



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

MÉTODOS DE CONTROL ALTERNATIVO DE LA
MARCHITEZ DE CRISANTEMO TIPO MARGARITA
(*Dendratherum grandifolia* Tzvel) CAUSADA POR
Fusarium oxysporum (Shlecht.) Snyd. & Hans.

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO
DE MAESTRO EN CIENCIAS EN:

PROTECCIÓN VEGETAL

PRESENTA:

JUAN LÓPEZ SANTIAGO

CHAPINGO, MÉXICO. NOVIEMBRE DE 1999

910451



**MÉTODOS DE CONTROL ALTERNATIVO DE LA MARCHITEZ DE
CRISANTEMO TIPO MARGARITA (*Dendratherum grandifolia* Tzvel)
CAUSADA POR *Fusarium oxysporum* (Shlecht) Snyder & Hans.**

Tesis realizada por Juan López Santiago bajo la dirección del Comité Asesor
indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener
el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL


COMITÉ ASESOR

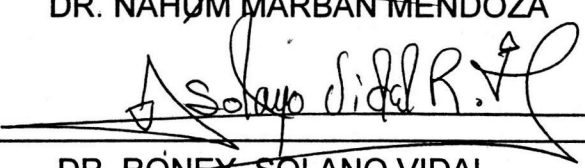
DIRECTOR:

M C. CECILIO MENDOZA ZAMORA

ASESOR:


DR. NAHÚM MARBÁN MENDOZA

ASESOR:


DR. RONEY SOLANO VIDAL

A. 35125

Chapingo, México. Noviembre de 1999

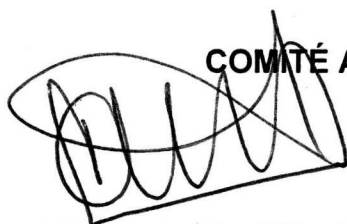
**MÉTODOS DE CONTROL ALTERNATIVO DE LA MARCHITEZ DE
CRISANTEMO TIPO MARGARITA (*Dendrathermun grandifolia* Tzvel)
CAUSADA POR *Fusarium oxysporum* (Shlecht) Snyder & Hans.**

El jurado que revisó y aprobó el examen de grado de Juan López Santiago autor de la presente tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal estuvo constituido por:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

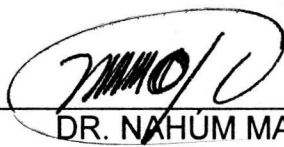
COMITÉ ASESOR

PRESIDENTE:



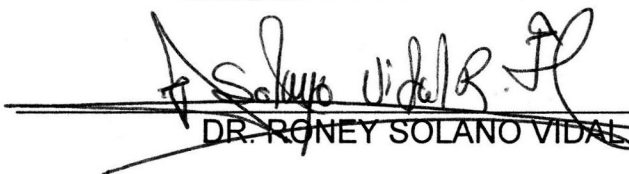
M.C. CECILIO MENDOZA ZAMORA

ASESOR:



DR. NAHUM MARBÁN MENDOZA

ASESOR:



DR. RONEY SOLANO VIDAL

Chapingo, México, noviembre de 1999

DEDICATORIA

A mi madre, Macedonia Santiago Hernández con cariño y gratitud, porque siempre me ha brindado su apoyo y sabios consejos para no desistir en el camino abrupto que se recorre en la vida y porque ha sabido inculcarme los valores humanos.

A mis hermanas Paula Modesta, Estela y Silvia para ellas con cariño.

A todos mis amigos con quienes pase los momentos de alegría y de trabajo, gracias.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de la Ciencia y Tecnología (CONACYT) por auspiciar mis estudios de postgrado y así poder ascender un escalón más en mi formación profesional.

Al MC. Cecilio Mendoza Zamora por su valiosa dirección y por todas las facilidades otorgadas para poder culminar el presente trabajo.

Al Dr. Nahún Marbán Mendoza por las facilidades otorgadas para la culminación del presente trabajo.

Al Dr. Roney Solano Vidal por su disponibilidad en la revisión del presente trabajo.

DATOS BIOGRAFICOS

Juan López Santiago nació en San Juan Mixtepec, Juxtlahuaca, Oaxaca el día 21 de septiembre de 1972. En Santiago Juxtlahuaca realizó sus estudios de primaria y secundaria, se trasladó a Chapingo, Méx., obteniendo el título de Ingeniero Agrónomo especialista en Fitotecnia en la Universidad Autónoma Chapingo.

Durante su formación personal y profesional recibió cursos de evaluación de proyectos, desarrollo de habilidades directivas. Durante su ejercicio profesional ha trabajado en las Empresa Nagata Bross y Scleping Indian, como auxiliar de producción en los Estados Unidos. En México trabajó en la Delegación de Gobierno en Juxtlahuaca, Oax., desarrollando proyectos productivos, en el mismo lugar para el Instituto Nacional de Capacitación Agrícola Rural como asesor técnico. Actualmente se desempeña como pequeño productor.

ÍNDICE GENERAL

Página

LISTA DE CUADROS.....i

LISTA DE CUADROS DEL APÉNDICE.....iii

RESUMEN.....vi

SUMMARY.....v

I. INTRODUCCIÓN.....1

OBJETIVO2

II. REVISIÓN DE LITERATURA.....3

2.1. ORIGEN Y TIPOS DE CRISANTEMO.....3

2.2. PROBLEMAS FITOSANITARIOS.....4

2.3. *Fusarium oxysporum* (Shlecht.) Snyder & Hans. 5

2.3.1. Importancia y distribución.....5

2.3.2. Clasificación.....5

2.3.3. Ciclo de vida y morfología.....5

2.3.4. Epidemiología.....62.3.5. Sintomatología.....7

2.4. CONTROL.....8

2.4.1. Control químico.....8

2.4.2. Control biológico.....11

2.4.2.1. Uso de materia orgánica.....12

2.4.2.2. Antagonistas.....19

2.4.2.2.1. Género *Trichoderma*.....19

2.4.2.2.1.1. Distribución.....19

2.4.2.2.1.2. Establecimiento y proliferación en el
suelo.....20

2.4.2.2.1.3. Establecimiento en la rizosfera.....212.4.2.2.1.4. Producción de metabolitos.....22

2.4.2.2.1.5. Potencial para el control biológico.....23

2.4.2.2.1.6. Efectos sobre la promoción del
crecimiento de las plantas.....26

2.4.2.3. Plantas fungicidas o fungistáticas.....	28
2.4.2.3.1 AJO <i>Allium sativum</i>	28
2.4.2.3.1.1. Composición química.....	29
2.4.2.3.1.2. Investigaciones sobre ajo y otras plantas.....	29
III. MATERIALES Y MÉTODOS.....	33
3.1. Localización del sitio experimental.....	33
3.2. Colecta de material enfermo y material experimental.....	33
3.3. Aislamiento y purificación del patógeno.....	34
3.4. Identificación del patógeno.....	34
3.5. Diseño experimental.....	34
3.6. Tratamientos.....	35
3.7. Aplicación de los tratamientos.....	36
3.7.1. Aplicación de fungicidas.....	36
3.7.2. Aplicación de pajas.....	36
3.7.3. Aplicación de <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25).....	36
3.7.4. Aplicación de ajo líquido (Bio crack).....	36
3.8. Evaluación de los tratamientos para el control de <i>Fusarium</i>	37
3.9. Análisis estadístico de datos.....	38
3.10. Manejo del cultivo.....	39
IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	40
4.1. Identificación de patógeno.....	40
4.2. SIEMBRA 1.....	40
4.2.1. Número de plantas muertas para la primera evaluación.....	40
4.2.2. Número de plantas muertas para la segunda evaluación.....	42
4.2.3. Altura de plantas	43
4.2.4. Incidencia.....	45
4.2.5. Porcentaje de infección.....	46

4.3. SIEMBRA 2	47
4.3.1. Número de plantas muertas para la primera evaluación.....	47
4.3.2. Número de plantas muertas para la segunda evaluación.....	48
4.3.3. Altura de plantas	51
4.3.4. Incidencia.....	53
4.3.5. Porcentaje de infección.....	54
V. CONCLUSIONES	56
VI. LITERATURA CONSULTADA	57
VII. APÉNDICE	66

LISTA DE CUADROS

	Página
Cuadro 1.- Tratamientos evaluados para el control de <i>Fusarium oxysporum</i> en margarita puma morado, en el primer ensayo. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Septiembre de 1998.....	35
Cuadro 2.- Tratamientos evaluados para el control de <i>Fusarium oxysporum</i> en margarita puma morado, en el segundo ensayo. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Octubre de 1998.....	35
Cuadro 3. Escala visual para evaluar el grado de infección de la parte aérea de plantas de margarita por <i>Fusarium oxysporum</i> . San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. 1999.....	38
Cuadro 4. Comparación de medias del número de plantas muertas, de margarita puma morado, primera evaluación del ensayo 1 San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. México. Diciembre de 1998.....	42
Cuadro 5. Comparación de medias del número de plantas muertas, de margarita puma morado, segunda evaluación del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo de México. Enero de 1999.....	43
Cuadro 6. Comparación de medias de la altura de plantas de margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.....	44

Cuadro 7. Comparación de medias de incidencia de la enfermedad en margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de1999.....	45
Cuadro 8. Comparación de medias del porcentaje de infección en margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de1999.....	47
Cuadro 9. Comparación de medias del número de plantas muertas, primera evaluación en margarita puma morado, del ensayo 2. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Diciembre de1998.....	48
Cuadro 10. Comparación de medias del número de plantas muertas de la segunda evaluación en el cultivo de margarita puma morado, del segundo ensayo. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.....	51
Cuadro 11. Comparación de medias de la altura de plantas en el cultivo de margarita puma morado, del segundo ensayo. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.....	53
Cuadro 12. Comparación de medias de incidencia de la enfermedad en margarita puma morado, del ensayo 2. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.....	53
Cuadro 13. Comparación de medias del porcentaje de infección en margarita puma morado, del ensayo 2. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de1999.....	55

LISTA DE CUADROS DEL APÉNDICE

	Página
Cuadro 1. Análisis de varianza del número de plantas muertas de margarita puma morado, primera evaluación del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Diciembre de 1998.....	66
Cuadro 2. Análisis de varianza del número de plantas muertas de margarita puma morado, segunda evaluación del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.....	66
Cuadro 3. Análisis de varianza de la altura de plantas de margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.....	66
Cuadro 4. Análisis de varianza de la incidencia de <i>Fusarium oxysporum</i> , en margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.....	66
Cuadro 5. Análisis de varianza del porcentaje infección de <i>Fusarium oxysporum</i> , en margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.....	67
Cuadro 6. Análisis de varianza del número de plantas muertas de margarita puma morado, primera evaluación ensayo 2. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Diciembre de 1998.....	67
Cuadro 7. Análisis de varianza del número de plantas muertas de margarita puma morado, segunda evaluación del ensayo 2. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.....	67

Cuadro 8. Análisis de varianza de la altura de plantas de margarita puma morado, del ensayo 2. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. México. Enero de 1999.....	67
Cuadro .9 Análisis de varianza de la incidencia de <i>Fusarium oxysporum</i> , en margarita puma morado, del ensayo 2. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.....	67
Cuadro 10. Análisis de varianza del porcentaje infección de <i>Fusarium oxysporum</i> , en margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.....	68

RESUMEN

En otoño-invierno de 1998 y 1999 se evaluaron pajas de cebada y alfalfa en coberturas e incorporados, *Trichoderma harzianum* asperjado e inoculado a la raíz, ajo, benomil y tiabendazol para reducir los daños provocados en crisantemo tipo margarita por *Fusarium oxysporum*. Los parámetros evaluados fueron número de plantas muertas, altura de plantas, incidencia y porcentaje de infección. Los fungicidas fueron los mejores tratamientos para todos los parámetros evaluados; *Trichoderma harzianum* asperjado al suelo no tiene efectos, pero si los tiene cuando es inoculado a la raíz; ya que promovió el crecimiento, redujo la incidencia y el porcentaje de infección; el ajo mostró ligeros efectos en número de plantas muertas, incidencia y porcentaje de infección. La paja de alfalfa ejerce efectos negativos para todos los parámetros evaluados y, la paja de cebada muestra ligeros efectos en incidencia y porcentaje de infección cuando es incorporado.

PALABRAS CLAVES: Enmiendas orgánicas, fungicidas, antagonistas y ajo.

SUMMARY

This investigation deals with the control of chrysanthemum type daisy wilting disease caused by *Fusarium oxysporum* in México. Treatments include were: benomyl (1.5 g/l the water), thiabendazol (1.0 g/l the water), barley straw mulch, soil amendment with alfalfa, Trichodex 25® (*Trichoderma harzianum*) sprinkled and/or inoculated on roots and sprayed Bio Crack® (garlic extract). Data taken for evaluations were: numbers of dead plants, top plant, incidence and percent infection. Fungicides were the best treatments (tukey=0.05) since better plant height, lesser incidence and plant mortality was obtained as compared with other treatments. T. Harzianum on chrysanthemum roots most likely promoted plant growth. None of alfalfa treatments gave indication of control and fairly level control obtained with both barley mulching and Bio Crack spray®.

KEY WORDS: Organic amendment, fungicides, antagonistic and garlic.

I. INTRODUCCIÓN

La floricultura se practica en toda la República Mexicana, pero la producción comercial de flores se concentra en los estados circunvecinos del Distrito Federal, destacando en importancia el Estado de México; ya que de 1420 has de crisantemo que se cultivan, el 92% se encuentra en este Estado, convirtiéndolo en el principal productor de crisantemo; el resto se distribuye en los estados de Puebla, Michoacán, Chiapas, Morelos y Baja California (Anónimo, 1995).

En el Estado de México el crisantemo se cultiva en: Santa Ana, Valle de Bravo, Texcoco, Coatepec de Harinas, Villa de Allende, Villa Guerrero, Donato Guerra, Villa Guadalupe, San Vicente Chicoloapan, Ixtapan de la Sal y Zumpango. Texcoco ocupa el tercer lugar en cuanto a los municipios productores de crisantemo y, al contrario de otras zonas productoras de flores, este municipio se caracteriza porque casi todos los productores se especializan en la producción de crisantemo, siendo unos cuantos los que combinan con el cultivo de margaritas. Además la mayoría de la producción se realiza bajo condiciones de invernadero.

Los principales problemas para la producción son las plagas enfermedades y malezas, y cuando no se realiza un control adecuado, las pérdidas llegan a ser hasta de un 100%. La marchitez ocasionada por *Fusarium oxysporum* no debe pasar desapercibida, puesto que en daños fuertes provoca una incidencia y severidad del orden del 90-100%, disminuyendo la cantidad y calidad del producto final, lo cual demerita su valor comercial.

El tratamiento químico es considerado el método más efectivo para el control de *Fusarium oxysporum*. Sin embargo, los reportes recientes sobre los

efectos deletéreos de algunos fungicidas sintéticos sobre el ambiente, aunado con el problema de la resistencia han estimulado la búsqueda de alternativas, seguras y biodegradables, que tengan la máxima eficiencia con el mínimo impacto ambiental (Rodríguez, 1996). En este sentido la mejor manera de controlar a este patógeno es mediante la búsqueda de otras medidas de control como lo son las plantas que han demostrado una fuente potencial de fungicidas naturales, y el empleo de microorganismos antagónicos, para lo cual se decidió realizar la presente investigación con el siguiente:

OBJETIVO

1. Evaluar otros métodos alternativos para el control de la marchitez ocasionada por *Fusarium oxysporum*

II. REVISION DE LITERATURA

2.1. ORIGEN Y TIPOS DE CRISANTEMO

Existen unas 150 especies de crisantemo, originarias todas ellas del viejo mundo (India, China y Japón). El nombre de *Crysanthemum* proviene de dos palabras griegas: Khrysos y anthemon, y adquiere el significado conjunto de "Flor de Oro" (Villegas, 1997).

