

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA Y NEGOCIOS SAN QUINTÍN



**EFICIENCIA ANTAGÓNICA DE *Trichoderma* sp. ANTE HONGOS
FITOPATÓGENOS AISLADOS DE BERRIES**

TESIS

TESIS PARA OBTENER EL GRADO DE INGENIERA AGRÓNOMA

PRESENTA

PATRICIA RAQUEL ABILES CAZAREZ

SAN QUINTÍN, ENSENADA, BAJA CALIFORNIA, MÉXICO. DICIEMBRE 2023



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE BAJA CALIFORNIA
FACULTAD DE INGENIERÍA Y NEGOCIOS SAN QUINTÍN
CAMPUS ENSENADA



“EFICIENCIA ANTAGÓNICA DE *Trichoderma* sp. ANTE HONGOS
FITOPATÓGENOS AISLADOS DE BERRIES”

TESIS

PARA CUBRIR LOS REQUISITOS NECESARIOS PARA OBTENER EL TÍTULO DE
INGENIERO AGRÓNOMO

PRESENTA

PATRICIA RAQUEL ABILES CAZAREZ

355270

A quien el Comité de Tesis autoriza el trabajo terminal, después de haber efectuado una
revisión minuciosa del mismo y de acuerdo con el Art. 19 del R.G.E.P.E.P, las y los
señores profesores emiten los siguientes votos aprobatorios mediante rubrica:

JORGE LUIS
DELGADILLO ANGELES
DIRECTOR

JULIO CÉSAR CHACÓN
HERNÁNDEZ
CODIRECTOR

JOSÉ GUADALUPE
PEDRO MENDEZ
SINODAL

LAURA DENNISSE
CARRAZCO PEÑA
SINODAL

SALVADOR ORDAZ SILVA
SINODAL

UNIVERSIDAD AUTONOMA
DE BAJA CALIFORNIA



FACULTAD DE INGENIERÍA
Y NEGOCIOS
SAN QUINTIN

“Por la Realización Plena del Ser”

RESUMEN

El cultivo de berries en los últimos años ha ido tomando importancia, ya que se ha registrado un aumento considerable en cuanto a consumo, producción e importación, generando miles de empleos al año. Al ser cultivos de importancia económica hay que tener en cuenta los agentes causales de pérdidas en producción, siendo el principal factor, las enfermedades de raíz que cada vez se vuelven más tolerantes a fungicidas químicos. Por ello, la importancia de buscar alternativas efectivas para el control de estos problemas, por lo que el objetivo de este estudio fue evaluar la capacidad antagonista de *Trichoderma* sp ante seis diferentes cepas de hongos fitopatógenos de berries en la región (*Rhizoctonia* sp., *Botrytis cinerea*, *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum fioriniae*, *Lasiodiplodia* sp. y *Fusarium oxysporum*). Para ello se realizaron confrontaciones de cada hongo fitopatógeno con *Trichoderma* sp más el testigo absoluto. Los tratamientos se distribuyeron completamente al azar, teniendo 13 tratamientos con 3 repeticiones cada uno. Para los enfrentamientos se utilizó el método de siembra dual colocando inóculo en cada extremo de la caja Petri, con medio de cultivo papa, dextrosa y agar. Después de la inoculación, se midió diariamente el crecimiento de cada uno de los hongos para determinar la competencia por espacio, inhibición de crecimiento y la efectividad de antagonismo por parte de *Trichoderma* sp, utilizando un análisis de varianza seguido de comparaciones múltiples de medias por la prueba de Tukey, el cual mostró diferencias significativas en la actividad de inhibición contra los patógenos probados, siendo el mayor porcentaje de inhibición de *Trichoderma* sp contra *B. cinerea* (100.00±0.00) seguido por *Colletotrichum fioriniae* (59.21±3.41), *Fusarium oxysporum* (38.83±22.73), *Lasiodiplodia* sp. (38.51±19.22), *Macrophomina phaseolina* (21.75±5.97) y *Rhizoctonia* sp. (20.92±46.46).

Palabras clave: *Trichoderma*, Antagonismo, Fitopatógenos, Berries, Inhibición.

AGRADECIMIENTOS

A Dios por darme las fuerzas para seguir adelante en los momentos difíciles, gracias, Señor por brindarme protección, guiarme en el camino y por permitirme culminar esta etapa.

A mis Padres por su comprensión, por su esfuerzo y sacrificios día con día para sacarme adelante, gracias por la motivación y su apoyo siempre, este logro también es de ustedes, los amo incondicionalmente.

A mis Hermanos y mi Novio, gracias por el apoyo incondicional, la comprensión y cariño brindado en todo momento, los amo tanto.

A mis Amigos que formaron parte importante en mi formación académica, gracias por tantos bellos momentos que compartimos y por su apoyo durante toda la carrera.

A mis Asesores de tesis, gracias por la paciencia, la orientación, la ayuda y el apoyo en el desarrollo de esta investigación y por brindarme las facilidades para el uso de los equipos, laboratorio, mi aprecio incondicional.

Al laboratorio de Biotecnología Berrymex, por haberme brindado las cepas de los hongos fitopatógenos, muchas gracias.

