

UNIVERSIDAD AUTONOMA CHAPINGO

COORDINACION DE ESTUDIOS DE POSTGRADO
DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA
MAESTRIA EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

EVALUACION DE *Trichoderma* spp. (Promot plus) COMO AGENTE
DE CONTROL BIOLOGICO CONTRA *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora*
drechsleri, Y COMO PROMOTOR DE LA PRODUCCION EN *Gerbera jamesonii*.



T E S I S

Que como Requisito Parcial
para Obtener el Grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECCION ACADEMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
COMISION DE EXAMENES PROFESIONALES

PRESENTA:

NORA HILDA COBOS PATIÑO

CHAPINGO, MEXICO

JUNIO, 1995

C.1



ESTA TESIS FUE REALIZADA BAJO LA DIRECCION DEL COMITE ASESOR INDICADO, HA SIDO APROBADA POR EL MISMO Y ACEPTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

MAESTRO EN CIENCIAS EN
HORTICULTURA

COMITE ASESOR

PRESIDENTE



Dr. JAIME SAHAGUN CASTELLANOS

SECRETARIO



Dr. ~~SEBASTIAN ROMERO COVA~~

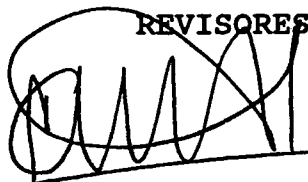
VOCAL



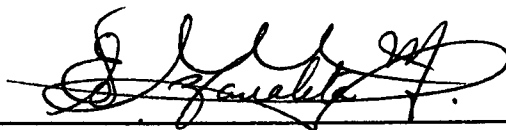
A. 27863

M. C. AMANDO ESPINOZA FLORES

REVISORES



M. C. CECILIO MENDOZA ZAMORA
Revisor por el CODEP-Fitotecnia



Dra. EMMA ZA VALETA M.
Revisor por la Coordinación General de Postgrado

DEDICATORIA

A mis padres:

Sr. Juan D. Cobos Sánchez

Sra. Victorina Patiño Huerta

A mis hermanas:

Lic. Virginia E. Cobos Patiño

Srta. Lilia Mónica S. Cobos Patiño

A ti:

Porque: El hacer tu voluntad.
Dios mío, me ha agradado,
y tu ley está en medio de mi
corazón.
Salmo 40:8

AGRADECIMIENTOS

Por medio de estas palabras deseo expresar mi más sincero agradecimiento a todas las personas que, de una u otra manera, estuvieron presentes en la elaboración de esta investigación, apoyándome siempre, algunas veces con sugerencias o palabras de aliento, otras con trabajo en el invernadero o en el laboratorio, pero siempre brindándome, generosamente su amistad.

Al Dr. Jaime Sahagún Castellanos, quien con su trato amable y amistoso, hizo ligero el desarrollo de este trabajo.

Al Dr. Sebastián Romero Cova, por compartir conmigo sus conocimientos y asesorar esta tesis.

Al M.C. Amando Espinoza Flores, por su asesoría y ayuda en el desarrollo de esta investigación.

A la Dra. Emma Zavaleta Mejía y al M.C. Cecilio Mendoza Zamora, por su amabilidad en revisar esta tesis.

Al Sr. Alfredo, del Laboratorio de Hortalizas, por su ayuda siempre amable y amistosa.

Al Dr. Agustín López Herrera, por su apoyo y orientación.

A mis amigos de Fitotecnica, por sus sonrisas y compañía siempre agradables; Reyna, José Luis, Arturo, Guille, Ambrosio, "Campis", Gerardo, Raúl, Jorge, Gilberto, Jesús,...., ¡ a todos !

A mis amigos de Industrias, por su amistad y ayuda en la elaboración de este trabajo, ¡ Gracias ! Pablo, Guillermo, Lupe y Leobardo.

A mi amiga Fili, por sus palabras de aliento y apoyo incondicional.

A ti, Mary amiga, recuerda !, siempre unidas.

A la generación de ! EXCELENCIA !, mis amigos y compañeros de clases: Santiaguillo, Luis Alonso (gracias por brindarme tú hogar), Felipe, Cuauhtemoc, Leobardo y Domingo. Gracias a todos por tantas sonrisas compartidas.

Si yo hablase lenguas
humanas y angélicas,
y no tengo amor, vengo a
ser como metal que
resuena, o címbalo que
retiñe.

Y si tuviese profecía, y
entendiese todos los
misterios y, toda ciencia,
y si tuviese toda la fe,
de tal manera que
trasladase los montes, y
no tengo amor, nada soy.

Y si repartiese todos mis
bienes para dar de comer
a los pobres, y si
entregase mi cuerpo para
ser quemado, y no tengo
amor, de nada me sirve.

El amor es sufrido, es
benigno; el amor no tiene
envidia, el amor no es
jactancioso, no se
envanece; no hace nada
indebido, no busca lo
suyo, no se irrita, no
guarda rencor; no se goza
de la injusticia, más se
goza de la verdad.

I Corintios 13:1-6

CONTENIDO

Indice de Cuadros.....	i
Indice de Figuras.....	iii
Resumen.....	iv
I. Introducción.....	1
II. Objetivos.....	3
III. Hipótesis.....	3
IV. Revisión de literatura.....	4
4.1. Control biológico de los patógenos de las plantas por <i>Trichoderma</i> spp.....	4
4.1.1. Suelos supresivos.....	5
4.1.2. <i>Trichoderma</i> ; clasificación, biología, ecología y potencial para el control biológico.....	7
4.1.2.1. Crecimiento, morfogénesis y esporulación en cultivo.....	11
4.1.2.2. Producción de metabolitos.....	16
4.1.2.3. Ecología.....	17
4.1.2.3.1. Distribución.....	17
4.1.2.3.2. Aislamiento y enumeración.....	18
4.1.2.3.3. Dinámica de la población en el suelo.....	19
4.1.2.3.4. Establecimiento y proliferación en el suelo.....	21
4.1.2.3.5. Tratamientos químicos al suelo....	22
4.1.2.3.6. Tratamiento de suelo con vapor....	23
4.1.2.3.7. Establecimiento en la rizósfera...	24
4.1.2.4. Producción y métodos de liberación masivos.....	25
4.1.2.4.1. Características del producto "Promot plus".....	26
4.1.2.5. Producción de mutantes.....	28

4.1.2.6.	Potencial para el control biológico.....	29
4.1.2.7.	Papel del control biológico en el manejo integrado de enfermedades.....	32
4.1.2.8.	Mecanismos de control biológico.....	33
4.2.	Efectos de <i>Trichoderma</i> spp. en la promoción del crecimiento de las plantas.....	37
4.2.1.	Factores que afectan la respuesta al incremento del crecimiento.....	39
4.3.	Características generales del cultivo de gerbera...	40
V.	Materiales y métodos.....	56
5.1.	Localización.....	56
5.2.	Material vegetal.....	56
5.3.	Manejo de los experimentos.....	57
5.3.1.	Siembra, contenedores y sustratos.....	57
5.3.2.	Riegos y fertilización.....	57
5.3.3.	Labores culturales y control de plagas y enfermedades.....	58
5.4.	Diseño experimental.....	58
5.4.1.	Experimento No. 1.....	58
5.4.1.1.	Modelo estadístico.....	59
5.4.1.2.	Tratamientos.....	60
5.4.1.3.	Obtención y preparación del inóculo.....	61
5.4.1.4.	Aplicación de los tratamientos.....	62
5.4.1.5.	Variables de respuesta.....	63
5.4.1.6.	Reaislamiento de <u>Trichoderma</u> , <u>Fusarium</u> y <u>Phytophthora</u>	63
5.4.2.	Experimento No. 2.....	64
5.4.2.1.	Modelo estadístico.....	64
5.4.2.2.	Tratamientos.....	64
5.4.2.3.	Aplicación de los tratamientos.....	65
5.4.2.4.	Variables de respuesta.....	65

5.5. Análisis de datos.....	66
VI. Resultados y discusión.....	67
6.1. Experimento No. 1.....	67
6.1.1. Porcentaje de plantas sanas, después de inocular las cepas de <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Phytophthora drechsleri</i>	67
6.1.2. Reaislamiento de los hongos.....	72
6.2. Experimento No. 2.....	73
6.2.1. No. de días a la aparición del primer boton floral.....	73
6.2.2. Número de hojas por planta, a la aparición del primer boton floral.....	74
6.2.3. Número de inflorescencias por planta a los 90, 120 y 160 días.....	75
6.2.4. Diámetro de la inflorescencia, al momento del corte.....	78
6.2.5. Diámetro del pedúnculo, al momento de la cosecha.....	80
6.2.6. Longitud del escapo floral, al momento del corte.....	81
6.3. Análisis de correlación.....	85
6.4. Prueba de normalidad.....	87
6.5. Características físicas de los sustratos.....	87
VII. Conclusiones.....	88
VIII. Bibliografía.....	89
IX. Apéndice 1.....	95
X. Apéndice 2.....	96

INDICE DE CUADROS

No. de Cuadro.	Descripción	Pag.
1	Dosis aplicada de <u>Trichoderma</u>	65
2	Análisis de varianza del porcentaje de plantas sanas, después de inocular <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Phytophthora drechsleri</i>	67
3	Medias de número y porcentaje de plantas sanas, después de inocular <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Phytophthora drechsleri</i> , en dos tipos de sustratos y con aplicación o no de <u>Trichoderma</u> .	70
4	Análisis de varianza para el porcentaje de plantas sanas después de inocular <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Phytophthora drechsleri</i> .	71
5	Prueba de comparación de medias de Tukey para la variable porcentaje de plantas sanas, después de inocular <i>Fusarium oxysporum</i> y <i>Phytophthora drechsleri</i> .	72
6	Análisis de varianza para el número de días a la primera floración.	73
7	Número de días a la primera floración, promedios y coeficientes de variación por tratamiento.	74
8	Análisis de varianza para el número de hojas por planta a la aparición del primer botón floral.	75
9	Número de hojas por planta a la aparición del primer botón floral.	75
10	Análisis de varianza para la variable de respuesta, número de inflorescencias por planta a los 90 días.	76
11	Promedios del número de inflorescencias por planta a los 90, 120 y 160 días.	76
12	Análisis de varianza para el número de inflorescencias por planta a los 120 días.	77
13	Análisis de varianza para el número de inflorescencias por planta a los 160 días.	77
14	Análisis de varianza para el diámetro de las inflorescencias al momento del corte.	78