Existen diferentes tipos de crisantemos en base al tamaño, forma y distribución en el capítulo de las flores los cuales son:

- a) **SIMPLES:** (Margaritas) Capítulos compuestos de una o dos hileras de flores femeninas, liguladas planas (pétalos) en la periferia y flores hermafroditas achatadas al centro (disco).
- b) **ANÉMONAS:** Similar a las simples, pero las flores del disco son elongadas y tubulares, formando un colchón hemisferial. Las flores del disco pueden ser del mismo color o diferentes a las liguladas.
- c) **POMPONES:** El capítulo es globoso, formado por flores liguladas cortas y uniformes. En esta forma es considerada convencional; el disco no se distingue a simple vista.
- d) **DECORATIVAS:** Similares a los pompones, principalmente de flores liguladas, pero las hileras exteriores son más largas que las del centro, dándole al capítulo una forma achatada no convencional. Los tamaños son generalmente intermedios y grandes.
- e) **CAPITULO GRANDE:** Generalmente no es visible el disco y miden más de 10 cm. de diámetro, se dividen en:

- 1) **Doble incurvado:** Es de forma globosa y convencional con flores liguladas similares en tamaño a las del disco y que se curvan hacia adentro y arriba.
- 2) **Doble curvado:** Menos convencional y globoso que el anterior, con algunas flores liguladas traslapadas y curvadas hacia abajo.
- 3) **Flores liguladas tubulares:** Exteriores, pero cortas en el centro. Las flores exteriores caídas y retorcidas en los extremos.
- 4) **Fugi:** Similares a una araña, pero con flores liguladas más cortas que no caen y no están retorcidas.
- 5) **Plumosas:** Flores liguladas tubulares, que asemejan plumas, largas al exterior y cortas al centro. El extremo de las flores es abierto y no achatado.
- 6) **Acucharados:** Similar al plumoso, pero las flores externas son abiertas y aplanadas como una cucharada.
- 7) **Misceláneos (novedosos):** Tipos en forma de pétalos o plumas (Villegas, 1997).

2.2. PROBLEMAS FITOSANITARIOS

Las principales enfermedades del crisantemo son las causadas por *Verticillium albo-atrum*, *Erysiphe cichoracearum*, *Botrytis cinerea*, *Ascochyta chysanthemi*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Septoria chysanthemi*, *Pythium* spp. *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* f. sp. *chysanthemi*, *Phytophthora cryptogea*, *Puccinia chysanthemi* y *Erwinia chysanthemi* (Romero, 1996).

Aunque actualmente los daños ocasionados por *Fusarium oxysporum* f. sp. *chysanthemi* son dignos de consideración el problema número uno de este cultivo por los recursos que se invierten en su control es la roya blanca, ocasionada por *Puccinia horiana*.

2.3. *Fusarium oxysporum* (Shlecht) Snyder & Hans.

2.3.1. Importancia y distribución

Sin duda alguna, *Fusarium oxysporum* es la especie del género *Fusarium* más ampliamente distribuido y perjudicial a la agricultura. El jitomate, la papa, el frijol, el chícharo, la cebolla, la col, el rábano, el pepino, el melón, la sandía, el plátano, el café, el tabaco, el gladiolo, el clavel, el algodón, y el lino son sólo algunos de los numerosos cultivos susceptibles a este hongo (Romero, 1988).

La especie de *F. oxysporum* está integrada por formas especiales, o sea, grupos de individuos patógenos a determinados cultivos (Romero, 1988).

2.3.2. Clasificación

Reino: Fungi

Clase: Deuteromycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Fusarium*

Especie: *F. oxysporum*

Romero (1988).

2.3.3. Ciclo de vida y morfología

Mendoza y Pinto (1983) señalan que el ciclo empieza con la presencia de macroconidios, microconidios, micelio y/o clamidosporas en el suelo infestado; éstos germinan y penetran por heridas o aberturas naturales, atacando el xilema; el micelio sigue desarrollándose y llega a invadir las células adyacentes al xilema. Las toxinas y la obstrucción mecánica de los tejidos son los

responsables de la marchitez y muerte de la planta. La formación de conidios se efectúa en las hojas de las plantas muertas y en el suelo.

Romero (1988) menciona que este hongo presenta conidióforos alargados, con microconidios pequeños, elípticos e hialinos, las clamidosporas son de una a dos células; los macroconidios son finos, alargados, puntiagudos con tres a cinco septas, con pared delgada, anchura máxima de 3.0 a 4.5 micras. La masa de esporas es de un color ocre rosa, pigmento rosa o de un púrpura violeta.

2.3.4. Epidemiología

Según Mendoza y Pinto (1983) las condiciones que favorecen el desarrollo de esta enfermedad son la baja humedad del suelo, días cortos, mucho nitrógeno y poco potasio, mientras que proporciones inversas reducen la enfermedad.

El desarrollo de la enfermedad es extremadamente dependiente de la temperatura. Los síntomas más severos se desarrollan a una temperatura que oscila entre los 26.6 y los 32.2 °C y ausentes a los 15.5 °C hacia abajo. Así mismo cantidades altas de nitrógeno hacen más susceptibles al crisantemo al desarrollo de esta enfermedad (Forsberg, 1976).

Horst y Nelson (1975) también menciona que los daños más severos se desarrollan de 27 a 32 °C, pero que los síntomas pueden aparecer a partir de los 21 °C.

Temperaturas arriba de los 26 °C, pH bajo y fertilizantes nitrogenados aumentan el desarrollo de los síntomas de la marchitez por *Fusarium* (Fisher y Toussoun, 1983).

2.3.5. Sintomatología

El diagnóstico de la marchitez por *Fusarium* en crisantemo, se dificulta porque los síntomas son similares a los que produce la deficiencia de nutrientes y falta de agua, así los síntomas desarrollados dependen del medio ambiente y del estado nutricional de la planta. Después de dos semanas de inoculada la planta con este patógeno, muestran una clorosis apical generalizada, siendo definitivos estos síntomas a los 23 días de inoculada la planta (Fisher y Toussoun, 1983).

Locke (1985) encontró que los síntomas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* aparecen inicialmente como un marchitamiento temporal, seguido por clorosis, marchitamiento permanente, necrosis intervenal y descoloración vascular, y posteriormente se produce la muerte.

El ataque de *Fusarium oxysporum* al crisantemo en condiciones óptimas desarrolla una sintomatología que se caracteriza por clorosis o amarillamiento de todas las hojas o de las hojas de un sólo lado del tallo, provocando un ahuecamiento y a menudo una curvatura hacia el lado infectado. La marchitez de las hojas inicialmente solo es sobre el lado infectado, pero al progresar la enfermedad, toda la planta se marchita y muere (Forsberg, 1976).

La marchitez por *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *tracheiphilum* frecuentemente se dificulta su diagnóstico, a causa de la variabilidad de síntomas que produce sobre diferentes variedades. Asimismo, los síntomas pueden ser similares a los que provoca *Pythium*, a los de deficiencias nutrimentales o al exceso de agua. Cuando las condiciones son óptimas, se produce una clorosis de una o más hojas sobre el lado dañado del tallo, puede haber una curvatura hacia ese lado, posteriormente la clorosis se hace más general. El marchitamiento de las hojas ocurre inicialmente sobre uno

de los lados de la planta, pero eventualmente toda la planta se marchita y muere (Horst y Nelson, 1975).

2.4. CONTROL

Llevar a cabo el control del patógeno, no es sencillo, puesto que se requiere de conocer su biología y hábitos, además lo correspondiente a los diversos organismos antagónicos que éste puede tener, de esta manera poder aplicar los métodos de control de la enfermedad.

2.4.1. Control químico

Dentro de los métodos de control, el más usual y conocido para controlar las enfermedades de las plantas en invernadero y campo es el empleo de productos tóxicos que inhiben la germinación, el crecimiento o la multiplicación del patógeno o bien son completamente letales al patógeno. Los tóxicos empleados para controlar hongos, se denominan fungicidas y varían en su espectro de acción, dependiendo de sus propiedades químicas; algunos son muy tóxicos a muchos hongos, mientras que otros solamente a unos cuantos o a un solo patógeno (Mendoza, 1992). Los fungicidas se clasifican en tres tipos: a) Protectores: los que dan protección contra la infección en el sitio de aplicación; b) Erradicantes: los que curan la infección en el sitio de aplicación y c) Sistémicos: los que pueden evitar el desarrollo de una enfermedad en partes de la planta en el sitio de aplicación y aún en sitios donde no se aplicó el producto. Los tres grupos se distinguen en base a la época de aplicación en relación a la infección, absorción y movilidad en los tejidos de la planta (Wain y Carter 1977; citados por Mendoza, 1992).

Los productos benomil y tiabendazol corresponden a los bencimidazoles, su espectro de actividad es amplio e incluye patógenos de los géneros *Monilinia*, *Phoma*, *Cercospora*, *Ceratosystis*, *Mycosphaerella*, *Botrytis*,

Colletotrichum, *Fusarium*, *Sclerotinia*, *Gloeosporium*, *Penicillium*, *Sphaerotheca*, *Septoria*, *Diplodia*, *Elsinoe*, *Guignardia*, *Phomopsis*, *Oidium*, *Cylindrocladium*, *Pellicularia*, *Clodosporium*, *Erysiphe*, *Rhizoctonia*, *Corynespora*, *Diplocarpon*, *Entomosporium*, y otros en cultivos muy variados como frutales de clima templado, tropicales, hortalizas, leguminosa, citricos y ornamentales, entre otros (Delp, 1987).

Los bencimidazoles son protectantes efectivos y también penetran al hospedante para inhibir post-infecciones o se mueve por el apoplasto a las partes de la planta no tratadas para proporcionar efectos preventivos o curativos (Delp, 1987).

Green *et al.* (1977) señalan que el benomil, tiabendazol, tiofanato, metil tiofanato y fuberidazol interfieren la síntesis de ADN e inhiben el crecimiento micelial.

Magie y Wilfret (1974), citado por Jaimes (1977) comprobaron que *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* desarrolla tolerancia a benlate y tecto 60 al usar dichos productos en forma consecutiva.

Paulus, citado por Jaimes (1977) demostró que el benlate y el tecto 60 reducen el número de plantas infectadas por *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* e incrementan el número de flores cosechadas en gladiola. El ataque a la fresa por *Fusarium oxysporum* f. sp. *fragariae* puede ser controlada con aplicaciones de 250 kg./ha. de bromuro de metilo al 98 % en aplicación total.

Jaimes (1977) encontró que los mejores fungicidas para el control de la pudrición del bulbo de gladiola causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli* fueron: arasan 75 a 600 g + benlate 50 a 100 g/100 lt de agua caliente; arasan 75 a 900 g/100 lt agua caliente; tecto 60 a 100 g/100 lt agua caliente; agua caliente + arasan 75 a 1200 g/100 lt agua medio ambiente; arasan 75 a 1200

g/100 lt agua caliente; benlate 50 a 200 g/100 lt agua medio ambiente; agua caliente + arasan 75 a 600 g/100 lt; benlate 50 a 150 g/100 lt agua caliente y agua caliente + arasan 75 a 900 g/100 lt agua medio ambiente.

Jarvis (1989), citado por Apodaca (1993) reportó que los intentos por controlar la pudrición de la corona en tomate (PCT) causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* con fungicidas han sido infructuosos, a excepción de la aplicación de benomil en cultivos hidropónicos.

Anónimo (1989) menciona que para el control de *Fusarium* spp. en crisantemo se deben aplicar fungicidas tales como benlate, tecto o daconil a razón de 1.5 g/lt de agua.

Arbos (1992) cita que para el control de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cyclaminis* en crisantemo desinfectar el suelo con metan sodio.

Sánchez (1992) menciona que para el control de *Fusarium oxysporum* en crisantemo se recomienda aspersiones de benomil 50% en una dosis de 250 a 500 g/400 lt de agua en 5000 m², al igual que maneb 80%, en las mismas dosis. Aplicaciones al suelo en las camas de cultivo con interguzan (PCNB 30% + thiram 30% 2.5 g/400 lt de agua en 1000 m²). El sulfato tribásico de cobre (gycop) 300 cc/200 lt de agua en 2500 m² se puede aplicar en plantas maduras, teniendo la precaución de no mezclarse con fertilizantes foliares.

García (1994) recomienda aplicar tecto 60 o bavistin a razón de 2 g/lt de agua para el control de los géneros *Rhizoctonia*, *Verticillum* y *Fusarium* en el cultivo de crisantemo bajo invernadero.

Vital (1995) encontró que los fungicidas benlate (Benomil 1 y 1.5 g), tecto 60 (Tiabendazol 0.5 y 0.75 g), bavistin (Carbandázin 1 y 1.5 g), cercobin M (Tiofanato metil 1 y 1.5 g) y captan (Captan 4 y 6 g)/lt, cada uno controlaron

eficazmente la pudrición de *Fusarium oxysporum* f. sp. *cepae*, siendo en ellos el menor porcentaje de infección y mayor control en bulbo, de la pudrición basal. En cuanto al rendimiento con respecto al testigo no hubo diferencias significativas con los fungicidas.

En el sureste de Estados Unidos la marchitez ocasionada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* se controla con una combinación de benomil, encalado de suelo y usando como fertilizantes nitrógeno a base de nitritos, particularmente para el cultivo de crisantemos en maceta (Horst y Nelson, citados por Romero, 1996).

Ponce (1998)¹ menciona que para el control de *Fusarium* es necesario aplicar 0.5 a 1 g. i.a. de tiabendazol/litro de agua, el cual se debe aplicar a la base del tallo, empapando dicha zona.

2.4.2. Control biológico

Cook y Baker (1983) definieron el control biológico como la reducción de la cantidad de inóculo o actividades productoras de una enfermedad por parte del patógeno, logrando a través o por uno o más organismos aparte del hombre. Las actividades productoras de una enfermedad involucran crecimiento, infectividad, agresividad, virulencia y otras cualidades del patógeno, o proceso que determinen la infección, desarrollo de síntomas y reproducción. Los organismos incluyen: 1) individuos no virulentos o hipovirulentos o poblaciones dentro de la misma especie patogénica, 2) el huésped (planta), manipulado genéticamente, mediante prácticas culturales o con microorganismos para lograr una mayor y más efectiva resistencia hacia el patógeno y 3) antagonistas del patógeno.

¹Francisco Ponce González. Comunicación personal. Profesor-Investigador de la UACH, Chapingo, México.

Los mecanismos de control biológico de fitopatógenos pueden ser agrupados en tres categorías generales: a) reducción del inóculo, mediante microorganismos antagonicos, b) protección de las superficies vegetales por medio de los antagonistas y c) incompatibilidad fisiológica entre el huésped o por medio de la inoculación con microorganismos avirulentos o no patogénicos (Cook y Baker, 1983).

2.4.2.1. Uso de materia orgánica

El control biológico ha sido asociado con una gran cantidad de materia orgánica, por lo que varios investigadores han reforzado el control biológico mediante la adición de materia orgánica al suelo. Aparentemente la materia orgánica favorece el desarrollo de antagonistas los cuales actúan sobre los patógenos (Baker y Cook, 1974; citados por Fry, 1982).

La materia orgánica disponible para ser incorporada en un suelo, consiste en los residuos de cosecha, tales como rastrojo de cereales o leguminosas, residuos de malezas, o abonos verdes sembrados para ese propósito. En menor grado, la materia orgánica se encuentra disponible de residuos de cultivos, como follaje de las plantas de las cuales se aprovecha la parte subterránea, o compostas de desperdicios orgánicos tanto agrícolas como industriales (Schmid *et al.*, 1973; citado por Palti, 1981).