ÍNDICE

CONSTANCIA DE APROBACIÓN	V
RESUMEN	III
AGRADECIMIENTOS	IV
INDICE DE CONTENIDO	V-VI
ÍNDICE DE TABLAS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	VIII
INTRODUCCIÓN	1-2
OBJETIVO	3
HIPÓTESIS	3
CAPÍTULO 1: MARCO TEÓRICO	4-10
1.1 Taxonomía y genética de <i>Trichoderma</i> sp	5
1.2 Ciclo de vida de <i>Trichoderma</i> sp	6
1.3 Modos de acción de <i>Trichoderma</i> sp	6
1.3.1 Competencia	6
1.3.2 Producción de metabolitos (Antibiosis)	6
1.3.3 Micoparasitismo	6-7
1.3.4 Crecimiento quimiotrófico	7
1.3.5 Adhesión y enrollamiento	7
1.4 Susceptibilidad de <i>Trichoderma</i> sp a pesticidas	7
1.5 Problemática fitopatológica de los hongos colectados	8
1.5.1 <i>Colletotrichum fioriniae</i>	8
1.5.2 <i>Rhizoctonia</i> sp	8-9
1.5.3 <i>Fusarium oxysporum</i>	9
1.5.4 <i>Botrytis cinerea</i>	9
1.5.5 <i>Macrophomina phaseolina</i>	9-10
1.5.6 <i>Lasiodiplodia</i> sp	10
CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS	11-13
2.1 Ubicación	11
2.2 Material fúngico	11
2.3 Medio de cultivo utilizado	12

2.4 Pruebas Antagónicas	12-13
2.5 Porcentaje de inhibición	13-14
2.6 Análisis estadístico	14
CAPÍTULO 3: RESULTADOS	15-16
3.1 Efectividad antagónica de <i>Trichoderma sp</i> sobre hongos fitopatógenos	15-16
CAPÍTULO 4: CONCLUSIÓN	17
CAPÍTULO 5. REFERENCIAS	18-23

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1. Datos de colecta de los hongos fitopatógenos utilizados en los experimentos de antagonismo	11
Tabla 2. Tratamientos evaluados	13
Tabla 3. Grado de antagonismo bajo la escala utilizada por Sookachaoy.....	16

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Crecimiento de hongos fitopatógenos y *Trichoderma* sp en cajas Petri. (A) *Botrytis cinerea*, (B) *Macrophomina phaseolina*, (C) *Rhizoctonia* sp, (D) *Fusarium oxysporum*, (E) *Colletotrichum fioriniae*, (F) *Lasiodiplodia* sp, (G) *Trichoderma* sp .. 12

Figura 2. Porcentaje de antagonismo de *Trichoderma* sp sobre los patógenos 16

INTRODUCCIÓN

Con la evolución de la agricultura han surgido nuevos métodos que ayudan al ser humano a incrementar productividades, algunos de estos métodos son: la elaboración de abonos y plaguicidas sintéticos, equipos para labranza y preparación del terreno, monocultivos, etc. Lamentablemente, el mal uso y empleo intensivo que se le ha dado a estas herramientas ha causado efectos negativos sobre el suelo, en términos generales, su degradación provoca alteraciones en el nivel de fertilidad de este, y consecuentemente, en su capacidad de sostener una agricultura productiva (FAO, 2017). Esta pérdida de fertilidad incluye disminución de microorganismos benéficos en el suelo, los cuales ayudan a combatir enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, principalmente. A su vez, estos hongos han creado resistencia a plaguicidas por el uso desmedido de productos químicos (CROPLIFE, 2017).

Todos los agricultores, se enfrentan al simple hecho de que cada método de control de plagas tiene una vida útil limitada debido a que las plagas evolucionan naturalmente y se vuelven resistentes (CROPLIFE, 2017). Es esto, por lo que el control biológico hace referencia al uso de diferentes organismos que solos o en combinación son capaces de disminuir los efectos deletéreos que causa una población patógena sobre el crecimiento y/o productividad de un cultivo (Pal & Gardener, 2006).

Se ha demostrado experimentalmente que la introducción de antagonistas específicos como *Trichoderma* sp puede reducir la incidencia de una variedad de enfermedades en el suelo (Whipps *et al.*, 1993).

La eficiencia de las cepas de *Trichoderma* como agentes de control biológico se debe a su alta capacidad reproductiva, habilidad para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables, eficiencia en la utilización de nutrientes, capacidad para modificar la rizosfera, fuerte agresividad contra hongos fitopatógenos y gracias a su crecimiento micelial rápido y una abundante producción de esporas, que ayuda a la colonización de diversos sustratos y del suelo, de aquí la importancia de realizar

estudios que comprueben la eficiencia de estos microorganismos como herramientas de control biológico de enfermedades en los cultivos (INTAGRI, 2016).

OBJETIVO

Evaluar la efectividad antagónica de *Trichoderma* sp sobre hongos fitopatógenos que atacan a los diferentes cultivos de berries en el Valle de San Quintín.

HIPÓTESIS.

La cepa de *Trichoderma* sp presentará un alto grado de antagonismo contra al menos uno de los hongos fitopatógenos aislados de berries.

CAPÍTULO 1:

MARCO TEÓRICO

El control biológico de patógenos de plantas ha recibido gran interés debido sustancialmente, a la preocupación creciente por parte de la sociedad acerca del uso de agrodefensivos químicos (Chiriboga H. et al., 2015). En México, el uso de microorganismos en la agricultura se ha incrementado en los últimos años y se pretende que todos estos avances se transfieran a los productores mediante la divulgación de los resultados (Cruz et al., 2021).

Para que un microorganismo pueda ser utilizado para control biológico de plagas o enfermedades debe contar con ciertas características, ser de rápido crecimiento, deben contar con ciclos reproductivos cortos y ser capaces de sobrevivir en el medio, deben ser capaces de adaptarse al entorno donde se aplican y ser competentes con los demás microorganismos (Viera W. et al., 2020).

El género *Trichoderma* es un hongo anaerobio facultativo, cosmopolita que se encuentra en el suelo de casi todas partes del mundo, en especial en los suelos ricos en materia orgánica descomposición, así como en residuos de cultivos donde puede alimentarse también de los nutrientes de otros hongos (Valdés E., 2014). Algunas especies de *Trichoderma* son capaces de producir enzimas quitinasas y glucanasas que ayudan a reducir la germinación de esporas de algunos patógenos, lo que lo hace un excelente hongo antagonista. (Michel et al., 2001).