15	Promedios del diámetro de las inflorescencias al momento del corte.	78
16	Análisis de varianza para diámetro del pedúnculo floral al momento del corte.	80
17	Promedio del diámetro del pedúnculo al momento del corte.	81
18	Análisis de varianza para la longitud del escapo floral al momento del corte.	82
19	Promedios de la longitud del escapo floral al momento del corte.	82
20	Análisis de correlación (Coeficientes de Pearson), para la evaluación de los parámetros de producción y calidad, en cultivo de gerbera cv. "Marie Louise".	85
21	Características físicas de los sustratos empleados.	87

INDICE DE FIGURAS

No. de Figura.	Descripción	Pag.
1	<i>Trichoderma harzianum</i> , conidióforos y conidios.	9
2	a).- <i>Trichoderma koningii</i> , conidióforos y conidios. b).- <i>Trichoderma pseudokoningii</i> , conidióforos y conidios.	10
3	<i>Trichoderma hamatum</i> , a. Conidióforos estériles; b. Grupos de fiálides y conidios.	12
4	<i>Trichoderma polysorum</i> , conidióforos, uno de ellos con terminación estéril, y conidios.	13
5	<i>Trichoderma viride</i> , conidióforos y conidios.	14
6	Planta de gerbera afectada por <i>Fusarium oxysporum</i> . Se muestra una sección de la corona de color café oscuro, síntoma de la enfermedad.	68
7	Planta de gerbera afectada por <i>Phytophthora drechsleri</i> . Se observa la separación de la corona de la planta de las raíces, también es notoria la pudrición de las mismas, mostrándose el cilindro central.	69
8	Flores de gerbera cv. "Marie Louise". Izq. sin aplicación de <i>Trichoderma spp.</i> , der. con aplicación de <i>Trichoderma spp.</i>	78
9	Flores de gerbera cv. "Marie Louise". Izq. sin aplicación de <i>Trichoderma spp.</i> , der. con aplicación de <i>Trichoderma spp.</i>	82

RESUMEN

La gerbera es una planta ornamental que ha alcanzado una buena aceptación en el mercado de las flores. Las flores de gerbera se distinguen no sólo por su noble forma y bellos colores, sino también por su larga vida útil después de la cosecha. Una planta de gerbera produce de 15 a 20 flores por año, pero esta productividad puede verse disminuida por algunos factores ambientales, así como también por problemas fitosanitarios. Entre las enfermedades fungosas, la gerbera es susceptible a patógenos del suelo, como *Phytophthora cryptogea*, *Pytium spp.* y *Fusarium oxysporum*, entre otros. Estos patógenos han sido tradicionalmente controlados por fungicidas, pero varios investigadores (Chet y Baker, 1981; Lui y Baker, 1980) han trabajado, en otros cultivos, con el hongo *Trichoderma spp.* como agente de control biológico, el cual además ha demostrado ser promotor del crecimiento de las plantas.

Con la finalidad de evaluar los efectos de *Trichoderma spp.* (Promot Plus), sobre el crecimiento y productividad del cultivo de gerbera, así como también valorar su desempeño como agente de control biológico contra *Phytophthora drechsleri* y *Fusarium oxysporum*, se implemento el presente trabajo, en el que se llevaron a cabo dos experimentos, ambos se realizaron en los invernaderos de la Universidad Autónoma Chapingo, utilizando el cultivar de gerbera "Marie Louise", *Trichoderma spp.* en su formulación de "Promot Plus", así como tezontle y una mezcla de sustratos (60% de germinaza, 25% de agrolita y 15% de tezontle), como medios de cultivo. En los tratamientos en donde Trichoderma estuvo presente, éste se aplicó a las raíces de las plantas antes del trasplante, disolviendo 42.5 g del producto en 3.78 l de agua, sumergiendo las raíces de las plántulas en esta solución.

En el primer experimento se utilizó un diseño de bloques al azar factorial, con ocho tratamientos y ocho repeticiones, y cinco plantas por unidad experimental. Para estudiar los datos de ambos experimentos, se realizó un análisis de varianza, así como la prueba

de comparación de medias de Tukey, y un análisis de correlación para el segundo experimento. Los tratamientos aplicados para el primer experimento fueron: 1.- Aplicación de *Trichoderma* spp. a las plántulas de gerbera sembradas en mezcla de sustratos, inoculando después de cepa de *Fusarium oxysporum*; 2.- Aplicación de *Trichoderma* spp. a las plántulas sembradas en tezontle, más la inoculación de *Fusarium oxysporum*; 3.- Aplicación de *Trichoderma* spp. a las plántulas de gerbera sembradas en mezcla de sustratos, inoculando después de cepa de *Phytophthora drechsleri*; 4.- Aplicación de *Trichoderma* spp. a las plántulas sembradas en tezontle, más la inoculación de *Phytophthora drechsleri*. Los tratamientos 5,6,7 y 8 fueron similares a los anteriores, pero sin la adición de *Trichoderma* spp. Las variables de respuesta fueron; Porcentaje de plantas sanas, después de inocular las cepas de *Phytophthora drechsleri* y *Fusarium oxysporum*. Los resultados obtenidos indicaron que *Trichoderma* spp. en su formulación de "Promot Plus" tiene características favorables como agente de control biológico contra estos dos hongos fitopatógenos.

En el segundo experimento se empleó un diseño de bloques al azar factorial con cuatro tratamientos y ocho repeticiones, cada unidad experimental constó de 5 plantas de gerbera. Los tratamientos aplicados fueron: 1.- Aplicación de *Trichoderma* spp. a las plántulas de gerbera, sembradas en la mezcla de sustratos; 2.- Aplicación de *Trichoderma* spp. a las plántulas de gerbera, sembradas en tezontle, los tratamientos 3 y 4 fueron similares a los anteriores, pero sin la adición de *Trichoderma* spp. Las variables de respuesta fueron: número de días a la primera floración, número de hojas por planta a la aparición del primer botón floral, número de inflorescencias a los 90, 120 y 160 días después del trasplante, diámetro de la inflorescencia al momento del corte, longitud y diámetro del pedúnculo al momento del corte.

Al analizar los datos para este experimento se encontró que: *Trichoderma* spp. no indujo precosidad en el cultivar "Marie Louise",

ya que no disminuyó el número de días, ni el número de hojas a la aparición del primer botón floral; *Trichoderma* spp. no incrementó la producción de flores en esta variedad; *Trichoderma* spp. mejoró la calidad de las flores al aumentar el diámetro del capítulo floral, así como la longitud y el espesor del pedúnculo.

En cuanto a los sustratos, el tezontle favoreció la presencia de plantas sanas. Asimismo las plantas sembradas en este sustrato produjeron un mayor número de flores y presentaron escapos florales de mayor longitud.

I. INTRODUCCION

La floricultura además de ser una interesante y bella actividad también puede resultar un negocio muy redituable. Estudios económicos realizados en México nos indican que el valor de la cosecha de una hectárea de flor de exportación es 492 veces mayor que el de una hectárea de maíz. Si a esto agregamos que la floricultura genera 198,000 empleos directos e indirectos, entonces debemos considerarla como una actividad alternativa para ayudar a solucionar los problemas de la falta de divisas y empleos que afronta nuestro país (Ruiz, 1991).

México posee las siguientes ventajas en comparación con los demás países productores de flores:

- Es el país más septentrional, con luz suficiente para producir flores de calidad durante el invierno.

- Posee una buena infraestructura de transporte y los costos de mano de obra son relativamente bajos en comparación con los de Estados Unidos y Canada.

- Tiene una red de comunicaciones aéreas con elevada frecuencia de vuelos a importantes regiones de consumo de EUA.

- En la Meseta Central Mexicana existen condiciones climatológicas de temperatura moderadamente cálida durante todo el año.

Con base en estas consideraciones, México en comparación con otros competidores, posee las mayores ventajas (P. Verhaegh, 1991).

Se estima que en el país se cultivan 7,000 ha con especies ornamentales, de las cuales más de 250 ha son bajo cubierta, donde principalmente se incluyen cultivos para flores de corte. Los principales estados productores de flor son: Morelos, Puebla, Michoacán, Tlaxcala, Hidalgo y México (Martínez, 1991).

El estado de México posee el 61% de la superficie ornamentícola del país, (aproximadamente 3,911 ha), y cerca del 50% de la extensión cultivada bajo invernadero, captando 24 millones de dólares por exportaciones, que representan el 60% del total nacional, el cual se calcula que, fue de 40 millones de dólares (Martínez, 1991).

Dentro de los cultivos ornamentales, la Gerbera (*Gerbera jamesonii*) es una de las especies que alcanzó altas cotizaciones en el mercado (en el mes de Agosto de 1992 se adquiría a \$ 5,000.00 una flor en los establecimientos de la ciudad de Xalapa, Ver.).

