadas geográficas 103° 03' 16.85 long. O, 23° 11' 20.73" lat. N  
 Altitud 2090 msnm

- Características de la muestra

Profundidad de la muestra 20 cm.

- Antecedentes del lugar

Período de barbecho Marzo  
 Última especie cultivada Frijol (antes chile)  
 Tiempo por el que se ha cultivado 25 años  
 Sistema de riego Pozo profundo, por gravedad  
 Presento algún tipo de daño el cultivo si( x ) no( )  
 Apariencia general de la planta enferma Tristeza y Marchitamiento en chile  
 Período en que ataco a la planta Junio y julio  
 Órganos afectados Hojas y fruto  
 Tipo de síntoma:

Plesionecrosis	x
Holonecrosis	x
Hipoplasia	
Hiperplasia	

### Toma de muestra de suelos

- Datos generales

Muestra No. 3  
 Localidad Rancho El Salto, Fresnillo, Zacatecas  
 Predio Arturo Gurrola  
 Fecha 07 Febrero 2011  
 Coordenadas geográficas 103° 03' 41.88" long. O, 23° 11' 36.28" lat. N  
 Altitud 2085 msnm

- Características de la muestra

Profundidad de la muestra 20 cm.

- Antecedentes del lugar

Período de barbecho Enero y Febrero  
 Última especie cultivada Chile  
 Tiempo por el que se ha cultivado 25 años  
 Sistema de riego Pozo profundo, por gravedad  
 Presento algún tipo de daño el cultivo si ( ) no ( x )  
 Apariencia general de la planta enferma Marchitamiento  
 Período en que atacó a la planta Junio  
 Órganos afectados Hojas y fruto  
 Tipo de síntoma:

Plesionecrosis	x
Holonecrosis	x
Hipoplasia	
Hiperplasia	

### Toma de muestra de suelos

- Datos generales

Muestra No. 4  
 Localidad Rancho El Salto, Fresnillo, Zacatecas  
 Predio Ricardo Valdez  
 Fecha 07 Febrero 2011  
 Coordenadas geográficas 103° 05' 43.14" long. O, 23° 12' 06.37" lat. N  
 Altitud 2069 msnm

- Características de la muestra

Profundidad de la muestra 20 cm.

- Antecedentes del lugar

Período de barbecho Enero y Febrero  
 Última especie cultivada Maíz (antes vid)  
 Tiempo por el que se ha cultivado 35 años  
 Sistema de riego Pozo profundo; por gravedad



### Anexo 3. Modelo de ficha electrónica morfológica para especies fungosas.

#### 17. *Bipolaris mediocris* (Putterill) Shoem.

##### Taxonomía

Super Reino: *Eukaryota*

Reino: *Fungi*

Subreino: *Dikarya*

Division: *Ascomycota*

Subdivision: *Pezizomycotina*

Clase: *Dothideomycetes*

Subclase: *Pleosporomycetidae*

Orden: *Pleosporales*

Suborden: *Pleosporineae*

Familia: *Pleosporaceae*

Género: *Bipolaris*



**A.** 24 hrs. Detalle de porosporas 100x. **B.** 24 hrs. Germinación bipolar de porosporas 40x. **C.** 48 hrs. Formación de conidióforos 40x. **D.** 48 hrs. Formación de conidias 40x. **E, F.** 72 y 96 hrs. Esporulación. **G.** Detalle de nudos conidiógenos 100x.

**Hospedero**

Chile guajillo (*Capsicum annum*)

**Colecta**

Fresnillo, Zacatecas

**Fecha**

Octubre de 2010

**Técnica de aislamiento**

Aislamiento de semilla por plaqueado en medio de cultivo con 90 segundos de exposición a hipoclorito de sodio.