Los factores que determinaran la adaptación de *Trichoderma* en el suelo serán la presencia de raíces vivas o en descomposición, la proporción de materia orgánica presente en el suelo, la humedad y la cantidad de oxígeno con la que cuente. Los modos de acción de *Trichoderma* sobre los hongos patógenos suele ser muy variada, algunos ejemplos son, micoparasitismo, antibiosis, competencia por nutrientes y espacio, producción de quitinasas (enzimas degradadoras de paredes celulares

compuestas de quitina) e inactivación de algunas enzimas indispensables para el patógeno (Cristancho, 2003).

Además de colonizar las raíces, *Trichoderma* sp se emplea para el combate de hongos fitopatógenos de las semillas, con los objetivos de disminuir la infestación natural que acompaña a la misma, y darle protección en el nicho, una vez sembrada la semilla (Valdés, 2014).

1.1 Taxonomía y genética

El género *Trichoderma* se ubica en la Clase Hyphomycetes, Orden Moniliales, Familia: Moniliaceae (Villegas, 2005).

Las especies del género *Trichoderma* son un grupo de derivados clonales de *Hypocrea* que han perdido la capacidad de completar un ciclo sexual (Kuhls et al, 1996).

Rifai (1969) revisó el género *Trichoderma* después que se introdujo por Persoon y propuso nueve especies agregadas: *Trichoderma pilulifera* Webster & Rifai, *Trichoderma polysporum* (Link ex Pers) Rifai, *Trichoderma hamatum* (Bon) Bain, *Trichoderma koningii* Rifai, *Trichoderma aureoviride* Rifai, *Trichoderma harzianum* Rifai, *Trichoderma longibrachiatum* Rifai, *Trichoderma pseudokoningii* Rifai y *Trichoderma viride* Pers ex S. F Gray.

La pared celular de los hongos del género *Trichoderma* está compuesta principalmente por quitina y glucano, el micelio es septado y su reproducción es asexual produciendo conidios como estructuras reproductivas, presenta fiálides simples o en grupo, sus conidióforos son hialinos y los conidios miden entre 3 y 5 µm de diámetro color verde regularmente, también tiene la capacidad de producir clamidosporas (Martínez, Infante y Reyes, 2013).

1.2 Ciclo de vida.

La esporulación asexual ocurre como conidios unicelulares, generalmente verdes, (típicamente de 3 a 5 µm de diámetro) que se liberan en grandes cantidades. También se forman clamidosporas intercalares en reposo, éstas también son unicelulares, aunque dos o más clamidosporas pueden fusionarse (Harman y Kubicek, 1998).

Ya que *Trichoderma* no presenta etapa de meiosis, se puede observar una alta variación cromosómica entre cepas. Por lo regular, suelen encontrar gran cantidad de núcleos en las células de *Trichoderma*, que pueden variar de acuerdo con factores genéticos, mutaciones, entre otros procesos. De aquí proviene la amplia diversidad genética en especies silvestres. (Murrieta D., 2002)).

1.3 Modos de acción.

1.3.1 Competencia:

Debido a la rápida tasa de desarrollo de *Trichoderma* en la rizósfera se puede considerar un excelente competidor por espacio y nutrientes, ya que, al ocupar un gran espacio en su habitat, no permite el desarrollo de otros microorganismos. (INTAGRI, 2016).

1.3.2 Producción de metabolitos (Antibiosis):

Trichoderma es capaz de producir sustancias químicas orgánicas volátiles y no volátiles, que pueden llegar a provocar inhibición en el desarrollo de ciertos de microorganismos (INTAGRI, 2016).

1.3.3 Micoparasitismo:

En este proceso *Trichoderma* puede producir enzimas líticas extracelulares como; quitinasas, glucanasas y proteasas que degradan las paredes celulares de otros

microorganismos provocado así la penetración de *Trichoderma* hacia el patógeno, a esta etapa se le reconoce como actividad lítica (INTAGRI, 2016).

1.3.4 Crecimiento quimiotrófico:

El crecimiento quimiotrófico es el dirigido hacia un estímulo químico percibido (Chet e Inbar, 1994). En la etapa que *Trichoderma* reconoce al patógeno, este comienza a desarrollar las hifas hacia donde detecta (por estímulo químico) al patógeno.

1.3.5 Adhesión y enrollamiento:

Trichoderma es capaz de adherirse al patógeno u hospedante debido a la formación de estructuras similares a apresorios que envuelven a este, sin embargo, esta adherencia es posible debido a la asociación de un azúcar de la pared de *Trichoderma* con una lectina presente en la pared del patógeno (Martínez et al., 1994).

1.4 Susceptibilidad a pesticidas

Trichoderma spp posee resistencia innata a la mayoría de los productos químicos agrícolas, incluidos los fungicidas, aunque las cepas individuales difieren en su resistencia. Algunas líneas han sido seleccionadas o modificadas para ser resistentes a productos químicos agrícolas específicos. La mayoría de los fabricantes de cepas de *Trichoderma* para el control biológico tienen extensas listas de susceptibilidades o resistencia a una variedad de pesticidas (Harman, 2001).

Estos hongos benéficos se encuentran entre los microorganismos más resistentes a los químicos sintéticos y a toxinas naturales y son capaces de degradar rápidamente algunos de ellos (Koppert, 2018).

1.5. Problemática fitopatológica de los hongos colectados.

Los hongos fitopatógenos de berries pueden causar diferentes sintomatologías y daños en las plantas. Los daños pueden ser en tanto en las partes aéreas como en la zona de raíces, la importancia radica principalmente en saber reconocer el patógeno causal de la enfermedad para saber tomar medidas oportunas en su manejo.

1.5.1 *Colletotrichum* sp.

Puede atacar todas las partes de las plantas. Las más afectadas son las aéreas (tallos, brotes tiernos, inflorescencias, frutos en formación y en estados avanzados de desarrollo) (Nieto, 2013).