Una planta de Gerbera produce de 15 a 20 flores por año, pero este rendimiento puede verse afectado por ciertos factores como son: tipo de sustrato, temperatura del suelo, temperatura del aire y genotipo. Igualmente, la producción puede descender debido a problemas fitosanitarios causados por plagas, deficiencias nutricionales, competencia de malezas y enfermedades. Dentro de las enfermedades fungosas, la gerbera es especialmente susceptible a patógenos del suelo, como *Phytophthora cryptogea*, *Verticillium spp.*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*. Estos han sido tradicionalmente controlados por fungicidas, con las desventajas que presentan al ocasionar daños a los cultivos por malos manejos (sobredosificación), aparición de especies resistentes a los agroquímicos, contaminación del medio ambiente, entre otros (Herreros, 1976). Ante estos problemas, varios investigadores (Chet y Baker, 1981; Liu y Baker, 1980) han contemplado otra alternativa, el uso de *Trichoderma spp.* como agente de control biológico. Esta mezcla de especies presenta además el atractivo de ser promotora del crecimiento de las plantas, incrementando su vigor y reduciendo los días a la primera floración. La evaluación de estas características constituyen el objeto de estudio del presente trabajo..

II. OBJETIVOS

- 1.- Evaluar los efectos directos de *Trichoderma spp.*, (PROMOT PLUS), sobre el crecimiento y productividad del cultivo de la Gerbera, en dos tipos de sustrato.
- 2.- Valorar la importancia de *Trichoderma spp.*, como agente de control biológico contra *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora spp.* que afectan al cultivo de la Gerbera.

III. HIPOTESIS

- a. La aplicación de *Trichoderma spp.* (Promot Plus) a plantas de gerbera a una dosis de 42.5 g / 3.78 l de agua tendrá un buen efecto de control sobre las enfermedades, ocasionadas por hongos fitopatógenos del suelo, que afectan al cultivo, independientemente del medio de cultivo utilizado.
- b. La aplicación de *Trichoderma spp.* a plantas de gerbera a una dosis de 42.5 g / 3.78 l de agua tendrá un efecto benéfico sobre el crecimiento y productividad del cultivo, sembrado en dos distintos tipos de sustratos.

IV. REVISION DE LITERATURA

4.1. CONTROL BIOLOGICO DE PATOGENOS DEL SUELO POR TRICHODERMA SPP.

El control biológico, cuando es considerado desde un punto de vista ecológico como una fase del control natural, puede definirse como "la acción de parásitos, predadores, o patógenos para mantener la densidad de población de otro organismo a un nivel más bajo que el que existiría en su ausencia" (Anónimo, 1986b.). O bien, puede considerársele como la reducción de los efectos dañinos de un parásito o un patógeno a través del uso de seres vivos. En la definición no se hace referencia a la eliminación del patógeno, el intento del control biológico es evitar los daños causados por el patógeno y eventualmente erradicarlo (Campbell, 1989).

El control biológico puede ser realizado por:

- 1.- Prácticas culturales, este enfoque consiste en la creación de un medio ambiente favorable para los antagonistas de los patógenos y sembrando variedades resistentes.
- 2.- Introducción en masa de antagonistas, liberando linajes que no sean patógenos y otros agentes benéficos (Anónimo, 1986b).

Cook y Baker (1983) en su libro aducen las siguientes razones para usar el control biológico.

- Incrementa la producción de las cosechas dentro de los recursos existentes, aumentando o manteniendo el nivel de producción de alimento por unidad de área de tierra y al mismo tiempo preserva de la destrucción a los recursos no renovables.
- Evita el desarrollo de patógenos resistentes a los productos químicos.
- No es contaminante.
- Se adoptan prácticas compatibles con la agricultura de subsistencia.

Dentro de los ecosistemas, el hospedero, el parásito y su ambiente en su más amplio sentido forman un sistema triangular llamado patosistema, el cuál es gobernado por las leyes de la ecología y la patología de la planta. En un patosistema las características pueden ser directamente cuantificadas, como por ejemplo; el número de propágulos del patógeno y la severidad de la enfermedad, el número de propágulos del patógeno por unidad de volumen del suelo es la densidad del patógeno. La efectividad del inóculo potencial varía de acuerdo a factores tales como:

- Energía inherente de los propágulos.
- Posibilidad de acercamiento entre inóculo y raíz receptiva.
- Efectos de los componentes físicos, químicos y biológicos.

Mangenot y Diem (1979) señalan que la densidad del inóculo en interacción con los factores ambientales externos da como resultado el potencial de inóculo. Este refleja la capacidad del propágulo para colonizar un hospedero completamente receptivo. La severidad de la enfermedad es influenciada también por la sensibilidad del hospedero la cual depende de su genotipo y los componentes físicos, químicos y biológicos del sistema. Como resultado de estos factores, puede definirse que el potencial de inóculo por el potencial de la enfermedad, da como resultado la severidad de la enfermedad.

Frecuentemente se ha asumido que la inducción de la supresividad está asociada con alguna forma de control biológico. Se ha encontrado que el número de propágulos de especies de *Trichoderma* en el suelo se incrementa al aumentar la supresividad del suelo, mientras que la densidad de *Rhizoctonia solani* es inversamente proporcional a la densidad de *Trichoderma spp.*; de esta forma se observa un incremento en la población y una asociación constante de *Trichoderma* con la supresividad (Liu y Baker, 1980).

4.1.1. SUELOS SUPRESIVOS

A los suelos que permiten el desarrollo de una enfermedad se les llama conductivos o sensitivos, y a los suelos en que esta propiedad

no existe o la enfermedad no alcanza proporciones serias o disminuye al cultivar la planta hospedera bajo continuo monocultivo, se les llama supresivos, resistentes, inmunes o de vida larga.

Un suelo supresivo es aquel en el que la severidad de la enfermedad permanece limitada a pesar de una alta densidad de inóculo del patógeno, mientras que un suelo conductivo permite el desarrollo de una enfermedad severa en la presencia de una relativamente baja densidad de inóculo del patógeno (Alavouvette, Couteaudier y Louvet, 1985).

La identificación de los microorganismos antagónicos de la microflora, es el primer objetivo para el conocimiento de los organismos que inducen la supresividad. El aislamiento de las principales especies de hongos seguido de su reintroducción al suelo, previo tratamiento con calor, confirman su contribución colectiva o individual a la expresión de la supresividad resultante de una población particular de microorganismos antagónicos como una supresión específica (Cook y Baker, 1983).

Los microorganismos que confieren el tipo de supresión específica, son hongos muy similares a los patógenos, con respecto a sistemática, ecología y fisiología, o pueden ser bacterias y actinomicetos antagónicos (Alavouvette, Couteaudier y Louvet, 1982).

Debido a que existe la posibilidad de transferir supresividad de un suelo a otro, parece aparente que el control microbiológico puede ser desarrollado rápidamente, sin embargo, en la realidad básicamente existen dos métodos de transferencia.

- Transferencia de un suelo supresivo, teóricamente el intento de usar todo el suelo, tiene una gran desventaja de que no se puede considerar el tratamiento de grandes áreas con el suplemento de suelos supresivos. El uso de suelo supresivo directamente, tiene además, la seria desventaja de que con él se pueden introducir organismos patógenos indeseables.

- Otro método más común del uso de supresividad, es identificar una población microbiana antagónica involucrada en los mecanismos de

supresión y su reintroducción masiva en el suelo que se necesite.

Entre las especies fungosas más efectivas en inducir supresividad, se ha encontrado a *Trichoderma harzianum*. Se han aislado, con una alta frecuencia, algunas especies de *Trichoderma* del micelio de *Rhizoctonia solani* incubado en suelos supresivos, pero sólo ocasionalmente de aquellos incubados en suelos conductivos. Si se agregan conidios de *Trichoderma* a suelos conductivos, a la misma densidad encontrada en el suelo supresivo, se induce supresividad y las mismas especies pueden ser reaisladas de las hifas de *R. solani* incubadas en el suelo (Liu y Baker, 1980).

Las características físicas y químicas del suelo, muchas veces han sido incluídas dentro de los ejemplos de supresividad de un suelo. Liu y Baker (1980) indican que la incidencia de la enfermedad decrece al disminuir el pH del suelo. La densidad de inóculo de *R. solani* a valores de pH 5.0 y 6.0 son significativamente más bajos que en los valores de pH 7.0, 8.0 y 9.0, señalando, además que los suelos ajustados a pH 5.0 y 6.0 reforzados con *Trichoderma* fueron más supresivos.

4.1.2. TRICHODERMA; CLASIFICACIÓN, BIOLOGÍA, ECOLOGÍA Y POTENCIAL PARA EL CONTROL BIOLÓGICO

El género *Trichoderma* se caracteriza por: micelio de crecimiento rápido, colonias hialinas, conidióforos ramificados que terminan en macizos con divergencias, a menudo inclinados irregularmente, con fiálides en forma de botella, en algunas especies los conidióforos pueden terminar en apéndices estériles, y, entonces, las fiálides nacen de ramas laterales; los conidios son hialinos o más comúnmente verdes con paredes rugosas o lisas; las clamidosporas son hialinas, y generalmente se encuentran presentes en el micelio de cultivos viejos (Domsch, Gam y Anderson, 1980).

Rifai (1969), basándose en las características microscópicas, distinguió 9 especies; las características macroscópicas son muy similares en la mayoría de ellas.