Los materiales orgánicos que son adicionados al suelo, bajo condiciones favorables de humedad y aireación, inician una biodegradación por organismos, como bacterias, hongos, actinomicetos, protozoarios, lombrices y larvas de insectos (Gros, 1981; Crovetto, 1992). Los microorganismos requieren una cantidad suficiente de nitrógeno para poder descomponerlos. Si el material agregado al suelo tiene una relación C/N elevada, los microorganismos que lo descomponen no encuentran bastante nitrógeno, entonces usarán el nitrógeno de otras fuentes para satisfacer sus necesidades; esto da por resultado, que el

nitrógeno temporalmente quede fijado en la biomasa microbiana de modo que cuando los residuos orgánicos incorporados al suelo tienen menos del 1.5 % de nitrógeno lo que equivale a una relación C/N mayor de 25, se produce la inmovilización del nitrógeno. En tanto que si un material con una relación C/N baja se agrega al suelo, este contendrá más nitrógeno que el que los microorganismos necesitan y el exceso será liberado en forma aprovechable. Esto significa que los residuos orgánicos con un contenido de 1.5-1.7 % de nitrógeno necesitan adición suplementaria para asegurar su descomposición, ocurriendo entonces el proceso de mineralización, por este motivo es indispensable considerar el nitrógeno adicional necesario para poder cubrir el desequilibrio (Crovetto, 1992). Como resultado de la actividad de los microorganismos sobre la materia orgánica se liberan porciones de constituyentes de algunos de los elementos químicos tales como C, N, P y K los cuales están en forma disponible para el crecimiento de las plantas (Gros, 1981). Además de los efectos de la disponibilidad de nutrientes por la materia orgánica, reduce la erosión, aumenta la capacidad de retención de agua y mejora la estructura y otras propiedades del suelo. También ha sido demostrado que las coberturas y otras formas de materia orgánica contribuyen al establecimiento de condiciones del suelo que son ideales para el crecimiento radical y así resultan, generalmente, en mayor vigor y rendimiento de los cultivos. Sin embargo, durante la descomposición de ciertos materiales orgánicos pueden producirse metabolitos fitotóxicos que pueden, directa o indirectamente, ejercer un efecto adverso sobre el crecimiento de las plantas (Linderman y Gilbert, 1975).

Los efectos de la materia orgánica sobre los patógenos se pueden dividir en aquellos que son utilizados para prevenir una enfermedad y aquellos que se utilizan para el control de una enfermedad. De manera preventiva se utiliza cuando son adicionados al suelo con la finalidad de enriquecerlo, hablando en términos nutrimentales, y al mismo tiempo se promueve la actividad antagónica.

Cuando es utilizada como control, hay un efecto directo sobre el hospedante y el patógeno (Palti, 1981).

Baker y Cook (1974) afirman que los residuos vegetales juegan un papel muy importante en la estimulación de microorganismos antagónicos hacia los fitopatógenos, al mismo tiempo hay una mayor cantidad y variedad de microorganismos provistos por el modificador orgánico y por consiguiente la probabilidad de supresión de un patógeno es mayor.

Muchos estudios han demostrado que las coberturas y los residuos orgánicos estimulan la germinación de los propágulos (conidios, esclerocios, clamidosporas y otros) de hongos patógenos del suelo, através de la liberación de nutrientes, metabolitos volátiles y otros compuestos; los tubos germinativos son afectados por lisis antes de que sean capaces de infestar al hospedero, colonizar substratos apropiados o producir esporas secundarias u otras estructuras. Así el proceso de germinación y lisis resulta en la reducción de la densidad del inóculo del patógeno y, subsecuentemente, una menor incidencia de las enfermedades en la raíz. La lisis de los tubos germinativos puede ser causada por antagonismo y competencia debido a las actividades microbiales estimuladas como resultado de la adición de los residuos orgánicos (Lewis y Papavizas, 1975).

La adición de residuos orgánicos al suelo, en especial aquellas que contienen una elevada relación C/N ha demostrado resultar una competencia extrema por varios nutrientes como N y Fe y otros. Los organismos microbianos estimulados son mejores competidores del suelo y así inmovilizan a éstos nutrientes en sus células y matan a los patógenos por inanición o imponen una condición fungistática en el suelo (Lewis y Papavizas, 1975).

Abawi y Thurston (1994) concluyen que la incorporación de materia orgánica da beneficios agronómicos, además generalmente resultaba en una

menor incidencia y severidad de las enfermedades radicales causadas por patógenos del suelo así como de otras enfermedades. Las coberturas y enmiendas al suelo (incluyendo los cultivos de cobertura y composta) inhiben las enfermedades de las plantas, especialmente las radicales, al reducir el salpique del suelo/inóculo, influenciar los parámetros como la humedad y temperatura y fomentando la actividad microbiana antagonista a los fitopatógenos.

El uso de esquilmos o residuos de cosecha para el control de enfermedades de patógenos del suelo, es una estrategia de control que se basa en la modificación del medio ambiente a favor de la planta cultivada y en contra de los fitopatógenos.

Ponce (1992) indica que al adicionar materia orgánica particularmente con mucha cantidad de celulosa, provoca que en alguna etapa de la descomposición de ésta, existá mayor cantidad de dióxido de carbono y menos oxígeno, induciendo la muerte de algunos hongos fitopatógenos por falta de este último elemento. Además de que estos materiales promueven el incremento de los actinomicetos, mismos que compiten por espacios y que producen antibióticos que alejan o provocan muerte de ciertos patógenos.

Las leguminosas poseen una gran cantidad de compuestos tóxicos, tales como flavonoides, alcaloides, aminoácidos no proteicos y proteínas poco comunes. Muchos de estos metabolitos secundarios permanecen en el suelo e influyen decisivamente en la nutrición, adaptación, competencia, distribución y supresión de maleza, insectos y fitopatógenos (Escarzega, 1987).

Zentmeyer (1963) comprobó que la harina de alfalfa en dosis de 1-5% da buen control de *Phytophthora cinnamomi* en plántulas de aguacate, para lo cual fue muy importante mezclar harina de alfalfa en el suelo infestado. Concluyó

que el gran incremento en poblaciones microbianas con adición de alfalfa es aparentemente un factor importante en el control biológico de este hongo.

Zentmeyer (1967) demostró que las saponinas presentes en la harina de alfalfa eran otro factor involucrado en el mecanismo de control de *Phytophthora cinnamomi*, y que las fracciones de saponinas encontradas en la harina de alfalfa redujeron la formación de esporangios, decrecieron la formación de zoosporas a un nivel muy bajo y retardaron el crecimiento micelial. Sin embargo dos años más tarde, se encontró que el amonio está involucrado en la reducción de esta enfermedad con harina de alfalfa, y se comprobó que con la aplicación de modificadores orgánicos hay un gran incremento de competencia contra este hongo por otros microorganismos del suelo. Se concluyó que el amonio producido por la harina de alfalfa es un fungitóxico para *Phytophthora cinnamomi*, pero que en altas concentraciones puede resultar fitotóxico (Gilpatrick, citado por Rosas, 1985).

Rosas (1985) encontró que la alfalfa y el estiercol-metalaxyl inhibieron significativamente el desarrollo *Phytophthora cinnamomi* y permitieron el desarrollo de otros microorganismos antagónicos ayudando a obtener la producción más alta de frutos de calidad para el cultivo de aguacate.

La harina de alfalfa al 1% favorece el incremento poblacional de actinomicetos, *Trichoderma* y *Bacillus subtilis*, cuando se aplica al suelo para el control de la rabia del garbanzo *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (Nuñez, 1992).

Flores (1994) encontró al usar cobertura de alfalfa sola o combinada con fungicidas, reducen los daños de la rizósfera del crisantemo ocasionado por *Pythium ultimum* y *Rhizoctonia solani*, manifestándose en una reducción del número de plantas muertas, aumentando en un 25.7% la altura de la planta, un 75.8% diámetro del tallo y 41% el diámetro de la flor.

Lewis y Papavizas (1977) estudiando el efecto de residuos de algunas plantas sobre la germinación de clamidosporas de *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* encontraron que la avena (*Avena sativa*) y el centeno (*Secale cereale*) fueron las compostas más efectivas para la reducción de la severidad de la enfermedad, así mismo determinaron que la presencia o ausencia de nutrientes no tiene nada que ver con la germinación de las clamidosporas y que se supone, está restringida por una fungitoxina liberada durante la descomposición de residuos vegetales, esta toxina no fue determinada.

Chef (1983) indica que la marchitez por *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi* fue suprimida significativamente con la composta de corteza de leña dura, y la adición de perlita y arena al suelo. En este estudio se determinó la baja supresividad en aquellos tratamientos donde se aplicó corteza de pino al suelo.

Snyder *et al.* (1959) demostraron que la infección del frijol por *Rhizoctonia solani* disminuyó de manera significativa en el invernadero, mediante la incorporación de paja de cebada, trigo o maíz, en contraste con los residuos de alfalfa y de soya que incrementan su incidencia. Se asocia la reducción de la enfermedad con la relación C:N.

La incorporación de avena, cebada y maíz seco y las enmiendas con avena y maíz verde, han demostrado reducir las pudriciones de la raíz de frijol causadas por *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Thielaviopsis* (Cook y Baker, 1983; Lewis y Papavizas, 1975). La incorporación de un cultivo de cobertura de cebada, centeno, trigo o avena antes de la siembra de frijol en Nueva York, contribuyó a reducir la severidad de la pudrición de la raíz y aumentó el rendimiento de frijol, siempre y cuando se dejara suficiente tiempo para la descomposición de los residuos (Abawi, 1992; citados por Abawi y Thurston 1994).

Cook (1965), citado por Olivas (1970) al adicionar paja de cebada (10 días antes de la siembra) en suelos infestados con *F. solani* f. sp. *phaseoli*, logró abatir el efecto del patógeno sobre frijol y observó un marcado aumento en la población de *Chaetomium* sp., y de otros hongos comunes del suelo. Según el autor, es probable que la paja al ser degradada proporciona un sustrato más favorable al antagonico y, a la vez produjo inhibidores difusibles que actuaron sobre el patógeno.

Apodaca (1993) encontró que las poblaciones de *Fusarium oxysporum* disminuyeron significativamente después de un ciclo de arroz, lechuga y soya. La severidad de la enfermedad pudrición de la corona en tomate disminuyó en 69% en lechuga, 62% en soya y arroz y 53% en maíz y cempasúchil cuando se incorporaron las raíces y reducciones similares ocurrió al incorporar plantas completas.

Cano (1997) encontró que para el control de *Rhizoctonia solani* Kuhn en haba, los mejores tratamientos fueron paja de cebada + quintoceno + solarización y paja de cebada + benomil + solarización, pues presentaron los valores más bajos de infección, menor número de plantas muertas, mayor altura de la planta, mayor número de vainas y mejor rendimiento. Los tratamientos con paja de alfalfa presentaron el mayor porcentaje de infección, destacando paja de alfalfa y paja de alfalfa + solarización.

Ruiz (1999) concluyó que para la pudrición radical del frijol causada por *Rhizoctonia solani* Kuhn, el mejor tratamiento fue paja de cebada, ya que en el obtuvo el mayor número de plantas, infección moderada, mayor altura, mayor número de vainas, mayor peso seco y mayor rendimiento. No se recomienda el uso de la alfalfa.

2.4.2.2. Antagonistas

En el control biológico de fitopatógenos, los antagonistas son agentes biológicos que tienen el potencial para interferir en los procesos vitales de los fitopatógenos. Los antagonistas incluyen a toda clase de organismos como: hongos, bacterias, nemátodos, protozoarios, virus, viroides y plantas (Cook y Baker 1983).

Los mecanismos del antagonismo son: Antibiosis y lisis, competencia, parasitismo y depredación (Cook y Baker 1983).

Los hongos utilizados en el control biológico pertenecen a un gran número de especies diferentes como: *Trichoderma* spp., *Chaetomium globosum*, *Penicillium frequentans*, *Aspergillus radicola*, *Peniophora gigante*, *Cephalosporium roseum*, *Sporidesmium sclerotivorum* y hongos micorrízicos (Vega, 1989).

2.4.2.2.1. Género *Trichoderma*

2.4.2.2.1.1. Distribución

Las especies de *Trichoderma* se encuentran ampliamente distribuidas en todo el mundo y en casi todos los suelos y otros hábitats naturales, especialmente en aquellos que contienen materia orgánica. Algunas especies pueden estar restringidas en su distribución geográfica (Danielson y Davey, 1973).

Parece que *Trichoderma* comprende especies que son colonizadoras secundarias, como lo indican los frecuentes aislamientos de estos hongos en materia orgánica (Danielson y Davey, 1973). Se encuentran también sobre la superficie de las raíces de varias plantas (Parkinson *et al.*, 1963) sobre corteza

en descomposición, especialmente cuando es dañada por otro hongo (Danielson y Davey, 1973); y sobre esclerocios o propágulos de otros hongos (Wells *et al.*, 1972).

Danielson y Davey (1973) observaron que cuando mantienen condiciones secas en el suelo por largos periodos de tiempo, las poblaciones del hongo decrecen. Asimismo, concluyeron que ciertas líneas de *T. hamatum* y *T. pseudokoningii* están restringidas a áreas donde prevalecen bajas temperaturas, mientras *T. harzianum* se encuentra comúnmente en regiones cálidas. *T. hamatum* y *T. koningii* están ampliamente distribuidas en áreas de diversas condiciones climáticas.

Otros reportes sugieren que algunos determinantes, como las condiciones físicas y químicas también afectan la distribución de las diferentes especies, como son el pH del suelo, CO₂, HCO₃, sales y contenido de materia orgánica, incluso la presencia o ausencia de otros microorganismos en el suelo. El contenido de hierro también es importante en la preferencia de *Trichoderma* spp. Un estudio reciente mostró que las *Pseudomonas* spp. y la poca disposición de hierro en la rizosfera, limitan la eficacia del establecimiento de *Trichoderma* spp (Papavizas, 1985).

2.4.2.2.1.2. Establecimiento y proliferación en el suelo.

Lewis y Papavizas (1984) demostraron que *Trichoderma* prolifera abundantemente en varios suelos cuando es añadido en forma de micelio joven y está en contacto íntimo con un alimento base (salvado húmedo y esterilizado, inoculado con conidios e incubado de uno a tres días antes de la adición al suelo), mas no prolifera cuando éste hongo es inoculado en forma de conidios. La proliferación (arriba de 10⁶ veces el número de inóculo inicial), y su subsecuente establecimiento en el suelo (los niveles de población permanecen constantes de 9 a 36 semanas después de que la colonia es introducida)

depende de la edad del inóculo y la forma en que es añadido en relación al alimento base. La colonización completa del alimento base por el micelio de *Trichoderma*, lo capacita para crecer relativamente sin impedimentos por el suelo. La habilidad del micelio para proliferar en un sustrato puede deberse en parte a su insensibilidad a la fungistasis; en comparación con los conidios, la hifas son menos sensibles a ello (Lockwood, 1977).

Aunque hay escepticismo sobre la importancia que tiene los antibióticos u otros metabolitos tóxicos en la ecología del suelo, existen evidencias que tales metabolitos juegan un papel activo en la posesión de sustratos, ya que si la hifa produce metabolitos tóxicos cuando está en posesión activa de un sustrato, este la capacita para establecerse y lograr derechos territoriales (Bruehl, 1975).