Uno de los síntomas causados por las diferentes especies del género *Colletotrichum*, se conoce comúnmente como antracnosis, se manifiesta por la aparición de manchas oscuras en hojas y frutos, con formas redondeadas u ovaladas, con tamaños que pueden oscilar entre un diámetro de 1 ó 2 mm hasta 5 cm; en algunas ocasiones, las lesiones se presentan ligeramente sumidas o poseen un contorno levemente elevado (Agrios, 1995).

En las raíces provocan pudriciones que resultan en marchitez de la planta; estos síntomas se pueden confundir con los causados *Phytophthora* (BASF, 2020).

1.5.2 *Rhizoctonia* sp.

Este hongo es capaz de sobrevivir durante mucho tiempo en el suelo, debido a las estructuras de resistencia que forma llamados esclerocios, lo que se vuelve un problema para el manejo cultural o de desinfección del suelo, previo al establecimiento del cultivo. Este patógeno suele afectar prácticamente todos los órganos de la planta. Las hifas de este hongo son regularmente color marrón, ramificadas casi en ángulo recto. Los primeros síntomas de daño por esta enfermedad suelen aparecer en las hojas primarias observándose manchas necróticas pequeñas con centro marrón, en

condiciones óptimas para el desarrollo del patógeno estas machas logran fusionarse y dañar hojas completas (DGSV, 2020a).

1.5.3 *Fusarium oxysporum*.

Este hongo presenta fiálides en forma de botella, puede ser corta o ramificada. Las macroconidias por lo regular son en forma de medialuna. Y pueden producir estructuras de resistencia llamadas clamidosporas. La marchitez por esta enfermedad puede aparecer en cualquier etapa del cultivo, afectando los tejidos internos de la planta. Los síntomas principales suelen ser; muertes de hojas viejas, marchitez del follaje, achicamiento de la planta, etc., (DGSV, 2020b).

1.5.4 *Botrytis cinerea*.

Es un hongo polífago con un amplio rango de hospedantes y de amplia difusión mundial, siendo el agente causal de la podredumbre gris en diversos cultivos de importancia económica. Se han reportado más de 1400 especies de plantas atacadas por *Botrytis* (Fillinger & Elad, 2016).

Como síntoma principal de esta enfermedad tenemos la podredumbre color marrón a marrón oscuro con bordes irregulares en flores y frutos (cuerpos blandos de la planta), la coloración del daño puede variar de acuerdo con la especie afectada (SNVMP, 2015).

1.5.5 *Macrophomina phaseolina*.

Este hongo tiene la capacidad de formar estructuras de resistencia llamados microesclerocios que suelen ser globosos y de coloración negruzca (SNVMP, 2015).

El patógeno se ve muy favorecido por factores predisponentes como periodos cálidos y secos después de periodos de buenas condiciones de crecimiento. Los microesclerocios sobreviven en el suelo durante varios años (Herbario virtual de Fitopatología, 2022). Las plantas inicialmente muestran síntomas no específicos, tales

como menor tamaño de hojas, menor altura y otros relacionados a pérdida de vigor. A partir de floración aparecen los síntomas más característicos de la enfermedad. En los tejidos epidérmicos y subepidérmicos de las raíces y parte inferior del tallo se aprecia una coloración grisácea, provocada por la presencia de numerosos microesclerocios oscuros (SNVMP, 2015).

1.5.6 Lasiodiplodia sp.

Este hongo clasifica en los Ascomicetos, presenta estado sexual teleomorfo poco común. La característica principal de este hongo es la presencia de picnidios y -estriaciones longitudinales en los conidios. Tiene ascas bitunicadas con 7-8 esporas aproximadamente, con conidióforos hialinos y septados y en raras ocasiones pueden ser ramificados. Los conidios tienen 1 septo regularmente y paredes celulares gruesas. Dentro de las enfermedades provocadas por el patógeno están; tizón de la hoja, pudrición de raíz, gomosis, cáncer, entre otros (Picos et al., 2015).

CAPÍTULO 2: MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Ubicación

La presente investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Ciencias Biológicas de la Facultad de Ingeniería y Negocios San Quintín de la Universidad Autónoma de Baja California Campus Ensenada, ubicada en el Ejido Padre Kino, carretera Transpeninsular Km 180.2, municipio de San Quintín, Baja California.

2.2 Material fúngico

Se utilizó un aislamiento nativo de *Trichoderma* sp, colectado previamente en el municipio de San Quintín y proporcionado por la Facultad de Ingeniería y Negocios San Quintín. Las cepas de hongos fitopatógenos (Tabla 1) fueron facilitadas por el Laboratorio de Biotecnología de Berrymex ubicado en el Municipio de San Quintín, los cuales fueron aislados de diferentes campos de producción dentro del valle y afectando cultivos de berries.

Tabla 1. Datos de colecta de los hongos fitopatógenos utilizados en los experimentos de antagonismo.

Código	Género/especie	Cultivo	Lugar de colecta	Fecha
LBB-40	<i>Rhizoctonia</i> sp	Frambuesa	Ej. Díaz Ordaz, BC.	2018
LBB-41	<i>Botrytis cinerea</i>	Frambuesa	Ej. Díaz Ordaz, BC.	2016
LBB-42	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	Arándano	Ej. Papalote, BC.	2018
LBB-43	<i>Macrophomina phaseolina</i>	Fresa	Ej. Emiliano Zapata, BC.	2017
LBB-48	<i>Fusarium oxysporum</i>	Frambuesa	Ej. Padre Kino, BC.	2019
LBB-126	<i>Colletotrichum fiorinae</i>	Fresa	Ej. San Jacinto, BC.	2021

2.3 Medio de cultivo utilizado

Se utilizó el Agar Dextrosa Papa (PDA) por sus siglas en inglés, para evaluar el crecimiento libre de cada uno de los hongos utilizados y para realizar los bioensayos de antagonismo. El medio se preparó según las indicaciones del fabricante, agregándole 15 g/L de Agar Bacteriológico como agente gelificante adicional, se diluyó en agua destilada y se esterilizó por 15-20 minutos a 121°C. Una vez esterilizado el medio de cultivo, se pasó a la campana de flujo laminar previamente desinfectada con luz ultravioleta durante 30 minutos, y se vertió en cajas Petri estériles.