La clasificación taxonómica de este hongo es la siguiente:

Reino: Plantae (Vegetal)

División: Mycota

Subdivisión: Eumycotina -

Clase: Deuteromycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: Trichoderma

Domsch et al. (1980), describieron las claves para la identificación de especies:

1.- Conidióforos largos y densos, a menudo con elongaciones hifales estériles; ramas laterales en su mayoría cortas y densas, las cuales fructifican abundantemente a través de fiálides cortas y gruesas; colonias blancas, verde pálido o verdes, generalmente con grupos compactos de conidióforos.....2

Conidióforos y sus ramas laterales largas y delgadas, sin elongaciones hifales estériles; fiálides no agrupadas, un poco delgadas; colonias amarillas, claras, opacas en verde oscuro, con grupos compactos de conidióforos.....5

2(1).- Elongaciones hifales estériles ausentes: conidios globosos, hialinos.....(T. piluliferum)

Elongaciones hifales estériles presentes o modificadas o raramente ausentes; conidios no globosos.....3

3(2).- Conidios verdes, un poco elipsoidales, rodeados por un velo irregular y amplio.....(T. sufurnisporum)

Conidios con paredes tersas o lisas, o finamente puntuadas...4

4(3).- Conidios hialinos, pequeños; 2.4 - 3.8 x 1.8 - 2.2 μm , de color verde.....(T. polysporum)

Conidios grandes, 3.8 - 6.0 x 2.2 - 2.8 μm(T. hamatum)

5(1).- Conidios rugosos o agrietados, 3.6 - 4.8 x 3.5 - 4.5 μm(T. viride)

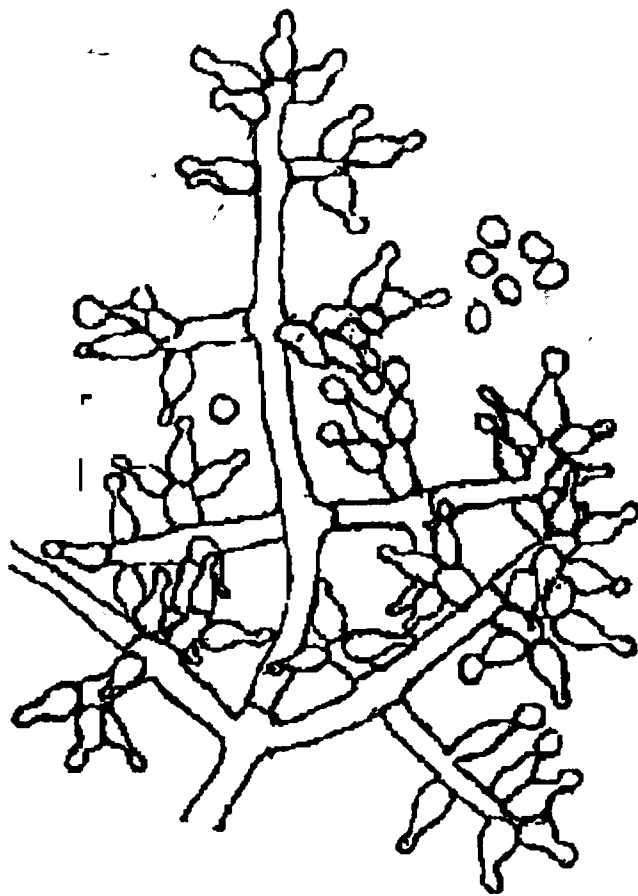


Fig. 1. *Trichoderma harzianum*, conidióforos y conidios

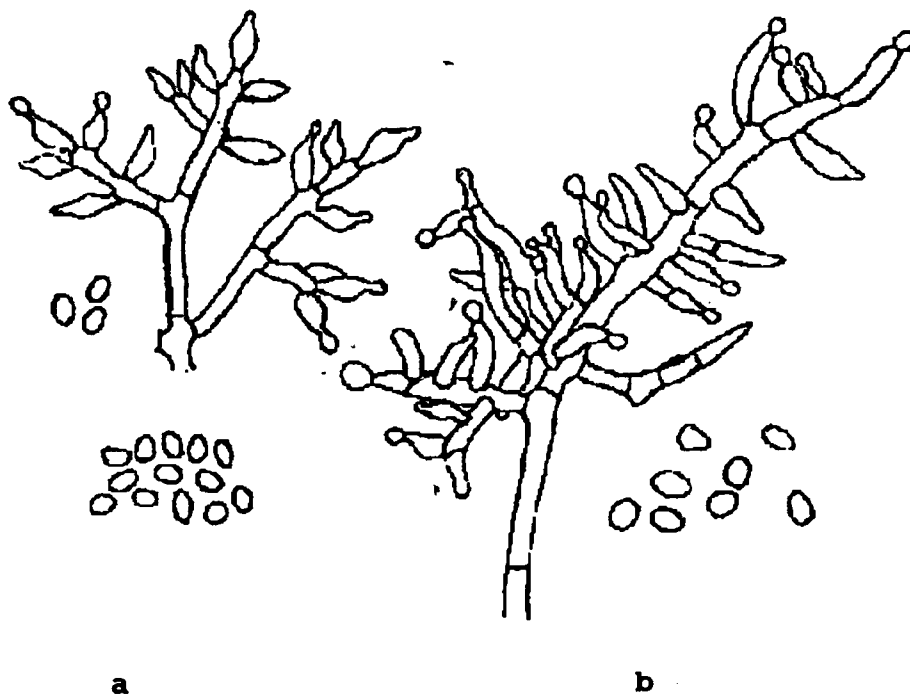


Fig. 2. a).- *Trichoderma koningii*, conidióforos y conidios.
 b).- *Trichoderma pseudokoningii*, conidióforos y conidios.

Conidios con pared lisa.....6

6(5).- Conidióforos con un complicado sistema arborescente ramificado: fiálides regularmente dispuestas en número de 3 ó más.....7

7(6).- Conidios elipsoidales u oblongos, a menudo de apariencia angular, 3.0 - 4.8 x 1.9 - 2.8(T. koningii)

Conidios más cortos con una longitud y diámetro menor de 1.5 μm8

8(7).- Conidios ovoides, con base truncada, 3.0 - 4.8 x 2.0 - 3.0 μm , el reverso de las colonias a menudo es descolorido; las colonias alcanzan 3 cm de diámetro en 5 días a 20° C en PDA(T. aureoviride)

Conidios globosos, subglobosos o poco ovoides, con una longitud de radio de menos de 1.25, 2.8 - 3.2 x 2.5 - 2.8 μm , el reverso de la colonia es incoloro, las colonias alcanzan > 9 cm de diámetro en 5 días a 20° C en PDA.....(T. harzianum)

9(6).- Conidios subglobosos a ovoides, 3.8 - 4.5 x 2.5 - 3.0 μm(T. reesei)

Conidios elipsoidales.....10

10(9).- Usualmente las fiálides sólo están ligeramente atenuadas en la base; conidios grandes de un color particularmente verde oscuro, de 7 μm de longitud, mayormente elipsoidales.....(T. longibrachiatum)

Fiálides usualmente atenuadas en la base; conidios pequeños, verde pálido 2.8 - 4.8 μm de longitud, la mayoría elipsoidales y oblongos.....(T. pseudokoningii)

4.1.2.1. CRECIMIENTO, MORFOGÉNESIS Y ESPORULACIÓN EN CULTIVO

Los estudios sobre el crecimiento, morfogénesis y esporulación de *Trichoderma* in vitro pueden ser útiles, si la información derivada de tales estudios es usada para el desarrollo de tecnología aplicable a la producción en gran escala de biomasa, para el uso en el biocontrol.

Crecimiento. Las especies de *Trichoderma* usan un amplio rango de compuestos como única fuente de carbón y nitrógeno. Los

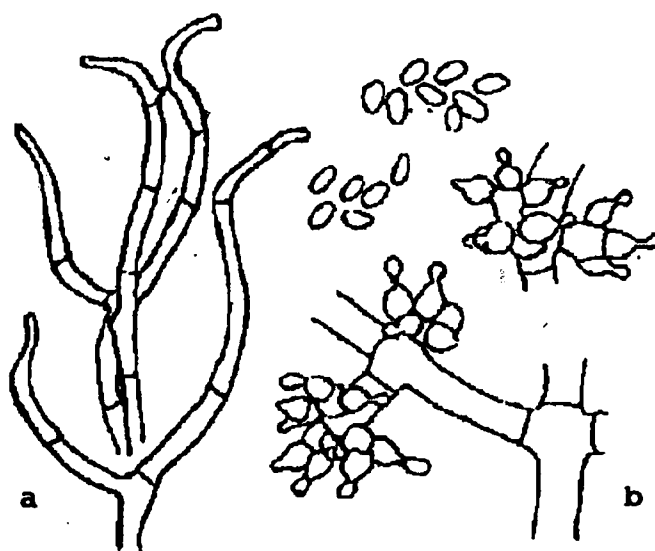


Fig. 3. *Trichoderma hamatum*, a. Conidióforos estériles; b. Grupos de fiálides y conidios.

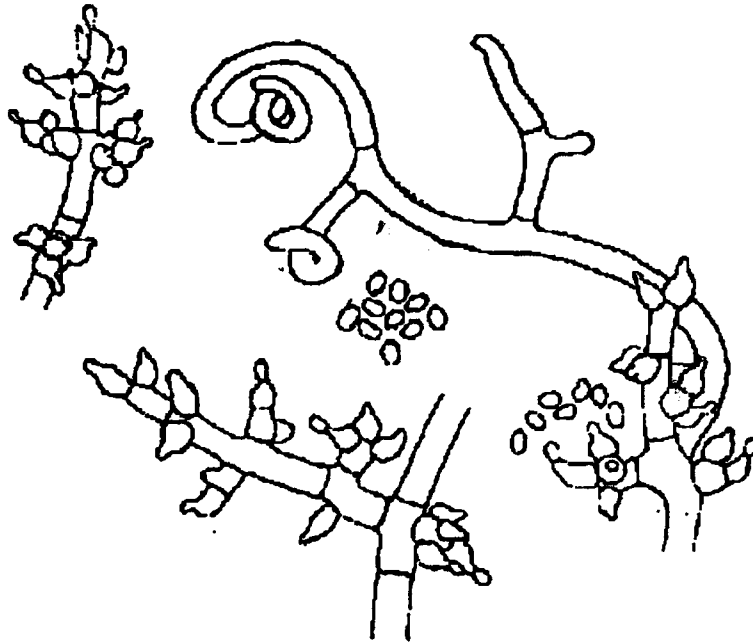


Fig. 4. *Trichoderma polysporum*, conidióforos, uno de ellos con terminación estéril, y conidios.