2.4.2.2.1.3 Establecimiento en la rizosfera

Aunque *Trichoderma* se ha aislado de las raíces de las plantas y ha habido numerosos intentos para usarlo como biocontrol en ciertas enfermedades de las raíces (Cook y Baker, 1983; Papavizas y Lumsden, 1980), pocos investigadores han realizado estudios cuantitativos sobre la sobrevivencia, establecimiento o proliferación del hongo en la rizosfera de la planta, característica muy importante, ya que la efectividad de *Trichoderma* en experimentos sobre tratamientos a semillas, se debe probablemente no sólo a sus cualidades de agente de control biológico, sino también a su habilidad para multiplicarse en la rizosfera.

Los estudios de Papavizas en 1981, encontraron que *T. harzianum* no se estableció en la rizosfera de plántulas de frijol y chícharo, cuando se aplicó en forma de conidios a las semillas, ya que el número de colonias recuperadas por gramo de suelo fue siempre considerablemente menor que el número de conidios añadidos por semilla, indicando una falla en su capacidad de esporular

o de sobrevivir en la rizosfera, recuperándose muy pocas o incluso ninguna colonia de *T. harzianum* de las muestras del suelo y raíz tomadas a 10 cm de la semilla. En contraste, se recuperó un gran número de colonias cuando se incluyeron en las muestras los cotiledones con raíces y la cubierta de la semilla, observándose con esto, una falta de establecimiento de *Trichoderma* en la rizosfera de las plantas.

Entre las varias posibles explicaciones de la disminución del inóculo en la rizosfera o de su inhabilidad para proliferar, se encuentra la falta de nutrientes apropiados, la presencia de sustancias tóxicas en los exudados en la raíz, o la presencia de microorganismos antagonistas o competidores al nivel de la rizosfera. Hubbard *et al.* (1983) encontraron que *Pseudomonas* spp. puede competir con el hongo por hierro presente en la rizosfera o producir metabolitos tóxicos a *Trichoderma*.

2.4.2.2.1.4. Producción de metabolitos

Los primeros conocimientos de la producción de metabolitos tóxicos, por las especies de *Trichoderma*, se deben principalmente a Weindling (1941) quien mostró la producción de un metabolito antifungoso por *T. lignorum*. Weidling y Emerson (1936) aislaron en forma cristalina un metabolito orgánico muy tóxico, a una alta dilución, a *Rhizoctonia solani*. Posteriormente se le dió al metabolito, el nombre común de gliotoxina (Weidling, 1941). Brian y McGowan (1945) describieron un segundo metabolito, altamente fungistático, llamado viridina producido por *T. viride*.

Dennis y Webster (1971) mostraron que *Trichoderma* spp. produce otros antibióticos diferentes de la gliotoxina y la viridina. Aunque fueron incapaces de demostrar la producción de gliotoxina y viridina por nueve especies de *Trichoderma*, pudieron obtener la producción de otro metabolito soluble en cloroformo, denominado tricodermina, por *T. viride* y *T. polysporum*. También

obtuvieron otro metabolito péptido en cultivo de *T. Hamatum*, estos autores no excluyen la posibilidad, de que la gliotoxina y la viridina también sean producidas aunque sea en bajas concentraciones, por aislamientos de *Trichoderma*.

Trichoderma no es solamente una buena fuente de varios metabolitos tóxicos y antibióticos, sino también de varias enzimas tales como ellexo y endoglucanasas, celobiasa y quitinasa (Papavizas, 1985).

2.4.2.2.1.5. Potencial para el control biológico

Trichoderma spp. es un antagonista natural de varios hongos patógenos que se desarrollaron en los suelos y ha sido aplicado con buen éxito como agente de control biológico en invernaderos y en condiciones de campo. Es un eficiente micopárasito de un amplio rango de patógenos fungosos, incluyendo *Armillaria mellea*, *Phytophthora* spp., *Sclerotium rolfsii*, *Heterobasidion annosum*, *Chondrostereum purpureum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsi*, *Pythium* spp. *Botrytis cinerea* y *Penicillium digitatum* (Anónimo, 1986).

Las especies de *Trichoderma* usadas comúnmente dentro del control biológico son: *Trichoderma viride*, *T. hamatum*, *T. polysporum*, *T. koningii* y *T. harzianum*.

La primera vez que se utilizó a *Trichoderma* spp. fue en 1914 en el control de *Armillaria mellea*. Desde entonces ha sido extensamente estudiado por muchos científicos (Anónimo, 1986).

El mecanismo de *Trichoderma* para el control biológico es principalmente un micoparasitismo y competencia agresiva contra los patógenos. *Trichoderma* ataca al hongo hospedero envolviéndolo con sus hifas, enrollándose y atrapándolo. Las hifas también suelen penetrar al micelio del hongo hospedero

degradando parcialmente la pared celular; si bien esta penetración puede o no ocurrir, la hifa susceptible es vacuolada, colapsada y, finalmente, desintegrada. Algunas especies de *Trichoderma* también producen antibióticos y bajos niveles de pH, pero éste no es su mecanismo principal de control biológico (Anónimo, 1986).

Trichoderma spp. puede producir β -(1-3)-glucanasa, quitinasa y celulasa para lisar y solubilizar el micelio del hongo hospedero. Esta habilidad le hace posible parasitar a *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfii*, *Pythium* sp. y *Sclerotinia sclerotiorum* (Anónimo, 1986).

Ferrara (1976), citado por Villarreal (1988) probó *Trichoderma viride* sobre diversa especies de hongos fitopatógenos y saprofíticos. El hongo tuvo la capacidad de parasitar 14 de los 16 hongos examinados como huésped. Las especies parasitadas fueron: *Alternaria solani*, *Cunningamella blakesleana*, *Cunningamella echinulata*, *Rhizopus oryzae*, *Rhizopus* sp., *Rhizoctonia solani*, *Rhizopus stolonifer*, *Rhizopus arrhizus*, *Rhizoctonia callae*, *Rhizoctonia endophytica*, *Mucor rouxii* IM80, *Mucor rouxii* 1429, *Macrophomina phaseoli* y *Syncephalastrum* sp. Todos los fitopatógenos fueron susceptibles.

Villarreal (1988) encontró que *Trichoderma viride* inhibe totalmente el crecimiento de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* *in vitro* e inhibe parcialmente el ataque en invernadero a la vainilla.

Smith *et al.* (1990) desarrolló un sistema para identificar aislamientos de *Trichoderma* y *Gliocladium* con potencial para el control biológico de *Phytophthora cactorum*, su trabajo consistió en sembrar semillas de manzano, cultivar *Mcintosh*, en dos sustratos; uno infestado con *P. cactorum* y los agentes de control *Trichoderma* y *Gliocladium*, y el testigo sólo con el patógeno, obteniendo una significativa reducción en el daño a las raíces y un incremento en el peso de las plantas comparadas con aquellas sometidas al testigo.

McBeath y Adelman (1991) trabajaron con aislamientos de *Trichoderma* (CHS861) tolerantes al frío y sus biotipos resistentes al benomil, estos biotipos fueron capaces de inhibir el crecimiento y desarrollo de un amplio rango de patógenos de las plantas, demostrando la penetración y enrollamiento del micelio de *Trichoderma* alrededor y dentro del micelio de *Botrytis cinerea*, *Pythium* spp., *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia borealis*, *Typhula* spp. y *Coprinus psychromorbidus*. Asimismo, se observó al micelio de *Trichoderma* lisando colonias de *B. cinerea*. CHS861 y los biotipos produjeron sustancias proteicas antimicóticas las cuales inhibieron el desarrollo de los hongos fitopatógenos; también parasitaron a los esclerocios de *S. borealis* por el micelio de *Trichoderma* fue a través de grietas presentes en la corteza de éstos.

Cobos (1995) en su experimento de inoculación de *Trichoderma* spp. (Promot plus a una dosis de 42.5 g/3.78 lt de agua) a las raíces de gerbera cultivar "Marie Louise", evitó que las plantas fueran atacadas por *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri*, obteniendo un 83% de plantas sanas, mientras que los tratamientos donde no se aplicó *Trichoderma* spp. (testigos), el porcentaje de plantas sanas fue de 0%. Además promovió el desarrollo de las flores y la calidad.

López (1995) evaluó a los antagonistas *Candida* y *Trichoderma* sobre los hongos *Rhizoctonia* y *Fusarium* que causan que causan enfermedades de tipo radical en frijol, encontrándose un alto índice de daño donde se encontraba *Rhizoctonia* y un menor grado de daño donde se inoculó el complejo *Rhizoctonia-Fusarium*. En tratamientos donde estaba presente *Fusarium*, no se tuvieron efectos de daño a la planta, siendo éste controlado por *Trichoderma* y *Candida* al actuar estos de manera individual, disminuyendo su efecto al encontrarse en combinación, o al estar presente *Rhizoctonia*. De esto se concluye que es más difícil llevar el control biológico de *Rhizoctonia* con antagonistas, puesto que es muy agresivo.

Si bien *Trichoderma* es un agente efectivo de control biológico, sus efectos son más lentos que los originados por los pesticidas, ya que generalmente transcurren de 5 a 10 días antes de que *Trichoderma* muestre sus efectos. Es por esto que un campo donde los hongos patógenos se han diseminado, *Trichoderma* comúnmente no es tan efectivo como los fungicidas (Anónimo, 1986).

Por otra parte los agentes de control biológico son más sensibles a factores ambientales tales como suelo, pH, humedad, temperatura y luz solar, por lo que se deben aplicar con cautela para que den buenos resultados. *Trichoderma* es susceptible a los fungicidas y puede ser fácilmente destruido por los más comunes, lo cual reduce la factibilidad de usar a este hongo como agente de control biológico. Sin embargo, las investigaciones han detectado genotipos especiales, los cuales son más resistentes a muchos fungicidas, descubrimiento que aumenta el potencial de uso de *Trichoderma*. Por lo que estos agentes deben ser usados con propósitos preventivos más que correctivos (Anónimo, 1986).

2.4.2.2.1.6 Efectos sobre la promoción del crecimiento de las plantas

Además del control biológico de las enfermedades inducidas por patógenos, algunas especies de *Trichoderma* pueden también promover la germinación de semillas, el enraizamiento de estacas, desarrollo de plantas y floración. *Trichoderma harzianum* y *T. konningii* han sido estudiadas por sus efectos de estimulación sobre la germinación de las semillas, el desarrollo de las plantas y también se les ha reportado por su efecto de acortar los días a la floración (Liu, 1980).

Baker *et al.* (1986, 1988) sugieren que los efectos de la promoción del desarrollo se deben a:

- 1.- *Trichoderma* spp. tienen la habilidad de colonizar la superficie de las raíces e impedir el ataque de patógenos.
- 2.- *Trichoderma* spp. producen sustancias promotoras y estimuladoras del crecimiento.

Chang *et al.* (1986) notificaron las respuestas en crecimiento inducidas por *Trichoderma* spp. en varios cultivos hortícolas y florícolas. Los cultivos sembrados en suelo infestado por el hongo apresuraron su floración, incrementando el número de flores en crisantemo, petunias y vincas, asimismo, aumentó el peso seco de estas plantas y de otras, como el tomate, pimienta, pepinos y calabaza. Las semillas de pimienta germinaron dos días antes que los testigos.

Paulitz *et al.* (1985) observaron que los esquejes de clavel y crisantemo enraizaron más rápidamente cuando fueron tratados con *Trichoderma* spp., en comparación con esquejes a los cuales se les aplicó hormonas de enraizamiento. En el caso del crisantemo el producto final, después del trasplante obtuvo más altura, peso seco y fresco y mayor número de botones florales.

Un problema que involucraba el tiempo de floración fue solucionando por el uso de un biotipo de *T. harzianum*. Los compradores del estado de Colorado, E.U.A., prefieren adquirir plantas de maceta con varios botones y trasplantarlas a sus jardines en mayo, pero los periwinkles no producen botones florales por este tiempo aún cuando son sembradas en enero o febrero, bajo las condiciones climáticas de este estado. En un experimento desarrollado en invernadero, los periwinkles tratados con *Trichoderma harzianum* en un sustrato de salvado florecieron el 2 de mayo, tres veces más temprano que el testigo, el cual no tuvo floración completa hasta finales de junio, este ejemplo ilustra el potencial de *Trichoderma* para su uso en la industria ornamental (Chang *et al.* 1986).

Windham *et al.* (1985) investigaron la factibilidad de usar *Trichoderma harzianum* para aumentar el desarrollo de las plantas de maceta, inoculando a este agente en el medio de propagación y a plántulas de *Tagetes erecta* al momento del transplante. En ambos casos el porcentaje de floración y el número de flores por planta se vio incrementado.

Windham *et al.* (1986) observaron un aumento en el desarrollo de plántulas de tomate y tabaco, sembradas en un sustrato previamente esterilizado con vapor e inoculado con *Trichoderma harzianum* y *T. koningii*, obteniendo un incremento en el porcentaje de emergencia, en comparación con el testigo. Además, ocho semanas después del transplante, se incrementó el peso seco de raíces y retoños de estos cultivos.

2.4.2.3. Plantas fungicidas o fungistáticas

Los fungicidas botánicos se han utilizado por siglos, pero las investigaciones científicas al respecto se han estado efectuando en los últimos 15 años. De esta manera, de aproximadamente 1,600 especies de plantas con actividad biológica, existen alrededor de 400 contra 142 especies de hongos (Rodríguez, 1996)

Las plantas que han mostrado actividad contra hongos pertenecen principalmente a las Asteráceas (Compuestas), Bignoniáceas, Equisetáceas, Euforbiáceas, Fabáceas (Leguminosas), Lamiáceas (Labiadas), Lauráceas, Liliáceas, Loganiáceas, Malváceas, Quenopodiáceas, Rutáceas, Solanáceas y Zingiberáceas (Rodríguez, 1996).

2.4.2.3.1. AJO *Allium sativum*

El ajo es alimento (condimento) y medicina, pero también una herramienta, alternativa a las aplicaciones de productos químicos, para proteger las plantas contra insectos (Anónimo; Augusti, 1990; Rodríguez, 1996), bacterias (Anónimo; Rigau y Morell, 1984; Augusti, 1990; Rodríguez, 1996), nemátodos (Rodríguez, 1996) y hongos. (Anónimo; Augusti, 1990; Rodríguez, 1996).

2.4.2.3.1.1. Composición química

El ajo contiene aproximadamente 62.8% de agua, 29% de carbohidratos, en los que se incluye 3.9% de sacarosa, 6.3% de proteína, 0.1% de grasa, restos de calcio, hierro, zinc y sales fosforadas, y pequeñas cantidades de vitaminas, como tiamina, riboflavina, niacina y ácido ascórbico (Manjunath, 1948; Augusti, 1963). Según Purseglove (1985), el ajo contiene además, 0.8% de fibra y 1.0% de cenizas.

El ajo puede producir de 0.06 a 0.1% de aceite esencial, el cual está compuesto principalmente por disulfuro de dialilo (DADS), y pequeñas cantidades de disulfuro de alilpropilo (Nadkarni, 1954; Chopra *et al.*, 1956; Manjunath, 1948).

2.4.2.3.1.2 Investigaciones sobre ajo y otras plantas

Murt (1974) menciona que el crecimiento micelial y la germinación de esporas de especies aéreas y del suelo, fueron inhibidas mediante la aplicación de aceite natural del ajo. Las concentraciones que inhibieron el crecimiento fungoso fue de 100 a 100 ppm, para el crecimiento micelial y de 25 a 100 para germinación de esporas. El patógeno *Pyricularia oryzae* fue el que mostró más sensibilidad a los ensayos.

Prodesimo y Hang (1976) realizaron estudios con savia cruda de dientes de ajo fresco y concluyen que se tuvo una toxicidad variable a cultivos de *Colletotrichum gloesporoides*, *Curvularia tunata*, *Rhizopus stolonifer*, *Thielaviopsis* sp. y *Erwinia carotovora* var. *carotovora*.