2.4 Pruebas Antagónicas

Para evaluar la capacidad antagónica de *Trichoderma* sp sobre los hongos fitopatógenos se utilizó un diseño completamente al azar, con tres repeticiones cada uno (Tabla 2), cada caja Petri con medio de cultivo se consideró como una unidad experimental. Como Testigo se evaluó el desarrollo de cada uno de los hongos, tanto de *Trichoderma* sp como de los fitopatógenos en cajas Petri con PDA de manera separada (Figura 1).

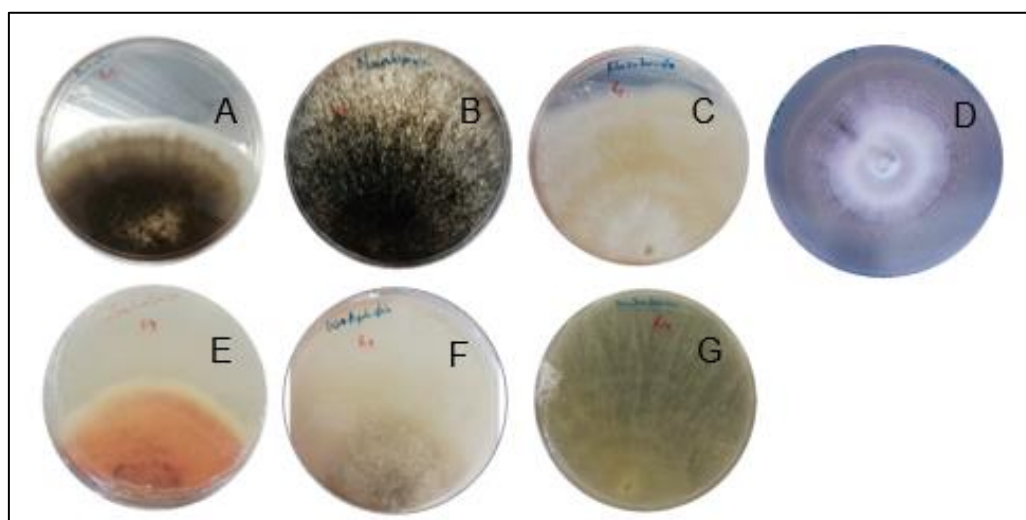


Figura 1. Crecimiento de hongos fitopatógenos y *Trichoderma* sp, en cajas Petri. (A) *Botrytis cinerea*, (B) *Macrophomina phaseolina*, (C) *Rhizoctonia* sp., (D) *Fusarium oxysporum*, (E) *Colletotrichum fioriniae*, (F) *Lasiodiplodia* sp., (G) *Trichoderma* sp.

Tabla 2. Tratamientos evaluados.

Tratamiento	Crecimiento libre/Confrontaciones	Repeticiones
1	<i>Trichoderma</i> sp	3
2	<i>Rhizoctonia</i> sp	3
3	<i>Botrytis cinerea</i>	3
4	<i>Lasiodiplodia</i> sp.	3
5	<i>Macrophomina phaseolina</i>	3
6	<i>Fusarium oxysporum</i>	3
7	<i>Colletotrichum fiorinae</i>	3
8	<i>Fusarium</i> sp	3
9	<i>Trichoderma</i> vs. <i>Rhizoctonia</i> sp	3
10	<i>Trichoderma</i> vs. <i>Botrytis cinerea</i>	3
11	<i>Trichoderma</i> vs. <i>Lasiodiplodia</i> sp	3
12	<i>Trichoderma</i> vs. <i>Macrophomina phaseolina</i>	3
13	<i>Trichoderma</i> vs. <i>Fusarium oxysporum</i>	3
14	<i>Trichoderma</i> vs. <i>Colletotrichum fiorinae</i>	3
15	<i>Trichoderma</i> vs. <i>Fusarium</i> sp	3

Para las pruebas de confrontación, con un asa bacteriológica se tomó micelio de la caja Petri de cada hongo fitopatógeno y se colocó en el borde de la caja Petri, se repite este procedimiento 3 veces con cada uno de los fitopatógenos en crecimiento libre, colocándolos en posición opuesta a *Trichoderma* sp (cultivos duales). Las cajas se incubaron a $28 \pm 2^\circ\text{C}$. Se midió el crecimiento (cm) de ambas colonias cada 24 horas, para registrar el número de días al primer contacto entre el antagonista y el fitopatógeno (Andrade et al., 2019).

2.5 Porcentaje de inhibición

El porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) se calculó mediante la siguiente fórmula: $\text{PICR} = [(r_1 - r_2)/r_1] \times 100$, donde: r_1 es el crecimiento radial del

patógeno (mm) solo (control = sin *Trichoderma* sp); r_2 es el crecimiento radial del patógeno (mm) en presencia de cepas de *Trichoderma* sp (Li et al., 2016; Langa-Lomba et al., 2022). Además, se evaluaron los grados de antagonismo que presentó *Trichoderma* sp en escala de 1-4 utilizada por Sookchaoy (Bogumil et al., 2013), donde 4 significa un grado muy alto (PICR>75), 3 es alto (PICR= 61-75), 2 es moderado (PICR= 51-60) y 1 bajo (51> PICR).

2.6 Análisis estadístico

Se utilizó un diseño completamente al azar con tres repeticiones (una cepa de *Trichoderma* sp y seis hongos fitopatógenos (*Macrophomina phaseolina*, *Lasiodiplodia* sp, *Colletotrichum fioriniae*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia* sp).