**Medio de cultivo**

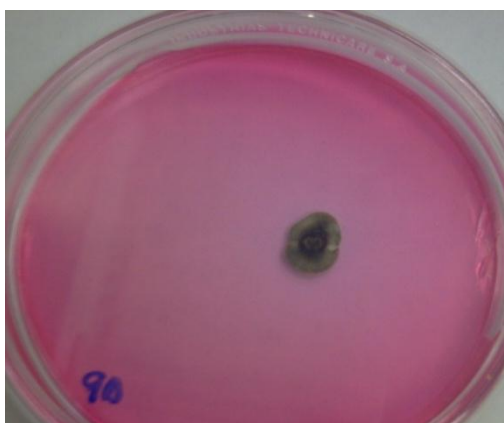
Kerr's (modificado)

**Incubación**

22°C

**Características de la colonia**

Única colonia, de forma irregular de apariencia aterciopelada, coloración grisácea oscura por debajo completamente negra.



**Clave morfológica de género**

**DEMATIACEAE** (según Barnett y Hunter, 1987)

105c Conidia típicamente de 3 o más células (fragmosporas).....	156
156b Conidia exógena.....	157
157b Conidióforos típicamente simples, raramente ramificados.....	159
159b Conidias más anchas, usualmente la longitud no excede 3 a 4 veces la anchura.....	160
160b Conidia de formación distinta de células del conidióforo.....	161
161b Conidióforos simples, separados.....	165
165b Conidióforos largos, típicamente consisten de varias células.....	172
172b conidióforos indeterminados, se elongan sucesivamente después de cada formación conidial.....	174
174b Conidióforo con elongación simpodial.....	176
176b Conidia sin apéndices.....	177
177b Conidias no confinadas al ápice del conidióforo.....	181

181b Conidias rectas o ligeramente estrechas y redondeadas en los extremos.....	183
183c Conidias no catenuladas, multicelulares rectas o ligeramente curvas .....	<b>Drechslera, Bipolaris</b>

**POROSPORAE** (según Kiffer y Morelet, 2000)

1 Conidia simple o fragmiada.....	2
2 Fragmospora.....	7
7 Conidióforos macronematosos.....	8
8 Conidia solitaria (ocasionalmente en cadena.....)	10
10 Conidia terminal y lateral (célula madre politréta).....	15
15 Crecimiento subterminal del conidióforo.....	17
17 Conidia distoseptada o euseptada, uniformemente coloreada.....	19
19 Conidia más bien simétrica (fusoide, cilíndrica).....	20
20 Conidióforos sin o poco ramificados, a menudo geniculados.....	21
21 Hilo poco diferenciado, a menudo integrado con el contorno de la conidia.....	22
22 Cicatriz del poro menos marcada en los conidióforos geniculados.....	23
23 Conidia fusoide con germinación bipolar, o sea por las células de los extremos.....	<b>Bipolaris</b>

**Clave morfológica de especie** (según Sivanesan, 1987)

1 Conidia lisa con o sin un hilo muy protuberante.....	2
2 Conidia sin hilo muy protuberante.....	4
4 Conidia usualmente de más de 3 distoseptos.....	8
8 Conidia a menudo de más de 6 distoseptos.....	20
20 Conidia a menudo de más de 7 distoseptos.....	27
27 Conidia a menudo de más de 9 distoseptos.....	37
37 Conidia de 5-12 distoseptos.....	38
38 Conidia sin septos acentuado.....	41
41 Conidia no más de 100 $\mu$ m de longitud.....	42
42 Conidia subcilíndrica a elipsoidal elongada, 33-82 (o más de 108 $\mu$ m en algunos cultivos) x 12-18 $\mu$ m.....	<b>B. mediocris</b>

**Descripción del género**

El género *Bipolaris* spp. contiene 48 especies. Las cuales se caracterizan por ser cosmopolitas, la mayoría son parásitos de plantas tropicales y subtropicales, algunas llegan a ser parasitas en humanos, causando queratitis micótica, sinusitis, peritonitis, etc.