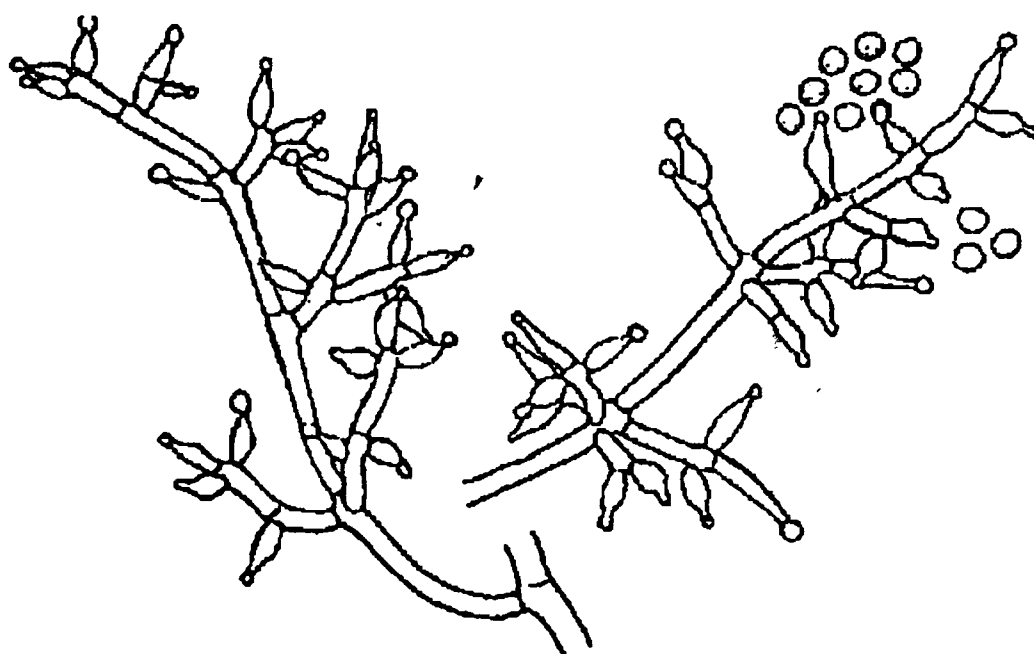


Fig. 5. *Trichoderma viride*, conidióforos y conidios.

requerimientos de energía y carbón de *Trichoderma* pueden ser satisfechos por monosacáridos y disacáridos, polisacáridos complejos, purinas, pirimidinas y aminoácidos, taninos condensados, aldehidos y ácidos grasos, particularmente de cadena larga y aún metanol.

Las fuentes de nitrógeno son amonios, aminoácidos, ureas, nitratos y aún nitritos, los cuales sustentan el crecimiento vegetativo abundante.

Varios minerales como el magnesio incrementan el crecimiento de *Trichoderma viride* (Papavizas, 1985).

Morfogénesis. Turián (1983) definió a la morfogénesis como "el desarrollo de un organismo en su forma específica". Para *Trichoderma*, este concepto implica la diferenciación de sus células en tipos que varían en su tamaño, forma, estructura, función y composición química.

Esporulación. La mayoría de las especies de *Trichoderma* son fotosensitivas, esporulando rápidamente sobre muchos sustratos naturales o artificiales, formando anillos concéntricos en respuesta a alteraciones diurnas de luz y oscuridad, con producción de conidios durante periodos de luz (Papavizas, 1985).

Un aspecto importante de la esporulación casi completamente desconsiderado es la habilidad de *Trichoderma* para producir clamidosporas. Aunque las clamidosporas son mencionadas rutinariamente en informes taxonómicos, muy poco se ha reportado sobre la formación e importancia ecológica de estas estructuras, y su potencial en el biocontrol. Otras investigaciones (Lewis y Papavizas, 1983, 1984) han demostrado la formación de clamidosporas por *T. hamatum*, *T. harzianum* y *T. viride* en medios sólidos, líquidos, en suelos estériles, extractos de suelos y en residuos de plantas.

Germinación. Aunque han aparecido muchos reportes sobre la esporulación en *Trichoderma* y sobre el papel de la luz y algunos compuestos químicos como inductores e inhibidores, respectivamente, los procesos moleculares y bioquímicos involucrados en la germinación han sido muy ignorados. Esto es quizás debido a la facilidad con que

germinan los conidios en muchos sustratos. Los pocos reportes existentes indican que los conidios de *Trichoderma* requieren una fuente externa de nutrientes para la germinación in vitro. La respuesta de los conidios a los nutrientes es afectada por las concentraciones de iones H^+ , con porcentajes de germinación mas altos bajo condiciones ácidas que bajo condiciones neutras (Danielson y Davey, 1973).

Se tienen menos conocimientos de la germinación de clamidosporas in vitro. Se necesitan más investigaciones sobre varios aspectos de la biología de las clamidosporas, incluyendo su importancia ecológica y supervivencia a largo plazo, así como los factores que favorecen su formación. Es posible, pero se desconoce, si estos propágulos aseguran la continua supervivencia de los dos géneros en suelo bajo condiciones adversas para la supervivencia de los pequeños y efímeros conidios (Papavizas, 1985).

4.1.2.2. PRODUCCIÓN DE METABOLITOS

Los primeros conocimientos de la producción de metabolitos tóxicos, por las especies de *Trichoderma*, se deben principalmente a Weindling (1934, 1937, y 1941) quien mostró la producción de un metabolito antifungoso por *T. lignorum*. Weindling 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 (Weindling, 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 9 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*.

Papavizas et al. (1982) encontraron que varios mutantes de *Trichoderma*, inducidos por rayos UV, produjeron 2 metabolitos no identificados, uno de ellos estable al calor.

Tricodermina, originalmente descrita por Godtfredsen y Vangedal (1965), no debe ser confundida con la trichodermina-4 reportada en la literatura (Fedorinchik et al, 1975). Este metabolito es una preparación cruda producida por el crecimiento de *T. lignorum* en un medio sólido concentrado a base de proteínas y carbohidratos, o un medio líquido, secando la preparación y macerando la biomasa, incluyendo los sólidos del medio.

Trichoderma no es solamente una buena fuente de varios metabolitos tóxicos y antibióticos, sino también de varias enzimas tales como las exo y endoglucanazas, celobiasa y quitinasa. Esta revisión sólo se enfoca sobre las enzimas implicadas en el mecanismo de acción del control biológico (Papavizas, 1985).

4.1.2.3. ECOLOGÍA

Comprendiendo los factores ecológicos que afectan la distribución de especies de *Trichoderma* en su habitat natural, podemos entender la dinámica de la población en el suelo y otros habitats y su supervivencia y proliferación en el suelo y rizosfera. Por esta razón se debe realizar un cuidadoso análisis de la conducta de este tipo de hongos en el ecosistema del suelo (Papavizas, 1985).

4.1.2.3.1. DISTRIBUCIÓN

Las especies de *Trichoderma* se encuentran ampliamente distribuidas en todo el mundo y en casi todos los suelos y otros habitats naturales, especialmente en aquellos que contienen o consisten de materia orgánica. Algunas especies pueden estar restringidas en su distribución geográfica.

Parece que *Trichoderma* comprende especies que son colonizadoras

secundarias, como lo indican los frecuentes aislamientos de estos hongos de 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, Bell y Jaworski, 1972). Debido a problemas en la identificación taxonómica y a la falta de técnicas precisas para su aislamiento y enumeración, esta discusión sobre su distribución, se refiere a nivel de género.

Las preferencias ecológicas de algunas especies de *Trichoderma* son discutidas en las revisiones de Danielson y Davey (1973). Estos autores observaron que cuando se 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 adaptadas a condiciones de humedad excesiva del suelo y que *T. viride* y *T. polysporum* están restringidas a áreas donde prevalecen bajas temperaturas, mientras *T. harzianum* se encuentra comunmente en regiones cálidas y *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* y la poca disposición de hierro en la rizosfera, limitan la eficacia del establecimiento de *Trichoderma* spp. (Papavizas, 1985).

4.1.2.3.2. AISLAMIENTO Y ENUMERACIÓN

Aunque se han hecho numerosos intentos para estudiar la presencia y distribución de *Trichoderma* spp. en su habitat natural, pocos investigadores han intentado realizar estudios cuantitativos de

su dinámica de población y supervivencia en el suelo u otros habitats. La escasez de información sobre la supervivencia en el suelo, fue debida a la falta de técnicas precisas y a un apropiado medio de cultivo para el aislamiento y enumeración (Papavizas, 1981). Elad y Chet (1983) desarrollaron un medio semiselectivo para la aislación cuantitativa de *Trichoderma* del suelo preparado a base de rosa de bengala y pentacloronitrobenceno (PCNB), junto con captán como un agente básico antimicrobiano. Papavizas (1981) reporta un medio semiselectivo llamado TME, que puede contener o no benomyl, el cual ha sido usado efectivamente para recuperar a *Trichoderma* del suelo, rizósfera y otros habitats, la adición de benomyl hace al medio selectivo para el aislamiento y enumeración de mutantes resistentes a el fungicida.

4.1.2.3.3. DINÁMICA DE LA POBLACIÓN EN EL SUELO

Supervivencia en el suelo. La abundancia de *Trichoderma* en varios suelos, unida con su habilidad para degradar varios sustratos orgánicos en el suelo, su versatilidad metabólica y su resistencia a inhibidores microbianos, sugiere que posee la habilidad de sobrevivir en muchos nichos ecológicos, dependiendo de las condiciones prevalecientes y la especie o línea involucrada. Esta suposición puede empañar la distinción entre supervivencia pasiva y una habilidad saprofítica activa y competitiva, incluyendo la colonización dinámica de la rizosfera de las plantas (Papavizas, 1985).