Los datos obtenidos no se transformaron ya que se ajustaron a la normalidad, éstos se sometieron a un análisis de varianza seguido de comparaciones múltiples de medias por la prueba de Tukey ($p \leq 0.05$). Se utilizó el software SAS versión 9.0 (SAS, 2002) para todos los análisis estadísticos.

CAPÍTULO 3: RESULTADOS

3.1 Efectividad antagónica de *Trichoderma* sp sobre hongos fitopatógenos

De los enfrentamientos de antagonismo realizados se pudo observar en todos los casos un control de parte de *Trichoderma* sp sobre los hongos fitopatógenos, obteniendo diferencias significativas en la actividad de inhibición contra los diferentes patógenos probados, *Macrophomina phaseolina*, *Lasiodiplodia* sp, *Colletotrichum fiorinae*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia* sp.

El mayor porcentaje de inhibición de *Trichoderma* sp fue observado contra *B. cinerea*, obteniendo un 100% de inhibición (100.00 ± 0.00) superando los porcentajes reportados (Calvo et al., 2012), seguido por *Colletotrichum fiorinae* ($59.21 \pm$), *Fusarium oxysporum* (38.83 ± 22.73), *Lasiodiplodia* sp (38.51 ± 19.22), *Macrophomina phaseolina* (21.75 ± 5.97), *Rhizoctonia* sp (20.92 ± 46.46). El mayor porcentaje de antagonismo pudo observarse a las 72 h después de la incubación de los enfrentamientos, debido al rápido desarrollo de *Trichoderma* sp en la caja Petri.

De acuerdo con los porcentajes de inhibición obtenidos *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia* sp, presentaron un antagonismo menor al reportado por Andrade et al. (2019).

Los resultados de antagonismo sobre *Macrophomina* sp son inferiores a los reportados por Sandoval y López (2000), donde se obtuvo un 42% de inhibición sobre el patógeno por parte de *Trichoderma* sp.

El porcentaje de inhibición sobre *Colletotrichum* sp resultó menor al reportado por (Saldaña et al., 2023), obteniendo un promedio de inhibición del 76% de *Trichoderma* sp sobre el patógeno.

La actividad antagónica de *Trichoderma* sp sobre *Lasiodiplodia* sp fue de 38.51 ± 19.22 , coincidiendo con los resultados reportados por (Cambero et al., 2020) sobre antagonismo de *Trichoderma* sp para *Lasiodiplodia* sp.

En referencia a la tabla 3, esta cepa de *Trichoderma* sp presentó un alto grado de antagonismo contra *B. cinerea*, un moderado grado de antagonismo contra *Colletotrichum* sp, mientras que para los demás patógenos presentó un bajo grado.

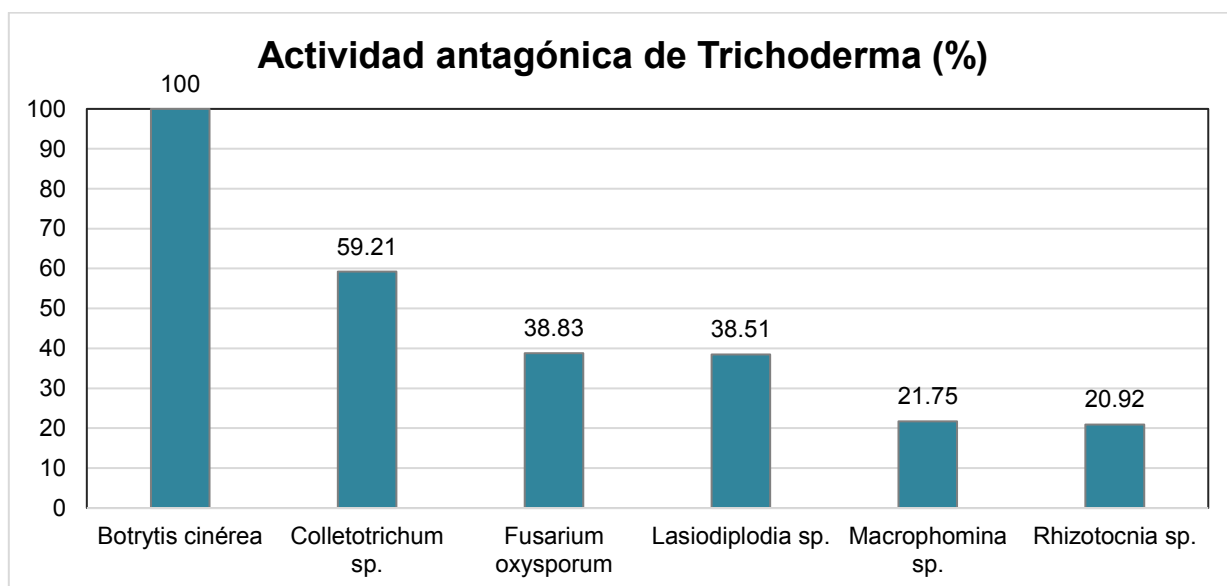


Figura 2. Porcentaje de antagonismo de *Trichoderma* sp sobre los patógenos.

Tabla 3. Grado de antagonismo bajo la escala utilizada por Sookchaoy.

Patógeno	Grado de Antagonismo
<i>Rhizoctonia</i> sp	Bajo
<i>Botrytis cinerea</i>	Muy Alto
<i>Lasiodiplodia</i> sp.	Bajo
<i>Macrophomina phaseolina</i>	Bajo
<i>Fusarium oxysporum</i>	Bajo
<i>Colletotrichum fiorinae</i>	Moderado

CAPÍTULO 4: CONCLUSIÓN

La cepa de *Trichoderma* sp con la que se trabajó en este ensayo mostró actividad antagónica sobre todas las cepas de hongos patógenos utilizados (*Rhizoctonia* sp, *Botrytis cinerea*, *Macrophomina phaseolina*, *Colletotrichum fioriniae*, *Lasiodiplodia* sp y *Fusarium oxysporum*) que se han identificado como las principales enfermedades responsables de pérdidas en producción. Destacando el antagonismo de *Trichoderma* sp sobre *Botrytis cinerea* con control total (100%).