Russel y Mussa (1977) realizaron ensayos con extractos de ajo y encontraron que inhibió el crecimiento *in vitro* de la pudrición del frijol causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *solani*.

Amonkar (1979), citado por González (1988) al probar diferentes concentraciones de ajo en el control de *Sphaceloma ampelinum*, llega a la conclusión que el aceite de ajo a 200 ppm, inhibe el crecimiento y arriba de 200 ppm, la germinación de las esporas.

Fenwick y Hanley (1985), citado por Brewster (1994) realizaron pruebas *in vitro* con extractos de cebollas y ajo demostrando su efecto al inhibir el crecimiento de más 80 especies de hongos fitopatógenos. La alicina se ha identificado tentativamente como fungicida o actividad fungistática contra varios hongos fitopatógenos y el di-disulfuro-2-propenil fue activo contra diez hongos de patógenos de planta. Extractos de ajo y cebolla son insecticidas y también han mostrado ser tóxicos para nemátodos fitoparásitos.

El ajo ha manifestado actividad contra 45 especies de hongos; entre éstos, controla a *Cercospora cruenta*, *Colletotrichum lindemuthianum*, *Diplodia natalensis*, *Fusarium oxysporum*, *Pythium ultimum*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* de la misma manera que lo hace maneb mezclado con zinc. Su eficiencia se debe a la presencia de sulfuro de alilo, alicina, sulfuro de alil-2-propilo, garlicina, sulfuro de polivinilo, sulfuro de alquilo, así como al aceite de ajo y al ajeno. La alicina contiene 40% de azufre, por lo que puede suponerse que el principio fungicida o fungistático sea el azufre. El producto comercial derivado del ajo se conoce comercialmente en México como Bio Crack. El

período de protección de los preparados de ajo, contra hongos, es de hasta 14 días. El ajo muestra su actividad biológica como polvo de la planta completa, extracto acuoso (infusión o macerado) de ajo fresco o seco y como extracto acetónico o alcohólico (Rodríguez, 1996)

García y Montes (1992) realizaron pruebas de germinación de esporas de *Alternaria solani* en suspensiones al 10 % de 50 especies de extractos vegetales, puestas en cámara humedad por 12 y 18 h. Definieron 3 grupos de extractos: uno con acción inhibitoria definida entre los que destacaron el ajo, chicalote y eucalipto; otro con acción estimuladora fueron la granada y el limón y un tercer grupo sin efecto definido. Estos mismos autores realizaron pruebas para la protección de plantas de jitomate variedad Floradade, con dos aplicaciones en la misma semana de extractos acuosos al 2% de 18 especies de plantas utilizadas en el experimento anterior, mas un fungicida maneb. Se encontró que la menor área foliar infectada fue de ajo, epazote, cempazuchil y yerbabuena.

Ark y Thompson, citados por Wilson *et al.* (1997) encontraron que los extractos de ajo contienen un fungicida potente. Ellos pudieron proteger melocotones eficazmente contra la pudrición del castaño (*Monilinia fruticola*) con preparaciones deorizadas de extracto de ajo.

Wilson *et al.* (1997) probaron 345 extractos de plantas y encontraron que las especies que más actividad antifungosa presentaron fueron *Allium* spp. y *Capsicum* spp. Una dilución del 10% de estos extractos registró baja densidad óptica (40.00 DO) en el crecimiento fungoso y la inhibición total de la germinación de esporas de *Botrytis cinerea* depues de 24 y 48 h. *A. sativum* presentó buena actividad antifungosa y ser útil en tratamientos tempranos de postcosecha, pero no se ha comercializado.

Palafox (1985) encontró un aumento en el porcentaje de plantas vivas de sandía variedad "Jubilee" bajo condiciones de invernadero, tratadas con hojas frescas, secas y extracto hervido durante dos minutos de *Helietta parvifolia* atacado por *Fusarium oxysporum* f. sp. *niveum*.

González (1988) en su estudio realizado para probar el ajo como antibacteriano, concluye que puede ser utilizado solo para *Xanthomonas campestris* pv. *phaseoli* ya que inhibe a concentraciones mínimas, así como para *X. campestris* pv. *vesicatoria*, ya que presentó diferentes grados de inhibición.

Lara y Marquez (1996) mencionan las hojas secas del bolbo (*Peamus bolbos* Molina: Familia Monimiaceae) disueltos con etanol:agua 1:1 es activa contra *Fusarium oxysporum*. Estos autores citan que las hojas del cempazúchil presenta actividad contra *F. oxysporum* y *F. solani*.

Hosoki *et al.* (1986) mencionan que los cormos de gladiola "Traveler" tratados con vapor de ajo, pasta de ajo y monosulfuro (extraído de la pasta de ajo), brotaron aproximadamente 10 días más temprano que el testigo.

Kubota *et al.* (1990), encontraron algunos compuestos en *Allium* spp. que pueden inducir la brotación en vid "Muscat of Alexandria". Estas sustancias activas fueron dialil disulfuro y dialil trisulfuro, y en "rakkio" fue dimetil disulfuro.

Sanchez (1992) encontró que la aplicación de ajo solo (4%) o mezclado con citrolina (2, 4 u 8%), al igual que la cianamida y citrolina, reduce el requerimiento de calor necesario para que se dé el inicio de brotación en yemas de ciruelo "Santa Rosa". También acorta el periodo de floración y brotación de yemas vegetativas.

II. MATERIALES Y METODOS

3.1. Localización del sitio experimental

La investigación se desarrolló durante el ciclo otoño-invierno de 1998-1999 y consistió de dos ensayos: el primero establecido el 13 de septiembre y el segundo el 20 de octubre de 1998, estos ensayos se realizaron en los invernaderos del señor Eloy Sánchez Vivar ubicados en San Pablo Isayoc, Municipio de Texcoco, Estado de México. La localidad se encuentra localizado a 19° 29' Latitud Norte y 98° 53' Longitud oeste, a una altura de 2,250 metros sobre el nivel del mar. Presenta un clima templado con lluvias en verano, con una precipitación media anual de 636.5 mm, una humedad relativa del 66% y una temperatura media anual de 15.2 °C (García, 1988).

3.2. Colecta de material enfermo y material experimental

El material fue colectado en San Pablo Isayoc, Texcoco, Estado de México, de plantas que manifestaron síntomas típicos de marchitez. Se tomaron muestras de crisantemo tipo margarita, de la variedad Puma de color morado que es altamente susceptible a *F. oxysporum*, se transportaron en bolsas de plástico al Laboratorio de Micología Agrícola del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

El material experimental utilizado fue crisantemo tipo margarita de la variedad de Puma color morado, con esquejes proporcionados por el productor; dicha variedad se adapta a las condiciones climáticas que se presentan en el área de establecimiento del ensayo, así como también ha demostrado ser altamente susceptible al ataque de *Fusarium*.

3.3. Aislamiento y purificación del patógeno

Los aislamientos se hicieron mediante la desinfestación superficial de trocitos de material de la zona de transición entre tejido sano y tejido enfermo, por un minuto en hipoclorito de sodio al 3%, enjuagados en agua destilada estéril durante dos minutos en dos ocasiones y transferidos a cajas petri con medio de cultivo papa-dextrosa-agar. Las cajas petri fueron colocadas en una estufa a 25 °C. Se realizaron revisiones continuas para ver el crecimiento del patógeno e ir eliminando cajas contaminadas. Las cajas que mostraron buen crecimiento del patógeno fueron usadas para realizar transferencias con el propósito de incrementar e ir purificando, para su posterior identificación.

3.4. Identificación del patógeno

Del material colectado se obtuvieron y se purificaron aislamientos con el mismo hábito de crecimiento y coloración del medio de cultivo. Para la correcta identificación se efectuaron preparaciones semipermanentes. Las características de cada cepa fueron observadas al microscopio compuesto. Su identificación se basó en las claves de Snyder y Hansen, citadas por Romero (1988).

3.5. Diseño experimental

Para ambos ensayos, el diseño experimental empleado fue el completamente al azar, con siete tratamientos y tres repeticiones respectivamente.

La unidad experimental fue representada por 0.36 y 0.24 m² de área cultivada para el primero y segundo ensayo respectivamente. El primer experimento tuvo un total de 7.56 m² y el segundo de 5.04 m². Es importante mencionar que por cada unidad experimental se tuvieron 30 plantas de

crisantemo tipo margarita puma color morado en el primer ensayo, mientras que el segundo se tuvo 20 plantas por unidad experimental. Las plantas estuvieron plantadas a una distancia de 10×12 cm.

3.6. Tratamientos

Los tratamientos evaluados se anotan en el Cuadro 1 y 2.

Cuadro 1.- Tratamientos evaluados para el control de *Fusarium oxysporum* en margarita puma morado, en el primer ensayo. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo de México. Septiembre de 1998.

Tratamientos	Dosis
1.- Tiabendazol (Tecto 60 ®)	1 g/l de agua
2.- Benomil (Benlate 50 PH®)	1.5 g/l de agua
3.- Ajo líquido (Bio Crack ®)	3 l /200 l de agua
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®) asperjado	42.5 g/3.78 l de agua
5.- Paja de alfalfa en cobertura	2 cms de espesor
6.- Paja de cebada en cobertura	2 cms de espesor
7.- Testigo absoluto	Sin aplicación

Cuadro 2.- Tratamientos evaluados para el control de *Fusarium oxysporum* en margarita puma morado, en el segundo ensayo. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Octubre 1998.

Tratamientos	Dosis
1.- Tiabendazol (Tecto 60 ®)	1 g/l de agua
2.- Benomil (Benlate 50 PH®)	1.5 g/l de agua
3.- Ajo líquido (Bio Crack ®)	3 l /200 l de agua
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®), inoculación al transplante	42.5 g/3.78 l de agua
5.- Paja de alfalfa incorporado	2 cms de espesor
6.- Paja de cebada incorporado	2 cms de espesor
7.- Testigo absoluto	Sin aplicación

3.7 Aplicación de los tratamientos

3.7.1 Aplicación de fungicidas

Se aplicó tiabendazol (Tecto 60®) a una dosis de 1 g/l de agua y benomil (Benlate50 PH®) a 1.5 g/l de agua, mediante la aspersión dirigido al cuello de las plantas de cada una las unidades experimentales. Es importante mencionar que en el primer ensayo la aplicación fue a los 19 días después del transplante, mientras que en el segundo ensayo la aplicación fue al mismo día del transplante y estos se aplicaron al cuello de la planta.

3.7.2 Aplicación de pajas

En el primer ensayo la paja de cebada y alfalfa se aplicó en cobertura a los 28 días después del transplante (ddt).

En el segundo ensayo las pajas de alfalfa y cebada fueron molidas e incorporadas un día antes del transplante.

3.7.3 Aplicación de *Trichoderma harzianum* (Trichodex 25®)

En el primer ensayo se realizó la aplicación de Trichodex 25® a los 19 ddt. en el suelo. Para el segundo ensayo la aplicación del Trichodex 25® fue mediante la inmersión de las raíces en la solución del producto. En ambos ensayos la dosis fue de 42.5 g/3.78 l de agua.

3.7.4 Aplicación de ajo líquido (Bio Crack®)

Se llevo a cabo en forma manual mediante la utilización de una aspersora manual. La dosis aplicada fue de 3 litros de producto comercial Bio

Crack® en 200 litros de agua. Se realizaron un total de 4 aplicaciones con intervalos de 8 días para el primer y segundo ensayo.

3.8 Evaluación de los tratamientos para el control de *Fusarium*

En el desarrollo de la investigación se utilizaron los siguientes parámetros para evaluar los tratamientos.

1.- Número de plantas muertas: En el primer ensayo se contabilizó el número de plantas muertas con síntomas de *Fusarium*. La primera evaluación se realizó a los 86 días (8 de diciembre de 1998) después del transplante (ddt) y el segundo conteo con un intervalo de 37 días después del primero (14 de enero de 1999). El primer conteo correspondió a la etapa vegetativa y el segundo en botón floral.

Para el segundo ensayo el primer conteo se realizó a los 49 ddt (8 de diciembre de 1998), y el segundo con un intervalo de 37 días después del primero (14 de enero de 1999). Ambos conteos correspondieron a la fase vegetativa.

2.- Altura de la planta: Esta operación se realizó con la ayuda de un flexómetro, para ambos ensayos se realizó una sola evaluación. Para el primer ensayo correspondió a la etapa de botón floral; mientras que en el segundo las plantas se encontraban en fase vegetativa.

3.- Incidencia: Esta variable hace referencia al número de plantas con síntomas. Para ambos ensayos se realizó un solo conteo. Para el primer ensayo fué a los 123 días después del transplante y en el segundo ensayo correspondió a los 86 días después del transplante.

4. -Porcentaje de infección: La determinación de esta variable se realizó una sola vez para ambos ensayos, considerando todas las plantas de cada parcela experimental. Para la evaluación de esta variable se estableció una escala visual que a continuación se describe:

Cuadro 3. Escala visual para evaluar el grado de infección de la parte aérea de plantas de margarita por *Fusarium oxysporum*. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México.1999.

Indice	Descripción
0	Planta sana (sin síntoma)
1	Leve amarillamiento en hojas inferiores
2	Amarillamiento hasta el tercio inferior
3	Amarillamiento y hojas necróticas en el primer tercio
4	Amarillamiento hasta el segundo tercio de la planta y hojas necróticas hasta el primer tercio
5	Hojas necróticas hasta el segundo tercio
6	Amarillamiento y necróticas más allá del segundo tercio
7	Planta muerta.

Fuente: Mendoza (1998)²

3.9 Análisis estadístico de datos.

Para las variables número de plantas muertas, altura de la planta e incidencia se les aplicó el análisis de varianza y la prueba de comparación de medias de Tukey ($\alpha=0.05$) con el paquete de análisis estadístico SAS®.

Para determinar el porcentaje de infección se aplicó la fórmula de Towsen y Heuberger (Unterstenhofer, 1976), que a continuación se muestra.

$$P = \frac{\sum(n. * v)}{\text{Categoría mayor} * N} * 100$$

Donde:

P =% de infección.

n = número de plantas en cada categoría.

v = valor numérico de cada categoría.

N = Número total de plantas en la muestra.

² Cecilio Mendoza Zamora. Comunicación personal. Director de tesis.

Una vez obtenido los resultados del porcentaje de infección se procedio a la aplicación del análisis de varianza y prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

3.10 Manejo del cultivo

Al cultivo se le proporciono un mes de iluminación artificial mediante el empleo de focos.

Se realizó un pichado cuando las plantas tenían aproximadamente 10-12 cms para ambas siembras.

La aplicación de los riegos fue a intervalos de 5 a 8 días que dependió de la intensidad luminosa. Se aplico fertilizante en agua de riego a los 29 ddt y otra a los 20 días, agregando 1.5 kg de cada una de las siguientes fuentes: triple 17, Nitrofoska y super triple a los 29 ddt.

En ambas fechas de siembra se realizó el control manual de malezas presentes. No se presentaron enfermedades foliares.

IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Identificación del patógeno

Una vez aislado al patógeno, se realizaron preparaciones temporales en lactofenol, se observó al microscopio compuesto que el patógeno presenta microconidios pequeños, elípticos e hialinos; conidióforos alargados; las clamidosporas son de una a dos células; los macroconidios son finos, alargados puntiagudos de tres a cinco septas, con pared delgada. La masa de esporas es de un color ocre rosa, pigmento de rosa, púrpura o violeta. Estas características coinciden con las reportadas por Romero (1988) para el hongo *Fusarium oxysporum*.