Se conoce muy poco sobre el destino de los conidios y clamidosporas de *Trichoderma*, cuando son incorporadas a un suelo o cualquier otro medio ambiente. Las experiencias demuestran que los conidios de *Trichoderma harzianum*, añadidos al suelo sin un complemento de nutrientes, sobreviven entre 110 y 130 días, pero el tiempo de supervivencia depende del aislamiento usado (Papavizas, 1985; Papavizas, Lewis y Abd-El Moity, 1982). La mayoría de los conidios probablemente son destruidos sin germinar, o germinan en respuesta a algunos nutrientes liberados de materia orgánica y posteriormente se degradan en la ausencia de alimento suficiente

para fomentar el crecimiento y la esporulación. En otros estudios se ha observado que los conidios añadidos al suelo disminuyen inicialmente y luego se estabilizan por 2 años en aproximadamente una décima parte del número originalmente incorporado. Las hifas también sobreviven en el suelo (Papavizas et al., 1984).

Aunque la importancia ecológica de las clamidosporas ha sido descuidada en el pasado, hay evidencias de su importancia en la supervivencia del género en el suelo. Caldwell (1958) fue uno de los primeros en observar que las clamidosporas sobreviven mejor en el suelo que los conidios. Lewis y Papavizas (1984) demostraron el potencial de varias especies de *Trichoderma* para formar clamidosporas rápidamente y en gran número en suelos naturales o en fragmentos de materia orgánica, después de la introducción al suelo del hongo en forma de conidios. Ellos sugieren que el introducir aislamientos del hongo tiene potencial por su agresividad para colonizar y establecerse asimismo en materia orgánica y otros medios naturales. También afirman que si se demuestra que las clamidosporas pueden sobrevivir en suelo por periodos largos, la importancia ecológica de estas estructuras podría ser significativa.

Fungistasis del suelo. La fungistasis es un fenómeno de amplio espectro que reduce la germinación de propágulos fungosos y el crecimiento de diferentes hongos en suelos normales. La naturaleza fungistática del suelo (Lowkwood, 1977) y nuestra habilidad para anular o aumentar la fungistasis (Papavizas y Lumsden, 1980) puede tener considerable impacto sobre la supervivencia y dinámica de la población de especies naturales o introducidas de *Trichoderma*. Mitchell y Dix (1975) y Lockwood (1977) encontraron que los conidios del hongo son muy sensibles o relativamente insensibles a la fungistasis. La sensibilidad a la fungistasis fue más pronunciada en suelos neutros o alcalinos que en suelos ácidos. También parece existir una relación entre el tipo o tamaño de propágulo del hongo y su sensibilidad a la fungistasis. Por otra parte, los conidios resultaron más sensibles que las clamidosporas a la fungistasis y las hifas menos susceptibles que los conidios.

Schippers et al. (1982) presentaron evidencia de que el amonio es fungistático a los conidios en suelos alcalinos y que las especies difieren en su sensibilidad a los gases presentes en la atmósfera del suelo y al amonio liberado del suelo. Estos investigadores postularon que el éxito de *T. hamatum* como agente de control biológico puede estar limitado por las concentraciones de amonio en el suelo. No se conoce nada sobre el efecto de sustancias volátiles sobre las clamidosporas de este hongo.

4.1.2.3.4. 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 1 a 3 días antes de la adición al suelo), mas no prolifera cuando éste hongo es inoculado en forma de conidios. La proliferación, (arriba de 10^6 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) dependen 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 las hifas son menos sensibles a ello (Lockwood, 1977).

Aunque hay escepticismo sobre la importancia que tienen los antibióticos u otros metabolitos tóxicos en la ecología del suelo, existen evidencias de 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, ésto la capacita para establecerse y lograr derechos territoriales (Bruehl, 1975).

4.1.2.3.5. TRATAMIENTOS QUÍMICOS AL SUELO

El balance microbiológico del suelo, a menudo referido como equilibrio dinámico, está sujeto a alteraciones producidas por varios factores ambientales, incluyendo la aplicación de pesticidas u otras sustancias químicas. Los tratamientos con calor o sustancias químicas que eliminan grupos de microorganismos, indudablemente crean un vacío biológico parcial en el suelo, donde la magnitud de dicho vacío dependerá del tipo de tratamiento. Cualquier alteración del balance microbiológico puede favorecer a ciertas especies introducidas o nativas de *Trichoderma* en la supresión de alguna enfermedad de las plantas (Papavizas, 1985).

Se sabe que las especies de *Trichoderma*, ya sean nativas o introducidas, tienen una mayor tolerancia a biocidas de amplio espectro que muchos otros microorganismos del suelo y pueden colonizar los suelos tratados más rápidamente que otros competidores del suelo. Evans en 1955 observó que *Trichoderma* fue el recolonizador dominante en dos sustratos, uno desinfectado con disulfuro de carbono y otro con formaldehído, este antagonista no sólo predominó en el suelo tres semanas después de la fumigación con estos dos compuestos, sino que también persistió por lo menos seis meses después de los tratamientos. La dominancia de *Trichoderma* en el suelo después de las aplicaciones, se debió probablemente a su resistencia inherente a la mayoría de los biocidas y a su habilidad para colonizar rápidamente el sustrato, en la ausencia de una competición significativa de otros microorganismos.

La dominancia de nichos ecológicos por *Trichoderma*, dada por la aplicación de biocidas de amplio espectro no es sólo el mecanismo por el cual este antagonista puede proliferar en el suelo y suprimir enfermedades, los biocidas pueden causar tensión, debilitamiento y dar a los propágulos de los patógenos más susceptibilidad al ataque del antagonista. Como sucede con *Armillaria mellea* (Ohr, Munnecke y Bricker, 1973) donde dosis subletales de fumigantes en el suelo pueden interferir con su mecanismo de defensa o debilitar sus estructuras de resistencia, como los esclerocios que son más

rápídamamente degradados en el suelo (Merriman, 1976). Asimismo, los esclerocios de *S. rolfsii* se debilitan a concentraciones subletales de metham-sodio volviéndose susceptibles a la invasión y degradación por *T. harzianum* (Henis y Papavizas, 1983).

Richarson (1954) demostró que el fungicida tiram, utilizado casi exclusivamente en tratamiento a semillas, tuvo un efecto selectivo sobre *Trichoderma* y *Penicillium*; en un suelo tratado con tiram *Trichoderma* sobrevivió y se multiplicó protegiendo a semillas de chícharos contra *Pythium* por un tiempo considerable después de que el fungicida alcanzó niveles no tóxicos para el patógeno.

En otros estudios se observó que el metalaxyl no fué tóxico a *T. harzianum* in vitro, en contraste con algunos fungicidas del grupo de los benzimidazoles, como el benomyl, tiabendazol, metil-tiofanato, los cuales deterioraron al hongo (Papavizas et al., 1982).

Abd-El Moity et al. (1982) encontraron que el benomyl fue un fuerte inhibidor de *Trichoderma* en un cultivo, aún a concentraciones tan bajas como 0.5 mg/l. El captan, clorothalonil, clorobeb, PCNB, y otros fungicidas nuevos como iprodiona, procymidone y vinclozolin, no resultaron tóxicos al hongo.

La dominancia de *Trichoderma* después de las aplicaciones de dosis subletales de pesticidas, es de especial interés en el control biológico, por la habilidad del género para proliferar en el medio tratado, así como su capacidad demostrada para producir antibióticos, competir por nutrientes y actuar como un micoparásito (Papavizas, 1985).

4.1.2.3.6. TRATAMIENTO DE SUELOS CON VAPOR

Baker y Cook (1974), citados por Papavizas (1985), estudiaron el efecto de la aplicación de vapor al suelo sobre las poblaciones de *Trichoderma*, observando la proliferación de este hongo. Un suelo infestado con *Armillaria mellea* y tratado con vapor, por ejemplo, estimuló a *Trichoderma* el cual proliferó y parasitó al patógeno debilitado.

Marois y Lock (1985) sugirieron que una rápida recolonización y proliferación de *Trichoderma* fue la razón para la supresión del marchitamiento por *Fusarium* en crisantemo, ya que el calor fue el tratamiento selectivo que permitió a *T. viride* proliferar en el suelo y competir exitosamente con *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysantemi*.

4.1.2.3.7. ESTABLECIMIENTO EN LA RIZOSFERA

Aunque *Trichoderma* se ha aislado de las raíces de 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 supervivencia, 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 de 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 ésto, una falta de establecimiento o de movimiento 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 de 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 el hierro presente en la rizosfera o producir metabolitos tóxicos a *Trichoderma*.

4.1.2.4. PRODUCCIÓN Y METODOS DE LIBERACIÓN MASIVOS

Uno de los obstáculos más críticos para el biocontrol a través de la inoculación masiva al suelo o como tratamiento a semillas con *Trichoderma*, ha sido la falta de métodos para su cultivo en masa y su posterior liberación al medio, por lo que, se debe estudiar más profundamente su crecimiento y esporulación, para producir tecnologías de fermentación, que permitan obtener biopreparaciones que contengan esporas, micelio o la mezcla de los dos (Papavizas, 1985).

Se ha utilizado, frecuentemente, un medio sólido (PDA) para la producción de *Trichoderma* y su posterior estudio en invernadero y laboratorio. Otros sustratos incluyen; pellets de corteza, una mezcla de turba de trigo y salvado (Sivan, Elad y Chet, 1984), granos de cebada, compostas de corteza (Hoitink, 1980), y formulaciones de *T. harzianum* y *T. polysporum*. También se ha desarrollado un nuevo producto formulado con *T. harzianum* (aún no registrado comercialmente) para proteger a *Acer rubrum* del ataque de algunos Hymenomycetes (setas) que pueden establecerse en sus heridas después de la poda. Otro ejemplo es la mezcla de especies de *Trichoderma* en forma de aceite, el cual ha tenido éxito sobre troncos de pino durante la poda (Papavizas, 1985).