Muestran desarrollo simpodial y coloraciones café claro, conidia pseudoseptada dispuesta en un raquis geniculado o en forma de zig-zag. Las conidias son producidas en un poro, por lo que son llamadas porosporas y pueden ser rectas, fusiformes o elipsoidales, redondeadas hacia las puntas, lisas a finamente rugosas y germinan únicamente por los extremos. Su teleomorfo es *Cochliobolus*.

(Mycology Online, 2010; Kiffer y Morelet, 2000)

**Descripción de la especie**

Conidióforos simples o en pequeños grupos, septados, lisos, de tonalidad ligeramente café oliváceo con una célula basal hinchada de 80-150 x 5.5-8  $\mu$ m. Nudos conidiógenos verruculosos. Conidias café amarilláceas, subcilíndricas a elípticamente elongadas, de pared lisa, usualmente rectas aunque algunas veces



ligeramente curvas, amplias en la parte media y estrechándose un poco hacia los extremos redondeados, de 2-11 distoseptos, su tamaño varía desde los 40-108 x 13-18  $\mu\text{m}$  y en cultivo pueden ser de 33-82 x 12-15  $\mu\text{m}$ . Suele ser un habitante común en especies de *Pennisetum spp* (Sivanesan, 1987).

## Glosario

*Catenulado*: Que forma una cadena o semejante a ella.

*Distoseptado*: Tipo de conidio pluricelular en el que cada una de las células se halla rodeada por una pared secundaria gruesa (distosepto), que es fácilmente desprendible de la pared externa del conidio, de manera que cuando se rompe la pared externa del mismo se separan las células de pared gruesa que estaban contenidas en él.

*Euseptada*: Tipo de conidio multicelular en el que las células que lo componen se hallan separadas por septos verdaderos, los que consisten en diafragmas que se unen periféricamente con la pared lateral del conidio.

*Fragmosporas*: Espora de reproducción asexual, multicelular, tabicada (dividida por medio de varios septos).

*Fusoide*: ver fusiforme.

*Fusiforme*: Como un huso agusado en los extremos.

*Geniculado*: Que tiene articulaciones semejantes a rodillas o codos, debido a los cambios de dirección por el crecimiento simpodial.

*Hilo*: Cicatriz en la pared de una espora, que indica su punto de unión al esporóforo, esterigma, etc. El hilo es una estructura distintiva, como un anillo de color oscuro.

*Macronematoso*: Se dice de un conidióforo especializado, que se distingue morfológicamente de las hifas asimilativas en el resto del micelio.

*Politréto*: Tipo de célula conidiógena enteroblástica que produce conidios a través de poros o perforaciones en la pared externa, por los que sobresale la pared interna, la cual constituirá la pared de los conidios formados; estos conidios pueden ser solitarios o en cadena

*Simpodial*: Que tiene o involucra la formación de un aparente eje principal a partir de ejes secundarios sucesivos.

*Verruculoso*: Con la superficie áspera, ornamentada de prominencias diminutas o microscópicas semejantes a verrugas. Si las prominencias o verrugas son más grandes se aplica el término verrugoso.

## Referencias

- Barnett, H. L. y B. B. Hunter. 1987. Illustrated genera of imperfect fungi. 4a. ed. Macmillan Publishing, New York, USA. 218 p.
- Mycology Online. 2010. Disponible en: [http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal\\_Descriptions/Hyphomycetes\\_\(dematiaceous\)/Bipolaris/](http://www.mycology.adelaide.edu.au/Fungal_Descriptions/Hyphomycetes_(dematiaceous)/Bipolaris/) Consultado en julio 2010.
- Kiffer, E. y M. Morelet. 2000. The Deuteromycetes Mitosporic Fungi Clasification and generic keys. Science Publishers Inc, USA. 273 p.
- Sivanesan, A. 1987. Graminicolous species of *Bipolaris*, *Curvularia*, *Drechslera*, *Exserohilum* and their Teleomorphs. C.A.B International Mycological Institute. Wallingford, Inglaterra. 261 p.
- Ulloa M. y R. T. Hanlin. 2006. Nuevo Diccionario Ilustrado de Micología. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota USA. 672 p.