Con este ensayo podemos definir que *Trichoderma* sp presenta potencial como biofungicida sobre estos patógenos, por lo que podría integrarse en programas de manejo integrado de las enfermedades de berries.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. N. Fitopatología. 1995. Guzmán, Ortíz, M. 4ª ed. Editorial Limusa, Noriega. Editores, pp. 530.
- Andrade P., Luna A., Osorio H., Molina E., Landero N., Barrales H. 2019. Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez del chile. Rev. Mexicana de ciencias agrícolas Vol 10, numero 6. Recuperado desde: <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v10n6/2007-0934-remexca-10-06-1259.pdf>
- Martínez B., Infantel D., Reyes Y. 2013. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev. Protección Veg. Vol. 28 No. 1: 1-11. Recuperado desde: rpv01113.pdf (sld.cu)
- BASF. 2020. Esclerotinia (*Sclerotinia* sp.). Recuperado desde: <https://www.agro.basf.es/es/Servicios/Gu%C3%ADa-de-plagas/Enfermedades-f%C3%BANGicas/Enfermedad-Tallo/Esclerotinia/>
- BASF. 2020. Antracnosis. BASF Agricultural Solutions España. Recuperado desde: <https://www.agro.basf.es/es/Servicios/Gu%C3%ADa-de-plagas/Enfermedades-f%C3%BANGicas/Enfermedad-Tallo/Antracnosis/>
- Bogumil A., Paszt L., Lisek A., Trzcinski P., Harbuzov A. 2013. Identification of new *Trichoderma* strains with antagonistic activity against *Botrytis cinerea*. Recuperado desde: <https://www.researchgate.net/publication/275995006> Identification of new *Trichoderma* strains with antagonistic activity against *Botrytis cinerea*
- Calvo J., Rivera G., Orozco S., Orozco R. 2012. AISLAMIENTO Y EVALUACIÓN IN VITRO DE ANTAGONISTAS DE *Botrytis cinerea* EN MORA. Recuperado desde: <https://www.scielo.sa.cr/pdf/am/v23n2/a01v23n2.pdf>

Chet I. & Inbar J. 1994. Biological control of fungal pathogens. *Applied Biochemistry and Biotechnology*.; 48:37-43.

Camero C., Luna G., Rios C., Estrada O., Betancourt A., Camero O. 2020. Evaluación in vitro de antagonistas contra patógenos del fruto de guanabana (*Annona muricata* L.) en Nayarit, México. Recuperado desde: <https://www.scielo.br/j/rbf/a/7xTHcVjkBNf9mBkVt7rDSyL/?format=pdf>

Chiriboga H., Gómez G., Garcés K. 2015. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura (IICA). Protocolos para formulación y aplicación del bio-insumo: trichoderma spp. para el control de enfermedades. Paraguay. Recuperado desde: <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2647/BVE17038725e.pdf;jsessionid=EC0F8411B7030CD83F518B9B56E37C9C?sequence=1>

Cruz-Cárdenas C.I., Zelaya Molina L.X., Sandoval Cancino G., Santos Villalobos S.D.L., Rojas Anaya E., Chávez Díaz I.F., Ruíz Ramírez S. 2021. Utilización de microorganismos para una agricultura sostenible en México: consideraciones y retos. *Rev Mex Cien Agric.* pp. 899-913

Cristancho M. 2003. Las enfermedades del cafeto Colombia. Federación Nacional de Cafeteros. Recuperado desde: <https://biblioteca.cenicafe.org/bitstream/10778/993/9/7.%20Control%20biol%20%b3gico%20de%20enfermedades.pdf>

CROPLIFE. 2017. Manejo de la resistencia. Noviembre 2017. Recuperado desde: <https://www.croplifela.org/es/actualidad/articulos/manejo-de-la-resistencia>

DGSV-CNRF. 2020a. Pudrición de la raíz, *Rhizoctonia solani*. Sader-Senasica. Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Ficha técnica. Tecámac, Estado de México, 10 p. Recuperado

desde:

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600968/Pudrici_n_de_la_ra_z.pdf

DGSV-CNRF. 2020b. Podredumbre de raíces Fusarium spp. (Hypocreales: Nectriaceae) en trigo. Sader-Senasica. Dirección General de Sanidad Vegetal-Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria. Ficha técnica. Tecámac, Estado de México, 18 p. Recuperado desde: [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600884/Podredumbre de ra ces.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/600884/Podredumbre_de_ra_ces.pdf)

FAO (Organización de las naciones unidas para la alimentación y la agricultura). 2017. La contaminación del suelo a examen. Recuperado desde: <https://www.fao.org/news/story/es/item/897487/icode/>

Filinger S. & Elad Y. 2016. *Botrytis* – the Fungus, the Pathogen and its Management in Agricultural Systems. Springer International Publishing Switzerland. Doi: <https://link.springer.com/book/10.1007/978-3-319-23371-0#about>

Harman G. 2001. *Trichoderma* spp., including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other sp. Deuteromycetes, Moniliales (asexual classification system). Recuperado desde: <http://www.Biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.html>

Harman, G.E., & Kubicek, C.P. 1998. *Trichoderma* And *Gliocladium*, Volume 2: Enzymes, Biological Control and commercial applications (1st ed.). CRC Press: <https://doi.org/10.1201/9781482267945>

Herbario Virtual de Fitopatología. 2022. Facultad de Agronomía de la Universidad de Buenos Aires. Podredumbre carbonosa del tallo de la Soja (*Macrophomina phaseolina*). Recuperado desde: https://herbariofitopatologia.agro.uba.ar/?page_id=605