4.2 ENSAYO 1

4.2.1. Número de plantas muertas para la primera evaluación

El análisis de varianza (Cuadro 1 del Apéndice) para número de plantas muertas, muestra diferencias significativas entre tratamientos y la prueba de comparación de medias Tukey (Cuadro 4) indica que el tratamiento que presentó el menor número de plantas muertas fue el benomil con una media de 0.33 plantas; lo cual significa que el benomil al ser aplicado ejerce un efecto protector que se manifiesta en la sanidad de las plantas inhibiendo el crecimiento micelial (Green *et al.*, 1977, citado por Mendoza, 1992) de *Fusarium oxysporum*, por lo que se considera el mejor tratamiento, lo cual coincide con lo reportado por Jaimes (1977), Jarvis (1989) citado por Apodaca (1993) y Vital (1995).

El tratamiento con mayor número de plantas muertas fue paja de alfalfa con una media de 2.00 plantas, dicha respuesta se debió a que la cobertura se

incorporó ya muy tarde (1 mes después del transplante), y esta al empezar a degradarse posiblemente liberó amonio, pero que en altas concentraciones pudo resultar fitotóxico para la planta (Gilpatrick, citado por Rosas, 1985), además favoreció un microclima cálido que es favorable para el desarrollo de las poblaciones del patógeno, aunado a la presencia de días cortos presentes en este ciclo del cultivo que también favorecen el desarrollo del patógeno (Mendoza y Pinto, 1983). El resultado encontrado es apoyado por los resultados de Cano (1997) quien obtuvo el mayor número de plantas de haba muertas causado por *Rhizoctonia solani* Kuhn.

El tratamiento paja de cebada, produjo una media de 1.33 de plantas muertas, esto se debe también a una aplicación tardía de la paja puesto que se requiere de suficiente tiempo para su descomposición (Abawi, 1992; citados por Abawi y Thurston 1994), además que el material agregado tiene una relación C/N elevada, y los microorganismos que lo descomponen necesitan de mucho nitrógeno, estos al no encontrar la cantidad necesaria, posiblemente usaron el nitrógeno de otras fuentes para satisfacer sus necesidades; esto dió por resultado, que el nitrógeno temporalmente quedara fijado en la biomasa microbiana de modo que se produce la inmovilización del nitrógeno (Crovetto, 1992), provocando con ello una deficiencia nutrimental, puesto que no se agregó nitrógeno adicional; esto dejó más susceptible al cultivo al ataque del patógeno, provocando con ello más mortalidad.

El tratamiento con *Trichoderma harzianum*, asperjado en el suelo, no tuvo el efecto esperado, dado que este antagonico tiene que incorporarse con alimento base, (salvado húmedo y esterilizado, inoculado con conidios e incubado de uno a tres días antes de la adición en el suelo) para que pueda establecerse, mas no prolifera en el suelo cuando este hongo es inoculado en forma de conidios (Lewis y Papavizas, 1984). Además los agentes de control biológico son más sensibles a factores ambientales tales como: pH del suelo,

humedad, temperatura y luz solar por lo que se deben aplicar con precaución para que den buenos resultados (Anónimo, 1986).

El testigo absoluto se esperaba que fuera el peor de los tratamientos, pero no fue así, esto pudo deberse a la distribución al azar del patógeno en el suelo pudiendo ser coincidente que el testigo fuera ubicado en partes más sanas del terreno, además pudo haber ciertos organismos antagonicos al patógeno, que ejercen cierto control.

Cuadro 4. Comparación de medias del número de plantas muertas, de margarita puma morado, primera evaluación del ensayo 1. San Pablo, Isayoc, Texcoco, Edo. México. Diciembre de 1998.

No. de tratamiento	Media del número de plantas muertas	Comparación ($\alpha=0.05$)
5.-Paja de alfalfa en cobertura	2.00	a*
3.-Ajo líquido (Bio Crack)	1.88	a
6.-Paja de cebada en cobertura	1.33	ab
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®)	1.33	ab
1.-Tiabendazol (Tecto 60®)	1.33	ab
7.-Testigo	0.66	ab
2.-Benomil (Benlate 50 PH®)	0.33	b

*Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

4.2.2. Número de plantas muertas para la segunda evaluación

El análisis de varianza (Cuadro 2 del Apéndice) para número de plantas muertas, no muestran diferencias significativas entre los tratamientos aplicados; sin embargo existió una tendencia similar en el número de plantas muertas que en la primera evaluación, ya que de manera general los tratamientos empleados como control alternativo presentaron el mayor número de plantas muertas que el testigo y los productos fungicidas (Cuadro 5).

Aunque el análisis indica que los tratamientos son estadísticamente iguales entre sí; se aprecia en la prueba de Tukey (Cuadro 5), que el fungicida benomil es el mejor, ya que registro la media más baja de número de plantas muertas (0.66); por la razón mencionada en la primera evaluación.

Cuadro 5. Comparación de medias del número de plantas muertas, de margarita puma morado, segunda evaluación del ensayo 1. San Pablo, Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.

No. de tratamiento	Media del número de plantas muertas	Comparación ($\alpha=0.05$)
3.-Ajo líquido (Bio Crack®)	7.33	a*
6.-Paja de cebada en cobertura	6.33	a
5.-Paja de alfalfa en cobertura	6.33	a
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®)	4.66	a
1.-Tiabendazol (Tecto 60®)	3.33	a
7.-Testigo	2.33	a
2.-Benomil (Benlate 50 PH®)	0.66	a

*Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

4.2.3. Altura de plantas

El análisis de varianza (Cuadro 3 del Apéndice) para la variable altura de plantas muestra diferencias significativas entre los tratamientos aplicados y la prueba de comparación de medias (Cuadro 6) indica que los tratamientos son estadísticamente diferentes, siendo el mejor tratamiento el benomil con una media de 47.93 cm de altura, seguido del tiabendazol con media de 42.46 cm. Esto es debido que los fungicidas ejercen buen control sobre el patógeno de acuerdo a lo mencionado por Mendoza (1992), quien señala que los bencimidazoles, grupo que pertenecen estos dos fungicidas, ejercen un buen control de *Fusarium* spp., lo cual permitió buen desarrollo de las raíces y con ello mejor absorción de los nutrientes y agua; manifestándose en mayor crecimiento de la planta, es decir mayor altura.

Los tratamientos que manifestaron la menor altura, inclusive muy inferior al testigo corresponden a paja de cebada y *Trichoderma harzianum* con medias de 28.77 y 32.03 cm de altura respectivamente. En el caso de paja de cebada que mostró la menor altura probablemente sea debido a su incorporación tardía; y esta al iniciar el proceso de biodegradación por organismos como bacterias y hongos principalmente, estos requieren de una cantidad mayor de nitrógeno para poder descomponerlos (Gros, 1981; Crovetto, 1992), y puesto que material agregado al suelo tiene una relación C/N elevada, los microorganismos que lo descomponen al no encontrar suficiente nitrógeno, entonces usaron el nitrógeno de otras fuentes para satisfacer sus necesidades; esto dio por resultado, que el nitrógeno temporalmente quedara fijado en la biomasa microbiana de modo que se produce la inmovilización del nitrógeno (Crovetto, 1992), causando detención del crecimiento de la planta, que se manifiesta en poca altura. Para *Trichoderma harzianum* el efecto en la altura no fue favorable puesto que este al ser asperjado en el suelo necesita de alimento base (Lewis y Papavizas, 1984) o pudo deberse a la escases de nutrientes en el suelo para que pudiera establecerse, además pudo haber sido afectado por las condiciones de altas temperaturas que prevalecieron en el invernadero; o quizás necesita más tiempo para incrementarse y ejercer sus efectos.

Cuadro 6. Comparación de medias de la altura de plantas de margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo, Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.

No. de tratamiento	Media de la altura de plantas	Comparación ($\alpha=0.05$)
2.-Benomil (Benlate®)	47.93	a*
1.-Tiabendazol (Teccto 60®)	42.46	ab
7.-Testigo	36.61	bc
3.-Ajo líquido (Bio crack®)	34.33	bc
5.-Paja de alfalfa en cobertura	32.97	bc
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®)	32.03	c
6.-Paja de cebada en cobertura	28.77	c

*Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

4.2.4 Incidencia

El análisis de varianza (Cuadro 4 del Apéndice), no muestra diferencias significativas entre tratamientos, y la prueba de comparación de medias (Cuadro 7) aunque no muestra diferencia significativa para tratamientos, indica que las pajas presentaron la mayor media de incidencia con valores de 28.33 y 29.00. Para el caso de paja de alfalfa, este resultado coincide por los encontrados por Snyder *et al.* (1959), puesto que tiene una relación C/N baja, es decir hay mayor cantidad de N que favorece el desarrollo y multiplicación del patógeno (Mendoza y Pinto, 1983) que se manifiesta en mayor número de plantas muertas. Para paja de cebada, el resultado de mayor incidencia contrasta con lo encontrado por Snyder *et al.* (1959) puesto que la reducción en incidencia se asocia con la relación C/N, es decir que la paja de cebada presenta una relación C/N elevada, la cual resulta en competencia extrema por varios nutrientes como N y Fe y otros. Los microorganismos que descomponen la cebada son estimulados y son mejores competidores en el suelo y así inmovilizan a estos nutrientes en sus células y matan a los patógenos por inanición o imponen una condición fungistática en el suelo (Lewis y Papavizas, 1975).

Cuadro 7. Comparación de medias de incidencia de la enfermedad en margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo, Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.

No. de tratamiento	No. de plantas con incidencia	Comparación ($\alpha=0.05$)
6.-Paja de cebada en cobertura	29.00	a*
5.-Paja de alfalfa en cobertura	28.33	a
7.-Testigo	26.33	a
2.-Benomil (Benlate 50PH®)	25.66	a
1.-Tiabendazol (Tecto 60®)	25.66	a
3.-Ajo líquido (Bio Crack®)	25.66	a
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®)	24.33	a

*Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

4.2.5. Porcentaje de infección

El análisis de varianza (Cuadro 5 del Apéndice) indica que no existen diferencias significativas entre los tratamientos, es decir que los tratamientos son estadísticamente iguales entre sí; sin embargo, la prueba de comparación de medias Tukey (Cuadro 8) nos muestra que los tratamientos con menor porcentaje infección corresponden a Benomil y Tiabendazol con medias de 48.57 y 55.07 % respectivamente; esto explica que los fungicidas sistémicos evitan el desarrollo de la enfermedad en partes de la planta en donde se realizó la aplicación y aún en sitios donde no se aplicó el producto (Wain y Carter 1977, citados por Mendoza, 1992) hasta por un cierto tiempo; puesto que el producto no puede esperarse que dé una protección continua para toda la planta, porque la translocación puede estar limitada a ciertos tejidos y el compuesto esta sujeto a diluciones y posible descomposición metabólica con el crecimiento de la planta (Mendoza, 1992). Es importante mencionar que la diferencia de los resultados de estos fungicidas es debida a su penetración; ya que el benomil tiene mayor penetración comparado con el tiabendazol (Delp, 1987). Estos resultados de menor infección, coinciden con los encontrados por Vital (1995) para el patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp *cepae*, cuando aplicó Tiabendazol y Benomil.

Los tratamientos que mostraron el mayor porcentaje de infección corresponden a la paja de cebada y alfalfa en cobertura con medias de 67.93 y 66.66 % respectivamente. Para el caso de paja de alfalfa, estos resultados de mayor infección coinciden con lo encontrados por Cano (1997), para el cultivo de haba causado por *Rhizoctonia solani* Kuhn, Snyder *et al.* (1959) y Ruiz (1999) para frijol para este mismo patógeno. Cabe resaltar que la paja de cebada presentó la mayor infección puesto que necesita tiempo suficiente para su descomposición (Abawi, 1992; citados por Abawi y Thurston 1994); por esta razon el resultado contrasta por lo encontrado por Snyder *et al.* (1959), Abawi (1992) citados por Abawi y Thurston (1994) y Ruiz (1999) para frijol causado por

Rhizoctonia solani Kuhn puesto que estos autores lo incorporaron previo a la siembra, por ejemplo Ruiz (1999) incorporó la paja un mes antes para lograr la descomposición ya que este material es un buen promotor de organismo antagonicos a este patógeno.

En general se observó que para el caso de paja de cebada, esta debe incorporarse y no usarse como cobertura.

Cuadro 8. Comparación de medias del porcentaje de infección en margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo, Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.

Número de tratamiento	% de infección en plantas	Comparación ($\alpha=0.05$)
6.-Paja de cebada en cobertura	67.93	a*
5.-Paja de alfalfa en cobertura	66.66	a
3.-Ajo líquido (Bio Crack®)	61.90	a
7.-Testigo	55.87	a
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®)	55.55	a
1.-Tiabendazol (Tecto 60®)	55.07	a
2.-Benomil (Benlate 50 PH®)	48.57	a

*Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

4.3. ENSAYO 2

4.3.1. Número de plantas muertas para la primera evaluación

El análisis de varianza (Cuadro 6 del Apéndice) muestra que no existen diferencias significativas entre tratamientos, sin embargo, aunque los tratamientos son estadísticamente iguales (Cuadro 9), se puede observar que aquellos donde se aplicó Benomil y Tiabendazol son los mejores y el menos eficaz fue el tratamiento de alfalfa incorporado. Esto se explica porque los fungicidas ejercen su acción inmediata. La paja de cebada incorporada necesita de tiempo suficiente para ejercer sus efectos (Abawi 1992, citados por Abawi y Thurston 1994; Ruiz, 1999), al igual que *Trichoderma harzianum*.

Cuadro 9. Comparación de medias del número de plantas muertas, primera evaluación en margarita puma morado del ensayo 2. San Pablo, Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Diciembre de 1998.

No. de tratamiento	Media del número de plantas muertas	Comparación ($\alpha=0.05$)
5.-Paja de alfalfa incorporado	1.66	a*
7.-Testigo	0.66	a
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®)	0.50	a
6.-Paja de cebada en incorporado	0.33	a
3.-Ajo líquido (Bio Crack®)	0.33	a
2.-Benomil (Benlate 50 PH®)	0.00	a
1.-Tiabendazol (Tecto 60®)	0.00	a

*Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

4.3.2. Número de plantas muertas para la segunda evaluación

El análisis de varianza (Cuadro 7 del Apéndice) muestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos, y en la prueba de comparación de medias (Cuadro 10) se puede observar claramente que en este caso los mejores tratamientos fueron benomil, tiabendazol, *Trichoderma harzianum* y ajo; aunque resultaron ser estadísticamente iguales entre sí, con medias de plantas muertas de 0.00, 0.00, 1.00 y 2.00, respectivamente. El resultado favorable de los fungicidas Benomil y Tiabendazol posiblemente sea debido a que son protectantes efectivos y penetran al hospedante para inhibir post-infecciones o se mueve por el apoplasto a las partes de la planta no tratadas para proporcionar efectos preventivos o curativos (Delp, 1987), inhibiendo el crecimiento de *F. oxysporum* (Green *et al.*, 1977; citado por Mendoza, 1992) y son los tratamientos que ofrecieron un control total, lo cual es reforzado por lo encontrado por Jaimes, (1977), Jarvis (1989), citado por Apodaca (1993), y Vital (1995).

El tratamiento con *Trichoderma harzianum*, inoculado a la raíz, también fue uno de los mejores tratamientos, el cual puede suponerse que logró

sobrevivir, establecerse y multiplicarse en la rizosfera de la planta, debido a que no se vió afectado por condiciones ambientales de temperatura y luz solar (Anónimo 1986), ya que fue aplicado en inoculación a la raíz del esqueje de margarita e inmediatamente se procedió a transplantarse. Además, en el invernadero se dieron condiciones de temperatura que propició un microclima cálido que es el adecuado para la preferencia ecológica de este agente de control biológico (Danielson y Davey 1973); por otro lado en el suelo siempre existen cantidades no cuantificadas de materia orgánica que sirven de alimento, garantizando con ello su sobrevivencia y reproducción. Lo anterior capacita a *Trichoderma* ha ejercer un buen control de *Fusarium oxysporum*, y reducir el número de plantas muertas.