El uso de la fermentación para la producción en masa de *Trichoderma*, es la técnica más convenientemente utilizada en Estados Unidos. El medio líquido en el cual se realiza la fermentación incluye muchos derivados de procesos agrícolas, tales como la glucosa, almidón, productos hidrolizados de maíz y soya, suero de leche y melaza (Papavizas, 1985).

Papavizas et al. (1984) demostraron que es posible usar un medio líquido y económico tal como la melaza y la levadura de cerveza, para producir inóculo viable del hongo. *Trichoderma* desarrolló en este medio una gran cantidad de biomasa con micelio, clamidosporas y algunos conidios después de 6 días de incubación.

Un nuevo método, que puede mejorar la tecnología de producción de biomasa, involucra la encapsulación de los propágulos. Esta encapsulación se basa en la habilidad de una solución acuosa de alginetts de sodio para reaccionar con el catión Ca^{++} y formar un gel. La facilidad con el cual varios hongos pueden incorporarse a este gel de sodio, ha sido explotado por Fravel et al. (1984) quien desarrolló una formulación a base de hongos que son antagonistas a varios hongos fitopatógenos. Una alternativa para el mejoramiento de esta técnica es la incorporación de nutrientes (como el salvado), junto con el gel para proveer un alimento que esté en íntimo contacto con el antagonista (Lewis y Papavizas, 1984).

En 1990 Hsu, citado por Pryor (1991), desarrolló una técnica para obtener cultivares de *Trichoderma* resistentes a fungicidas, Hsu prefirió trabajar con hongos más que con bacterias, porque tienen un mayor espectro de control que las bacterias las cuales tienden a ser muy específicas. A partir de dichos procedimientos obtuvo un nuevo producto a base de *T. koningii* y *T. harzianum* el cual fue registrado bajo el nombre de "Promot plus".

4.1.2.4.1. CARACTERISTICAS DEL PRODUCTO "PROMOT PLUS"

INFORMACION GENERAL:

PROMOT PLUS es un promotor natural del desarrollo de las plantas producido por la fermentación de microorganismos. *Trichoderma* spp., contiene microorganismos vivientes, enzimas complejas y nutrientes los cuales benefician el desarrollo de las plantas (Anónimo, 1986b.).

PROMOT PLUS tiene la capacidad, como un tratamiento a las semillas, de permitir a los microorganismos multiplicarse en el suelo y así producir factores de crecimiento que estimulan la germinación

de la semilla, el desarrollo de los cultivos y la floración. Los factores de crecimiento producidos por los microorganismos pueden también incrementar el vigor y la sanidad de las plantas. Como resultado éstas son más resistentes a las enfermedades causadas por hongos patógenos, tales como *Rhizoctonia solani*, *Pythium spp.*, *Sclerotium rolfsii*, entre otros. Estos hongos causan pudriciones en semillas, raíces, tallos y frutas. Asimismo, las investigaciones indican que las plantas tratadas con PROMOT PLUS son más resistentes al damping off (Anónimo, 1986b.).

PROMOT PLUS puede ser utilizado para cubrir las semillas, o aplicarse directamente a las semillas al sembrar. También puede ser mezclado con la mayoría de los fertilizantes, pero tales mezclas no deben almacenarse por tiempo prolongado, ya que los microorganismos en este producto están almacenados en forma de esporas y están protegidos de condiciones adversas y germinarán tan pronto como las condiciones ambientales sean favorables (Anónimo, 1986b.).

PROMOT PLUS también puede aplicarse directamente al suelo y a las plántulas en crecimiento en condiciones de invernadero. Cuando se trasplantan al suelo estas plantas los microorganismos también son trasplantados y continúan multiplicándose en el campo, lo cual se traduce en mejores porcentajes de supervivencia, mejor desarrollo de las plantas y una mayor resistencia a las enfermedades después del trasplante.

ANALISIS DEL CONTENIDO:

CANTIDAD:

<i>Trichoderma koningii</i>	$3 \times 10^8/\text{g}$
<i>Trichoderma harzianum</i>	$2 \times 10^8/\text{g}$

INSTRUCCIONES DE USO:

Aplicación a las semillas.- Mezclar de 3 a 4 litros del producto con suficiente agua o solución nutritiva a una ha y aplicar a la semilla cuando se esté sembrando.

Aplicación al Trasplante.- Mezclar 42.5 gr de PROMOT PLUS con 3.78 l de agua y sumergir las raíces de las plantas dentro de esta mezcla antes de trasplantar.

Aplicación antes de sembrar.- PROMOT PLUS se puede mezclar con herbicidas o fertilizantes, que sean compatibles, y aplicarse directamente al suelo. La dosis es de 3 a 4 litros / ha en la cantidad de agua necesaria.

4.1.2.5. PRODUCCION DE MUTANTES

Para establecer un proyecto efectivo de control de varios patógenos, o de uno solo, que abarque enfoques biológicos y químicos, se dispone de varias opciones como son; la obtención de biotipos tolerantes o resistentes a pesticidas y la selección de biotipos estables para su uso en combinación con pesticidas.

Se han desarrollado nuevos biotipos de *T. harzianum* tolerantes a fungicidas tales como el clorothalonil, procymidone, iprodiona y vinclozolin, exponiendo a los conidios a concentraciones altas de los fungicidas en el medio de cultivo y seleccionándose posteriormente a las colonias sobrevivientes para exponerlas de nuevo a concentraciones aún más altas. Sin embargo, solamente unos pocos biotipos seleccionados tienen la habilidad para suprimir patógenos de las plantas en el suelo. Otro inconveniente que se presenta es que varios biotipos tolerantes a fungicidas pierden su habilidad de resistirlos después de repetidas transferencias a medios de cultivo libres de fungicidas (Abd-El Moity et al., 1982).

Si la resistencia de los biotipos de *Trichoderma* a los pesticidas es un resultado de adaptaciones no genéticas o de adiestramiento, y esta resistencia es inestable, entonces el desarrollo de estos biotipos por modificación del genoma puede ser un enfoque más prometedor de abordar el problema, como la inducción de mutagénesis que se ha utilizado exitosamente para incrementar la producción de enzimas de *T. harzianum* (Papavizas, 1985). Algunos de los biotipos obtenidos por este medio pueden tolerar entre 50 y 500

µg de benomyl por ml de medio. Los nuevos biotipos pueden diferir de su progenitor en sus características de crecimiento y su habilidad para esporular, sobrevivir en el suelo y suprimir la actividad de *R. solani*.

Varios biotipos inducidos por exposición a rayos ultravioleta fueron consistentemente más efectivos que la cepa original para suprimir damping-off (*Pythium ultimum*) en chícharos, damping-off (*R. solani*) en algodón y rábano, damping-off (*Sclerotium rolfsii*) en frijol y pudrición blanca de la cebolla (*Sclerotium cepivorum*) (Papavizas, 1985).

Uno de los biotipos de *T. viride* resistente a benomyl (T-1-R9), patentado como NRRL15165, fue muy efectivo contra el marchitamiento de crisantemo producido por *Fusarium* y contra *Rhizoctonia* en papa (Locke et al., 1984).

4.1.2.6. POTENCIAL PARA EL CONTROL BIOLÓGICO

Trichoderma spp. es un antagonista natural de varios hongos patógenos que se desarrollan 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 micoparásito de un amplio rango de patógenos fungosos, incluyendo *Armillaria mellea*, *Phytophthora* sp., *Sclerotium rolfsii*, *Heterobasidion annosum* y *Chondrostereum purpureum* (Anónimo, 1986b.).

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, 1986b.).

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, 1986b.).

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

Se han realizado varias investigaciones para determinar las diferentes especies de *Trichoderma* que se pueden utilizar en el control de hongos patógenos. Los resultados se resumen a continuación:

Trichoderma viride: Damping off de plántulas de cítricos causado por *Rhizoctonia solani*; Hoja plateada de árboles de ciruelo ocasionada por *Chondrostereum purpureum*; Enfermedades de las flores inducidas por *Sclerotinia sclerotiorum*; *Fusarium oxysporum* f. sp. *chrysanthemi*; Cancro del tallo y costra negra de la papa causado por *Rhizoctonia solani*; Pudrición de la fresa causada por *Botrytis cinerea*, y Pudrición de las uvas o moho gris causado por *Phomopsis viticola* (Anónimo, 1986b.).

Trichoderma polysporum, contra: Decadencia del abeto por *Heterobasidion annosum*; Pudrición de la fresa causada por *Botrytis cinerea* (Anónimo, 1986b.).

Trichoderma harzianum, Damping off de los ejotes causado por *Rhizoctonia solani*; Damping off del algodón; Enfermedades de las plántulas del tomate causadas por *Sclerotium rolfsii*; Enfermedades del frijol ocasionadas por *Sclerotium rolfsii* y *Rhizoctonia solani*;

Damping off en la preemergencia del chícharo inducido por *Phythium* sp.; Pudrición de las raíces del crisantemo causada por *Rhizoctonia solani*; Cancro del tallo y costra negra de la papa ocasionados por *Rhizoctonia solani* (Anónimo, 1986b.).

Trichoderma hamatum: Damping off del algodón, Enfermedades de las plántulas de chícharo y rábano, causada por *Pythium* spp. y *Rhizoctonia solani*; Llagas de la madera del arce blanco por Hymenomycetes, y Damping off de los rábanos causado por *Rhizoctonia solani* (Anónimo, 1986b.).

Trichoderma koningii: Pudrición de la raíz del crisantemo ocasionada por *Rhizoctonia solani* (Anónimo, 1986b.).