INTAGRI. 2016. *Trichoderma* Control de Hongos Fitopatógenos. Serie Fitosanidad, Núm. 35. Artículos Técnicos de INTAGRI. México. Extraído de <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/trichoderma-control-de-hongos-fitopatogenos>

Koppert. 2018. ¿Por qué utilizar especies de *Trichoderma* es una excelente idea para proteger las raíces de tus cultivos? Consultado en septiembre 07 de 2018 en: <https://www.koppert.mx/noticias-item/por-que-utilizar-especies-de-trichoderma-es-una-excelente-idea-para-proteger-las-raices-de-tus-cultivos/>

Kuhls K.; Lieckfeldt, E.; Samuels, G. J.; Kovacs, W.; Meyer, W.; Petrini, O.; Gams, W.; Börner, T.; Kubicek, C. P. 1996. Molecular evidence that the asexual industrial fungus *Trichoderma reesei* is a clonal derivative of the ascomycete *Hypocrea jecorina*. *Proc Natl Acad Sci USA*.;93: 7755-7760.

Langa-Lomba, N.; Martín-Ramos, P.; Casanova-Gascón, J.; Julián-Lagunas, C.; González-García, V. 2022. Potential of native *Trichoderma* strains as antagonists for the control of fungal wood pathologies in young grapevine plants. *Agronomy*, 12, 336. <https://doi.org/10.3390/agronomy12020336>

Li Y, Sun R, Yu J, Saravanakumar K, Chen J. 2016. Antagonistic and biocontrol potential of *Trichoderma asperellum* ZJSX5003 against the maize stalk rot pathogen *Fusarium graminearum*. *Indian J Microbiol.* 56(3):318-27. <https://doi.org/10.1007/s12088-016-0581-9>

Martínez B., Fernández L., Solano T. 1994. Antagonismo de cepas de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos de la caña de azúcar, tomate y tabaco. *Cultivos Tropicales*; 15(3):54.

Michel-Aceves, A. C.; Rebolledo-Domínguez, O.; Lezama-Gutiérrez, R.; Ochoa-Moreno, M. E.; Mesina-Escamilla, J. C.; Y Samuels, G. 2001. Especies de *Trichoderma* en suelos cultivados con mango afectados por “Escoba de bruja”

y su potencial inhibitorio sobre *Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*. Revista Mexicana de Fitopatología 19(2): 154-160.

Murrieta D. 2002. Cambios en la actividad enzimática de *Pleurotus* spp. cultivado en pulpa de café en confrontación con *Trichoderma* spp. Universidad Veracruzana Instituto de Genética Forestal. Recuperado desde: <https://www.uv.mx/iif/files/2014/10/tesis-dulce-murrieta-mc.pdf>

Nieto Angel D. 2013. Manejo Integrado de la Antracnosis (*Colletotrichum* sp.) del Papayo. Revista Mexicana de Fitopatología, Vol. 31 (Suplemento). 2013. Recuperado a partir de: <https://www.smf.org.mx/rmf/suplemento/docs/tropicales/6DanielNietoAngel.pdf>

Pal, K. K., & Gardener, B. M. (2006). Biological control of plant pathogens. Plant Health Instructor. 2, 1117-1142. Recuperado desde: <https://www.apsnet.org/edcenter/disimpactmngmnt/topc/Documents/PHI-BiologicalControl.pdf>

Picos P., García R., León F., Sañudo A., & Allende R. 2015. *Lasiodiplodia theobromae* en Cultivos Agrícolas de México: Taxonomía, Hospedantes, Diversidad y Control. Revista Mexicana de Fitopatología, 33 (1) ,54-74. [Fecha de Consulta 11 de noviembre de 2022]. ISSN. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=61240687004>

Rifai M. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. Mycol. Pap.; 116:1-56.

Saldaña-Organista, D. E., Ayvar-Serna, S., Díaz-Nájera, J. F. Y Mena-Bahena, A. 2023. *Colletotrichum gloeosporoides*. Foro de estudios sobre Guerrero, 8(1), pp. 197–204. Recuperado desde: <https://revistafesgro.cocytieg.gob.mx/index.php/revista/article/view/99>

Sandoval I. & López M. 2000. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* A34 hacia *Macrophomina phaseolina* y otros patógenos fúngicos del frijol. *Fitosanidad*, 4(3-4), 69-72. Recuperado desde: <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209118243014.pdf>

SAS Institute Inc. 2002. SAS/STAT User guide. Release 9.0. North Carolina, USA.
Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de plagas. 2015. *Botrytis cinérea*.
Recuperado desde: <https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/botrytis-cinerea>

Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de Plagas. 2015. *Macrophomina phaseolina*.
Recuperado desde: <https://www.sinavimo.gob.ar/plaga/macrophomina-phaseolina>

Viera W., Tello C., Martínez A., Navia D., Medina L., Delgado A., Perdomo C., Pincay A., Báez F., Vásquez W., & Jackson T. 2020. Control Biológico: Una herramienta para una agricultura sustentable, un punto de vista de sus beneficios en Ecuador. *Journal of the Selva Andina Biosphere*, 8(2), 128-149. Recuperado en 19 de noviembre de 2023, de http://www.scielo.org.bo/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2308-38592020000200006&lng=es&tlng=es.

Villegas M. 2005. *Trichoderma* pers. Características generales y su potencial biológico en la agricultura sostenible. Consultado: 11 de marzo 2010 en: <http://www.oriusbiotecnologia.com/tecnica/128-Trichoderma-pers-caracteristicas-y-supotencialbiologico-en-la-agricultura-sostenible>

Whipps, J. M., Lewis, K., & Cooke, R. C. (1988). Mycoparasitism and plant disease control. *Fungi in biological control systems*, 1988, 161-187.