El mecanismo de *Trichoderma* de acuerdo con Anónimo (1986) es principalmente un micoparasitismo y competencia agresiva contra los patógenos. *Trichoderma* ataca al hongo hospedero envolviéndolo con sus hifas, enrollándose y atrapándolo. Las hifas también suelen penetrar al micelio del hongo hospedero degradando parcialmente la pared celular; si bien esta penetración puede o no ocurrir, la hifa susceptible es vacuolada, colapsada y, finalmente, desintegrada. Algunas especies de *Trichoderma* también producen antibióticos y bajos niveles de pH, pero éste no es su mecanismo principal de control biológico.

Los resultados obtenidos en esta investigación coinciden con los reportados por: Villarreal (1988) quien encontró que *Trichoderma viride* inhibe parcialmente el ataque de *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* en vainilla bajo invernadero; Cobos (1995) a su vez encontró que la inoculación de *Trichoderma* spp (Promot plus a una dosis de 42.5 g/3.78 lt de agua) a las raíces de gerbera cultivar "Marie Louise", evitó que las plantas fueran atacadas por *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora dreschleri*, obteniendo un 83% de plantas sanas, mientras que los tratamientos donde no se aplicó *Trichoderma* spp. (testigos), el porcentaje de plantas sanas fue de 0%. Sin embargo, *Trichoderma* como

agente de control biológico comúnmente no es tan efectivo como los fungicidas (Anónimo, 1986).

Otro de los mejores tratamientos es el ajo liquido, lo cual se explica porque tiene efectos antifungosos (Anónimo; Augusti, 1990; Rodríguez, 1996 y Wilson *et al.*, 1997), dado que controla a *Fusarium oxysporum* (Rodríguez, 1996), al reducir el número de plantas muertas. Los compuestos que ejercen efecto son: sulfuro de alilo, alicina, sulfuro de alil-2-propilo, garlicina, sulfuro de polivinilo, sulfuro de alquilo, así como al aceite de ajo y ajeno. La alicina contiene 40% de azufre por lo que puede suponerse que el principio fungicida sea el azufre (Rodríguez, 1996). Aunque no existen trabajos relacionados, Russel (1977) encontró que el ajo inhibió el crecimiento *in vitro* de la pudrición de frijol causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *solani*.

El tratamiento con paja de alfalfa incorporado presentó el mayor número de plantas muertas con media de 6.33. Esto se debió a que la paja de alfalfa al degradarse probablemente liberó amonio, pero que en altas concentraciones pudo resultar fitotóxico a la planta (Gilpatrick, citado por Rosas, 1985); además es importante mencionar que las leguminosas poseen gran cantidad de compuestos tóxicos, tales como flavonoides, alcaloides, aminoácidos no proteicos y proteínas poco comunes. Estos metabolitos secundarios al permanecer en el suelo pudieron resultar tóxicos al cultivo (Escarzega, 1987). El resultado encontrado es apoyado por Cano (1997), quien obtuvo el mayor número de plantas de haba muertas causado por *Rhizoctonia solani* Kuhn al aplicar alfalfa. Mientras que Flores (1994), no coincide con el resultado obtenido, pues obtuvo una reducción del número de plantas muertas de crisantemo causadas por *Pythium ultimum* y *Rhizoctonia solani*; esto posiblemente debido a que el patógeno principal en su estudio pudo haber sido *Pythium*, ya que la paja de alfalfa, se reporta que sí suprime el desarrollo de oomycetes, pero no de *R. Solani*. Respecto a la paja de cebada, la cual otros autores (Cano, 1997; Ruíz 1999) señalan como eficiente contra *R. Solani*, en

este estudio pudo no funcionar adecuadamente debido a que no fue incorporada con anticipación para que con su descomposición favoreciera el desarrollo de antagonistas, y ya sembrado el cultivo, estos lo protegieron del patógeno.

Cuadro 10. Comparación de medias del número de plantas muertas de la segunda evaluación en el cultivo de margarita puma morado, del segundo ensayo. San Pablo, Isayoc, Texcoco, Edo. México. Enero 1999.

No. de tratamiento	Media del número de plantas muertas	Comparación ($\alpha=0.05$)
5.-Paja de alfalfa incorporado	6.33	a*
6.-Paja de cebada incorporado	4.00	ab
7.-Testigo	2.33	ab
3.-Ajo líquido (Bio Crack®)	2.00	b
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®)	1.00	b
2.-Benomyl (Benlate 50 PH®)	0.00	b
1.-Tiabendazol (Tecto 60®)	0.00	b

Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

4.3.3 Altura de plantas

El análisis de varianza (Cuadro 8 del Apéndice) para altura de plantas, muestra que existen diferencias significativas entre tratamientos, y la prueba de comparación de medias (Cuadro 11) indica que los mejores tratamientos fueron el Tiabendazol con una altura promedio de 28.95 cm, y el Benomil con media de 25.62 cm, ambos tratamientos son estadísticamente iguales; seguidos por el tratamiento de *Trichoderma harzianum* con una media de altura de 22.02 cm. Los fungicidas ejercen buen control al eliminar las poblaciones del patógeno, lo cual permitió que hubiese menor daño a las raíces, lo cual se manifestó en un mayor crecimiento, es decir mayor altura.

Para el caso de *Trichoderma harzianum*, este favoreció el crecimiento del cultivo, de acuerdo a lo señalado por Baker *et al.* (1986, 1988).

El resultado obtenido por el antagonico para altura, coincide por lo encontrado por Paulitz *et al.* (1985) para crisantemo.

Los tratamientos que manifestaron la menor altura corresponden a pajas de alfalfa y cebada incorporados. Para paja de cebada, los resultados contrastan con los encontrados por Ruiz (1999), pues este autor menciona que la paja de cebada es un buen promotor de organismos antagonicos cuando son incorporados un mes antes de la siembra. La baja altura que se obtuvo para paja de cebada es atribuida a que requirió de mayor tiempo para su descomposición; esta al iniciar su proceso de biodegradación por organismos como bacterias y hongos principalmente, estos requieren de una cantidad suficiente de nitrógeno para poder descomponerlos (Gros, 1981; Crovetto, 1992), puesto que material incorporado tiene una relación C/N elevada, los microorganismos que lo descomponen al no encontrar suficiente nitrógeno, entonces usaron el nitrógeno de otras fuentes para satisfacer sus necesidades; esto dio por resultado, que el nitrógeno temporalmente quedara fijado en la biomasa microbiana de modo que se produce la inmovilización del nitrógeno (Crovetto, 1992), causando detención del crecimiento de la planta, que se manifestó en menor altura. Para paja de alfalfa incorporado, la baja altura se atribuye a que tiene una relación C/N baja, es decir, que existe mayor disponibilidad de N que es aprovechado por el patógeno para incrementar su desarrollo y multiplicación (Mendoza y Pinto, 1983) que dió como resultado una alta incidencia y a un alto porcentaje de daño; manifestándose en poco crecimiento. Además como lo menciona Linderman y Gilbert (1975) que durante la descomposición de ciertos materiales orgánicos pueden producirse metabolitos fitotóxicos que pueden, directa o indirectamente, ejercer un efecto adverso sobre el crecimiento de las plantas.

Cuadro 11. Comparación de medias de la altura de plantas en el cultivo de margarita puma morado, del segundo ensayo. San Pablo, Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.

No. de tratamiento	Media de la altura plantas	Comparación ($\alpha=0.05$)
1.-Tiabendazol (Tecto 60®)	28.95	a*
2.-Benomil (Benlate 50 PH®)	25.62	ab
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®)	22.02	bc
7.-Testigo	21.10	bcd
3.-Ajo líquido (Bio Crack®)	19.47	bcd
6.-Paja de cebada incorporado	14.87	cd
5.-Paja de alfalfa incorporado	14.95	d

*Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

4.3.4 Incidencia

El análisis de varianza (Cuadro 9 de Apéndice) no muestra diferencia significativa para tratamientos; sin embargo, se aprecia (Cuadro 12) que los fungicidas fueron los mejores tratamientos, ya que la paja de cebada ha sido inconsistente para el resto de las variables; pero en este parámetro fue el tratamiento con menor incidencia.

Cuadro 12. Comparación de medias de incidencia de la enfermedad en margarita puma morado, del ensayo 2. San Pablo, Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.

No. de tratamiento	No.de plantas con incidencia	Comparación Tukey ($\alpha=0.05$)
7.-Testigo	19.33	a*
5.-Paja de alfalfa incorporado	18.66	a
3.-Ajo líquido (Bio Crack ®)	18.00	a
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®)	17.33	a
2.-Benomil (Benlate 50 PH®)	16.66	a
1.-Tiabendazol (Tecto 60®)	16.00	a
6.-Paja de cebada incorporado	15.66	a

*Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

4.3.5. Porcentaje infección

El análisis de varianza (Cuadro 10 del Apéndice) para este parámetro muestra que existen diferencias significativas entre los tratamientos, y la prueba de comparación de medias Tukey (Cuadro 13) indica que los tratamientos son estadísticamente diferentes, destacando como los mejores el Tiabendazol y Benomil con medias de 37.38 y 39.04%, respectivamente. La razón de esta bajo porcentaje de infección se debe a efectos curativos y preventivos a la planta (Wain y Carter 1977, citados por Mendoza, 1992). Los resultados de menor infección, coinciden con los encontrados por Vital (1995) para el patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp *cepae*, cuando aplicó Tiabendazol y Benomil.

Los fungicidas como mejores tratamientos fueron seguidos por *Trichoderma harzianum* y ajo, con medias de infección de 45.95 y 49.76 % respectivamente, ambos tratamientos son estadísticamente iguales. Para *Trichoderma harzianum* que disminuyó el porcentaje de infección, se puede deber probablemente a que éste al permanecer en la rizosfera de la planta logró un micoparasitismo y competencia agresiva para el patógeno *Fusarium oxysporum*, disminuyendo a cierto punto a las poblaciones del patógeno; y esto se manifestó en menor severidad en la planta. Este resultado es apoyado por López (1995), quien encontró que *Trichoderma* controla a *Fusarium* al no encontrar daños en plantas de frijol.

El tratamiento que mostró el mayor porcentaje de infección fue paja alfalfa incorporado con media 63.33 %. La alta infección presentada coinciden con lo encontrados por Cano (1997), para *R. solani* en el cultivo de haba, Snyder *et al.*, (1959) y Ruiz (1999) en frijol para este mismo patógeno.

Cuadro 13. Comparación de medias del porcentaje de infección en margarita puma morado, del ensayo 2. San Pablo, Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.

No. de tratamiento	% de infección en plantas	Comparación ($\alpha=0.05$)
5.-Paja de alfalfa incorporado	63.33	a*
7.-Testigo	56.66	ab
3.-Ajo líquido (Bio Crack®)	49.76	bc
6.-Paja de cebada incorporado	46.66	bc
4.- <i>Trichoderma harzianum</i> (Trichodex 25®) inoculado	45.95	bc
2.-Benomil (Benlate 50 PH®)	39.04	c
1.-Tiabendazol (Tecto 60®)	37.38	c

*Los tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales de acuerdo a la prueba de Tukey ($\alpha=0.05$).

V. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos, para las condiciones particulares del experimento, se concluye lo siguiente:

1.- En general los fungicidas benomil y tiabendazol fueron los mejores tratamientos ya que en ellos se obtuvo el menor número de plantas muertas, mayor altura de plantas, menor incidencia y menor porcentaje de infección.

2.- *Trichoderma harzianum* en su formulación "Trichodex 25 " asperjado al suelo no tiene efectos, pero si los tiene cuando es inoculado a la raíz; ya que promovió el crecimiento, redujo la incidencia y el porcentaje de infección.

3.- El ajo en su formulación "Bio Crack" mostró ligeros efectos en numero de plantas muertas, incidencia y porcentaje de severidad.

4. La aplicación de paja de alfalfa en cobertura e incorporado después o al transplante ejerce efectos negativos para todos los parámetros evaluados.

5.-La paja de cebada en cobertura aplicado después del transplante no muestra efectos satisfactorios para los parámetros evaluados, al igual que cuando esta paja es incorporado al transplante, aunque muestra ligeros efectos positivos en incidencia y porcentaje de infección.

VI. LITERATURA CONSULTADA

- Abawi, G. S. y H. D. Thurston. 1994. Efecto de las coberturas y enmiendas orgánicas al suelo y de los cultivos de cobertura sobre patógenos del suelo y enfermedades radicales: una revisión. En: TAPADO los sistemas de siembra en cobertura. Ed. H. David Thurston, Margaret Smith, George Abawi y Steve Kearl. Cornell International for Food Agriculture and Devepment (CIIFAD), Cornell University, Ithaca, New York, USA. 97-108 pp.
- Anónimo.---. Bio Crack. New Age Chemistry de Mexico 4 p.
- Anónimo.1986, Promot Plus, Biological Growth Promoter. J. H. Biotech, INC. Ventura, California, USA. 6 p.
- Anónimo. 1989. Cultivo de crisantemo. Boletín informativo No. 211. Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura en el Banco de México. Morelia, Michoacán. 43 p.
- Anónimo. 1995. Situación actual del cultivo de crisantemo en México. Dirección General de Sanidad Vegetal. Secretaría de Agricultura, Ganadería y Desarrollo Rural, Mexico, D. F.
- Apodaca, S. M. A. 1993. Efecto de seis cultivos en la pudrición de la corona del jitomate (*Lycopersicum esculentum* Mill) causada por *Fusarium oxysporum* Schlecht f. sp. *radicis-lycopersici* Jarvis y Shoemaker en invernadero. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 55 p.
- Arbos, L. A. M. 1992.El crisantemo cultivo multiplicación y enfermedades. Ediones Mundiprensa. Madrid, España. 124-137 pp.
- Augusti, K. T. 1963. *Allium cepa* L. And *Allium sativum* L., in orally effective hypoglycemic principles from plant souces. Ph. D. Thresis University of Rajasthan. Jaipur, India. 52 p.

- Augusti, K. 1990. Therapeutic and medicinal values of onions and garlic. In: Rabinowitch, H. D. And J. L. Brewster (eds.) Onions and allied crops III. CRC. Press. Florida. 93-108 p.
- Baker, K. F. , and R. J. Cook. 1974 (Original ed.). Biological control of plant pathogens. W. H. Freeman, San Francisco. Reprinted ed, Amer. Phytopathol. Soc., St. Paul, MN. 433 p.
- Baker, R., T. Paulitz, M.T. Windham and Y. Elad. 1986. Enhancement of Growth of Ornamentals by Biological Control Agent. Col. Grow. Assoc. Res. Bull., 431, 1.
- Baker, R. 1988. *Trichoderma* spp. as Plant Growth Stimulants. CRC; Critical Rev. In Biotechnology, Vol. No.7
- Brewster, J.L. 1994. Onions and other vegetable Alliums. CAB INTERNATIONAL. USA. 209 pp.
- Brian, P. W. And McGowan, J.C. 1945. Viridin: A: A highly fungistatic substance produce by *Trichoderma viride*. Nature 156:144-145.
- Bruehl, P.W. 1975. Systems and mechanisms of residue possesion by pioneer fungal colonists. In: Biology an Control of Soil Borne Plant Pathogens, ed, G.W. Bruehl, St. Paul Minn. Am. Phytopathol. Soc. 216 pp.
- Cano, H. R. 1997. Integración de métodos para el control de *Rhizoctonia solani* Kuhn en haba (*Vicia faba* L.) Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 149 p.
- Chang, Y. C., R..Baker, O. Kleifield and I. Chet. 1986. Incresed Growth of Plant in the Presense of the Biological Control Agent *Trichoderma harzianum*. Plant disease. 70:145.
- Chef, D. G. 1983. Effects of organic component in container media on suppression of *Fusarium* wilt of Chrysanthemun and flax. Phytopathology 73 (2): 279-281.
- Cobos, P. N. H. 1995. Evaluación de *Trichoderma* spp. (Promot plus) como agente de control biológico contra *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri*, y como promotor de la producción en gerbera. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Mexico. 96 p.

- Cook, R. J. and F. K. Baker . 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. Amer. Phytopathol. Soc., St. Paul, MN. 539 p.
- Crovetto, L. C. 1992. Rastrojos sobre el suelo. Crovetto Lamarca Carlos (Ed.). Santiago de Chile, Chile. 168-169 pp.
- Danielson, R. M. and Davey, C. B. 1973. The abundance of *Trichoderma* propagules and the distribution of species in forest soils. Soil. Biol. Biochem. 5 : 485-494
- Dennis, C. and Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species-groups of *Trichoderma*. I. Production of nonvolatile antibiotic. Trans. Brit. Mycol. Soc. 57:25-39.
- Delp, C.J. 1987. Benzimidazole and related fungicides. In: Lyr, H. (Ed.): Modern selective fungicide-properties, applications, Mechanisms of action. Longman Group Uk Ltd., London, and Veb Gustav Fisher Verlag, Jena, 1987. 233-244 pp.
- Escarzega, G. A. 1987. Determinación del potencial alelopático del "nescafé" (*Stizolobium pruriens*) sobre cinco cultivos y tres malezas. Tesis de Licenciatura. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey, Campus Qro. Méx. 80 p.
- Fisher N. L. and T. A. Toussoun. 1983. Sut inoculations do not incite *Fusarium* wilt of chrysanthemum caused *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*. Plant disease 67 (5): 532-533.
- Flores, C. E. 1994. Manejo integrado de hongos que dañan la rizosfera del crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 109 p.
- Forsberg, J. L. 1976. Diseases of ornamental plants. 2nd. Editon. University of Illinois Press. Urbana, Chicago, U.S.A. 220 p.
- Fry, E. W. 1982. Principles of Plant Disease Management. Academic Press, Inc. San Diego, California, U.S.A. 378 p.
- García, E. 1988. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Koppen. Cuarta Edición. Talleres Offset Larios, S.A. México, D.F. 46-49, 50-51 pp.

- García, L. R. y Montez B. R. 1992. Efecto de extractos vegetales en la germinación de esporas y en los niveles de daño de *Alternaria solani* en jitomate. ITA No. 23, CIDIR-IPN Oaxaca, Oax.
- García, F. A. L. 1994. Guía para cultivar flor de crisantemo en invernadero. Folleto de Producción No. 1. Secretaria de Desarrollo Agropecuario. Gobierno del Estado de México. 10 p.
- González, G. J. 1988. Ensayos para la utilización de ajo (*Allium sativum* L.) como antibacteriano. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, Mexico. 75 p.
- Green, M. B., Hartley, G. S. and T. F. West. 1977. Chemicals for crop protection and pest control. Pergamon, Press. England. 129-139 pp.
- Horst, R. K. and P. E. Nelson. 1975. Diseases of chrysanthemum. Information Bulletin 85. College of Agriculture and Life Sciences. Cornell University, Ithaca, New York.
- Hozoki, T., Sakai, Y., Hamada, M. and K. Taketani. 1986. Breaking bud dormancy in corms and trees with sulfide compounds in garlic and horseradish. HortScience 21:114-116.
- Hubbard, J.P. Harman, G.E. and Hadar, Y. 1983. Effect of soilborne *Pseudomonas* spp. of the biological control agent, *Trichoderma hamatum*, on pea seeds. Phytopathology 73:655-659.
- Jaimes, S. F. 1977: Control de la pudrición del bulbo de la gladiola causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *gladioli*. (Massey) Snyder y Hansen. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura. Chapingo, México. 41 p.
- Kubota, N., K. Toryu and K. Shimamura. 1990. Breaking of bud dormancy in grapevines by sulfide compounds of garlic (*Allium sativum*). Resumen (1903). Int. Hort. Congr. Florencia Italia 1 XXIII. S/P.
- Lara, O. F. y Marquez, A. C. 1996. Plantas medicinales en México. Composición, usos y actividad biológica. UNAM. Mexico, D.F. 19-19 pp.

- Lewis, J. A. and G. C. Papavizas. 1975. Survival and multiplication of soilborne plant pathogens as affected by plant tissue amendments. In: Biology and control soilborne plant pathogens. Ed. G. W. Bruehl, APS, St Paul, MN. 84-89 pp.
- Lewis, J. A. and G. C. Papavizas. 1977. Effect of plant residues on chlamydospore germination of *Fusarium solani* f. sp., *phaseoli* and *Fusarium* root rot of beans. *Phytopathology* 67: 925-929.
- Lewis, J. A. and G. C. Papavizas. 1984. Chlamydospore formation by *Trichoderma* spp. in natural substrates. *Can. J. Microbiol.* 30:1-7.
- Linderman, R. G. and R. G. Gilbert 1975. Influence of volatiles of plant origin on soilborne pathogens. In: Biology and control soilborne plant pathogens. Ed. G. W. Bruehl, APS, St Paul, MN. 90-99 pp.
- Liu, S.D. 1980. Growth promotion effect of *Trichoderma* spp. Department of Plant Protection. National Ping Tung Institute of Agriculture. Ping Tung Taiwan. 9 p.
- Lockwood, J. L. 1977. Fungistasis in soils. *Biol. Rev.* 52: 1-43.
- López, I. J.C. 1995. Control biológico de *Rhizoctonia* y *Fusarium* mediante el uso de organismos antagonicos en frijol. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo, Bermejillo, Durango. 60 p.
- Manjunath, B. L. 1948. *Allium cepa* L. And *Allium sativum* L.. In: Manjunath, B. L. (ed) The wealth of India. Raw Materials I. Council of Scientific and Industrial Research. Government of India, Delhi. 56 p.
- McBeath, J;H. And Adelman, M. 1991. Effects of cold tolerant *Trichoderma* on pathogenic fungi. *Phytopathology*. . 81 (10):1151.
- Mendoza Z. C.y B. Pinto C. 1983. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Depto. de Parasitología Agrícola, UACH, Chapingo México 122-124 pp.
- Mendoza, Z. C. 1992. Fungicidas sistémicos y su modo de acción. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 1, 19, 33-35, 69-74 pp.

- Nadkarni, K. N. 1954. *Allium cepa* L. And *Allium sativum* L.. In: Puranok, M. V. And G. R. Bhatkal (eds.) The indian materia medica. Popular Book Depot, Bombay. P. 63.
- Nuñez, C. R. D. 1992. Estudio sobre el control biológico de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ciceri* (Podwrik) Snyder y Hansen causante principal de la "rabia" del garbanzo en el Valle de Culiacan, Sinaloa. Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología.
- Olivas, E. E. 1970. Estudio sobre el control biológico de *Fusarium solani* f. sp, *phaseoli*. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 46 p.
- Palti, J. 1981. Cultural practices an infections crop diseases. Springek Verlag Berlin Heidelbeg. New York. 118-123 pp.
- Papavizas, G. C. and Lumsden, R. D. 1980. Biological control of soilborne fungal propagules. Ann. Rev. Phytopathology 18:389-413.
- Papavizas, G.C. 1981. Supervial of *Trichoderma harzianum* in soil and in pea and bean rhizosphere. Phytopathology 71:121-125.
- Papavizas, G. C. 1985. *Trichoderma* and *Gliocladium*: Biology, Ecology and Potential for Biocontrol. Ann. Rev. Phytopthol. 23:23-54.
- Parkinson, D., Taylor, G. S. and Pearson, R. 1963. Studies on fungi inthe root region. I. The development of fungi on young roots. Plant Soil 19: 322-349.
- Paulitz, T., M.T. Windham and R. Baker. 1985. The effects of *Trichoderma harzianum* on Rooting of Chysanthemun Cutting. Phytopathology. (75):133.
- Ponce, G. F. 1992. Enfermedades del crisantemo. Memorias del II curso de acreditación técnica en el manejo y certificación fitosanitaria de ornamentales. Depto de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo.
- Prodesimo, A. N. and L. L. Hang. 1976. Toxity of garlic juice to plant pathogenic organisms. Kolikasam 5 (7):251-268.

- Purseglove, J. W. 1985. Tropical crops: Monocotyledons I. Longman, New York. 607 p.
- Rigau, A. y D. Morell 1984. Cultivo de cebollas, puerros y ajos. Sintés, Barcelona 120 p.
- Romero, C. S. 1988. Hongos Fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Dirección de Patronato Universitario, A.C. Primera Reimpresión. Chapingo, México. 308-316 pp.
- Romero, C. S. 1996. Plagas y enfermedades de ornamentales. Universidad Autónoma Chapingo. Dirección de Patronato Universitario, A.C. Primera Edición Chapingo, México. 75-94 pp.
- Russel, P.E. and A.F.A. Mussa. 1977. The use of garlic juice (*Allium sativum* L.) extracts to control root rot of *Phaseolus vulgaris* caused by *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli*. Plant Pathology 56:56
- Rodríguez, H. C. 1996. Control alternativo de insectos plaga. Cesáreo Rodríguez Hernández (Ed). Colegio de Postgraduados y Fundación Mexicana para la Educación Ambiental A. C. Tepetzotlán, Edo de México. 52-58 pp.
- Rosas, R. M. 1985. Influencia del estiércol, alfalfa, metalaxyl y sus combinaciones en la dinámica poblacional del hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands agente causal de la tristeza del aguacate (*Persea americana* Mill). Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 78 p.
- Ruiz, T. J. M. 1999. Manejo integrado de la pudrición radical del frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) por *Rhizoctonia solani* Kuhn en Chapingo, México. Tesis de Maestría en Ciencias. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Méx. 98 p.
- Sánchez, E. P.J. 1992. Manejo de enfermedades fungosas del crisantemo (*Crysanthemum* sp.) en invernadero, en la zona de Texcoco, Edo de México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 42 p.

- Smith, V.L., Wilcox W.F: and Harman G.E. 1990. Potential for biological control of *Phytophthora* root and crown rot of apple by *Trichoderma* and *Gliocladium* spp. *Phytopathology*. 80(9):880-885.
- Snyder, W. C., M. N. Schroth and T. Christou. 1959. Effect of plant residues on root rot beans. *Phytopathology* 49: 755-756.
- Unterstenhofer, G. 1976. The basic principles of crop protection field trials. *Pflanzenschutz-Notrichten*. Bayer. 29: 83-180.
- Vega, M. M. L. 1989. Avances y perspectivas del control biológico de fitopatógenos en México. Tesis de Licenciatura. Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo "Presidente Juárez". Uruapan, Michoacán. México. 92 p.
- Villegas, R. H. 1997. Manual del cultivo de crisantemo. Humberto Villegas Rodríguez (Ed). Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 48 p.
- Villarreal, T. C. 1988. Pruebas preliminares para el control biológico del agente causal de la pudrición basal de la vainilla *Vanilla planifolia* Andrews utilizando *Trichoderma viride* (Pers) en pruebas in vitro e invernadero. Tesis de Maestría. Instituto Tecnológico de Estudios Superiores de Monterrey. Monterrey. 53 p.
- Vital, T. F. 1997. Evaluación de fungicidas para el control de la pudrición basal (*Fusarium oxysporum* Scheele f. sp. *cepae* (Hanz) Snyd y Hans) de ajo (*Allium sativum* L) en Chapingo, México. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. 62 p.
- Weindling, R. 1941. Experimental consideration of the mold toxins of *Trichoderma* and *Gliocladium*. *Phytopathology* 31:991-1003.
- Weindling, R. and Emerson, O.H. 1936. The isolation of a toxic substance from the culture filtrate of *Trichoderma*. *Phytopathology* 26:1068-1070.
- Wells, H. D., Bell, D. K: and Jaworski, C.A. 1972. Efficacy of *Trichoderma harzianum* as a biocontrol for *Sclerotium rolfsii*. *Phytopathology* 26: 1068-1070.

- Wilson, C.L., Solar, J.M., El Ghaouth, A. and Winsniewski, M.E. 1997. Rapid evaluation of plant extracts and essential oils for antifungal activity against *Botrytis cinerea*. Plant. Dis. Vol 81 No. 2 81:204-210.
- Windham, M. T., Elad, Y. And Baker, R. 1986. A mechanism for increased plant growth induce by *Trichoderma* spp. Phytopathology 76:518-521.
- Zentmeyer, G. A. 1967. The effect of saponis from alfalfa of *Phytophthora cinnamomi* in relation to control of root rot avacado. Phytopathology 57: 1278-1279.

VII. APENDICE

Cuadro 1. Análisis de varianza del número de plantas muertas, primera evaluación del ensayo 1 de margarita puma color morado. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México, diciembre de 1998.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Pr>F.
Tratamientos	6	19.52	3.25	2.81	0.0185*
Error	56	64.89	1.16		
Total	62	84.41			

*Existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 2. Análisis de varianza del número de plantas muertas, segunda evaluación del ensayo 1 de margarita puma morado. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Pr>F.
Tratamientos	6	106.47	17.14	2.42	0.0812 NS
Error	14	102.66	7.33		
Total	20	209.14			

NS No existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 3. Análisis de varianza de la altura de plantas de margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Pr>F.
Tratamientos	6	23669.97	3944.99	7.68	0.0001*
Error	623	320137.8	513.86		
Total	629	343807.77			

*Existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 4. Análisis de varianza de la incidencia de *Fusarium oxysporum*, en margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo de México. Enero de 1999.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Pr>F.
Tratamientos	6	49.14	8.19	0.81	0.58 NS
Error	14	142.17	10.14		
Total	20	191.14			

NS No existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 5. Análisis de varianza del porcentaje infección de *Fusarium oxysporum*, en margarita puma morado, del ensayo 1. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo de México. Enero de 1999.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Pr>F.
Tratamientos	6	877.76	146.29	2.13	0.115 NS
Error	14	963.78	68.84		
Total	20	1841.54			

NS No existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 6. Análisis de varianza del número de plantas muertas, primera evaluación ensayo 2 de margarita puma color morado. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo de México, diciembre de 1998.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Pr>F.
Tratamientos	6	11.66	1.94	2.07	0.0817 NS
Error	35	32.83	0.93		
Total	41	44.5			

NS No existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 7. Análisis de varianza del número de plantas muertas de margarita puma morado, segunda evaluación del ensayo 2. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo de México. Enero de 1999.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Pr>F.
Tratamientos	6	94.47	15.71	7.04	0.0013*
Error	14	31.33	2.23		
Total	20	125.81			

*Existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 8. Análisis de varianza de la altura de plantas de margarita puma color morado, del ensayo 2. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo de México. Enero de 1999.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Pr>F.
Tratamientos	6	7623.78	1270.63	9.36	0.0001*
Error	413	56057.22	135.73		
Total	419	63680.99			

*Existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro .9 Análisis de varianza de la incidencia de *Fusarium oxysporum*, en margarita puma morado ensayo 2. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Pr>F.
Tratamientos	6	33.19	5.6	1.90	0.1516 NS
Error	14	4.33	2.95		
Total	20	74.95			

NS No existen diferencias significativas entre los tratamientos.

Cuadro 10. Análisis de varianza del porcentaje infección de *Fusarium oxysporum*, en margarita puma morado, del ensayo 2. San Pablo Isayoc, Texcoco, Edo. de México. Enero de 1999.

F.V.	G.L.	S.C.	C.M.	F.C.	Pr>F.
Tratamientos	6	1533.08	255.51	12.9	0.0001*
Error	14	281.88	20.13		
Total	20	1814.97			

*Existen diferencias significativas entre los tratamientos.