En general, *Trichoderma* spp. es efectivo controlando los siguientes hongos patógenos: *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Pythium* spp., *Armillaria mellea*, *Botrytis cinerea*, *Penicillium digitatum*, *Phytophthora* spp., y *Chondrostereum purpureum* (Anónimo, 1986b.).

Smith (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 benomyl, 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* lizando 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* utilizándolos como alimento. La penetración de los esclerocios de *S. borealis* por el micelio de *Trichoderma* fue a través de grietas presentes en la corteza de éstos.

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 ésto que en un campo donde los hongos patógenos se han diseminado, *Trichoderma* (como agente de control biológico) comúnmente no es tan efectivo como los fungicidas (Anónimo, 1986b.).

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 comúnmente utilizados, 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 éste que aumenta el potencial de uso de *Trichoderma*.

Por lo anteriormente mencionado, estos agentes deben ser usados con propósitos preventivos más que correctivos (Anónimo, 1986a.).

4.1.2.7. PAPEL DEL CONTROL BIOLÓGICO EN EL MANEJO INTEGRADO DE ENFERMEDADES

Es necesaria la integración de varias técnicas de control para incrementar la producción y calidad de los cultivos y minimizar el daño al medio ambiente. El potencial de *Trichoderma* para el biocontrol se ha estudiado como un fin en si mismo más que como un sinergista o componente activo en el manejo integrado de

enfermedades. Tal manejo puede ser exitoso con este hongo ya que es compatible con algunos pesticidas y otras prácticas de control, la posibilidad de que *Trichoderma* pueda ser manipulado genéticamente para tolerar algunos de los más importantes pesticidas utilizados en los sistemas de producción le da un amplio futuro (Papavizas, 1985).

Se ha experimentado la integración de *Trichoderma* con otros sistemas de control. Por ejemplo, se logró un control satisfactorio de la pudrición en melón (*Rhizoctonia solani*) combinando el arado del suelo con la integración de *T. harzianum* (Lewis y Papavizas, 1980).

Otros ejemplos de la combinación de *Trichoderma* con prácticas culturales incluye el desplazamiento de *Phellinus* (*Poria*) *weirii* de las raíces del álder por la combinación de aplicaciones de urea a los suelos forestales y *Trichoderma*, así como el control de enfermedades causadas por *R. solani* y *Sclerotium rolfsii* gracias a la combinación de *T. harzianum* con la esterilización del suelo (Papavizas, 1985).

Algunos ejemplos del uso de pesticidas y el antagonista incluyen la combinación de *T. harzianum* y PCNB contra *Rhizoctonia* en varias hortalizas, enfermedades del bulbo en iris, así como la utilización de bromuro de metilo y *T. harzianum* para el control de *R. solani* en fresa, *R. solani* y *S. rolfsii* en jitomate y cacahuate (Papavizas, 1985).

4.1.2.8. MECANISMOS DE CONTROL BIOLÓGICO

Los mecanismos propuestos para explicar el biocontrol de los patógenos por *Trichoderma* son; la producción de antibióticos (antibiósisis) y metabolitos tóxicos, producción de enzimas que degradan las paredes celulares de los hongos patógenos, competición por nutrientes y el micoparasitismo (Cook y Baker, 1983; Papavizas y Lumsden, 1980).

La antibiósisis es un fenómeno inhibitorio en el cual un organismo ejerce influencia negativa sobre otro a través de compuestos inhibitorios, tales como los antibióticos. La mayoría de los intentos para correlacionar la producción in vitro de antibioticos por

Trichoderma contra hongos fitopatógenos no ha tenido éxito. Por otra parte, aunque está comprobada la producción de metabolitos tóxicos por este antagonista, no existe una evidencia directa que implique a tales metabolitos en el mecanismo de control; asimismo, no se tienen pruebas de que los antibióticos sean producidos en cantidades suficientes para obtener resultados tangibles del control (Papavizas y Lumsden, 1980). Es probable que los resultados anteriores se deban a que la mayor parte de los experimentos sobre la antibiosis y producción de metabolitos han sido diseñados de tal manera que no es posible distinguir el efecto directo de estos dos mecanismos de otras formas de antagonismo. Por ejemplo, el hábito de crecimiento de *T. harzianum*, que consiste en rodear las hifas de *Rhizoctonia solani* podría involucrar la producción de antibióticos y el parasitismo directo tanto como la lisis de sus paredes celulares. Esto hace evidente la difícil tarea de descubrir el mecanismo preciso (Lewis y Papavizas, 1980).

Siguiendo el descubrimiento de que *T. lignorum* tiene un gran potencial para el biocontrol (Weindling, 1934), varios investigadores continuaron los trabajos sobre este género observando que las hifas del antagonista parasitaban a las hifas de otros hongos in vitro, ocasionando algunos cambios morfológicos (el parásito enrollado alrededor del hospedero, producción de haustorios, desorganización del contenido celular del hospedero, penetración del hospedero).

Durrell (1968), citado por Papavizas (1985), utilizando un microscopio electrónico con contraste de fases, produjo fotografías muy interesantes donde se observan los haustorios e hifas de *T. viride* dentro de las hifas de Phycomycetes y la posterior digestión de su contenido. En 1983 Elad et al., estudiando el parasitismo de *Sclerotium rolfsii* y *Rhizoctonia solani* por *T. hamatum* y *T. harzianum* corroboraron los descubrimientos de Durrell en 1968, demostrando un fenómeno adicional a nivel molecular, la acumulación de los organelos del parásito en las células parasitadas, la producción de una capa que encapsula a las hifas parasitadas. En condiciones in vitro el fenómeno del contacto físico seguido de la desorganización del contenido celular del hospedero y los cambios concomitantes de las

células del parásito se han establecido inequívocamente para *Trichoderma*.

Las investigaciones sobre el micoparasitismo como un mecanismo de control biológico origina dos cuestiones adicionales: si el contacto físico es necesario para la destrucción del hospedero y cuán importantes son las enzimas y otros componentes extracelulares en el micoparasitismo. Pachenari y Dix (1980), citados por Papavizas (1985), al realizar investigaciones sobre otro antagonista (*Gliocladium roseum*), concluyeron que éste no requería de un contacto íntimo con *Botrytis allii* para causar una severa desorganización interna de las células del hospedero, coagulación del citoplasma, vacuolación y pérdida del contenido de los organelos. En sus ensayos, las preparaciones de glucanasas del antagonista degradaron la glucosa del hospedero. En los cultivos de *B. allii* parasitados por *G. roseum* se encontró una considerable cantidad de β -(1-3)-glucanasa y quitinasa, y la coagulación del citoplasma ocurrió sin necesidad de un contacto físico.

Es común entre los hongos saprófitos la capacidad para producir enzimas que degradan las paredes celulares. Más del 10% de 160 hongos examinados en un experimento produjeron β -(1-3)-glucanasa. En el proceso del micoparasitismo, el hospedero puede primero ser ablandado por la acción simultánea de productos metabólicos tóxicos y enzimas después de lo cual ocurrirá la desorganización y muerte del hospedero (Chester y Bull (1963) citados por Papavizas, 1985).

La relación entre las enzimas micolíticas producidas por *Trichoderma* y su significancia en la degradación de las células del hospedero ha sido determinada por varios investigadores (Cook y Baker, 1983; Chet y Baker, 1980).

Chet y Baker (1980, 1981), demostraron que *Trichoderma* produce celulasa, β -(1-3)-glucanasa y quitinasa, degradando la glucosa de las paredes de *Pythium spp.* y la quitina y glucosa de las paredes de *Rhizoctonia solani*. Estos investigadores no encontraron evidencia alguna de que *T. hamatum* o *T. harzianum* produjeran algún antibiótico.

La importancia de β -(1-3)-glucanasa y quitinasa como enzimas claves responsables de la lisis y degradación de las paredes celulares de algunos hongos fitopatógenos ha sido enfatizada por otros investigadores (Elad et al., 1983).

Cherif y Benhamov (1990), aislaron un biotipo de *Trichoderma* de una muestra de turba colectada en New Brunswick, U.S.A., que tiene la habilidad para producir quitinasa e inhibir el crecimiento de el hongo patógeno *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis - lycopersici*. En una investigación de la interacción de las hifas de ambos hongos realizada con microscopio electrónico de rastreo se observa que la inhibición del crecimiento del micelio del hospedero no es un resultado de la penetración hifal por *Trichoderma*. La notable alteración de las paredes junto con el rápido colapso y pérdida de turgencia de las células de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis - lycopersici* en áreas donde *Trichoderma* no está en contacto directo con el micelio del hospedero, indican que los metabolitos extracelulares podrían ser los responsables de la degradación observada. La localización citoquímica de residuos de N-acetyl glucosamina en las paredes celulares de *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, revelan que la alteración de moléculas de quitina es un evento inicial que precede el rompimiento de las paredes celulares y la dispersión del citoplasma. La observación de residuos de N-acetyl glucosamina que son liberados en el medio de crecimiento, apoyan la idea de que la quitina de la pared celular puede ser rápidamente hidrolizada, por la acción de una quitinasa extracelular producida por *Trichoderma*. Aunque puede ser que existan otras enzimas líticas que estén involucradas en la completa degradación de las paredes celulares del micelio de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, esta investigación citoquímica junto con los datos bioquímicos de la actividad de la quitinasa proveen evidencia de una mayor actividad quinolítica de *Trichoderma* e indican que la producción de esta enzima puede ser de gran significancia en el proceso antagonista.

4.2. EFECTOS DE ALGUNAS ESPECIES DE TRICHODERMA EN LA PROMOCION DEL CRECIMIENTO DE LAS PLANTAS

Además del control de enfermedades inducidas por hongos 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. koningii* 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 para 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 2 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 solucionado por el uso de un biotipo de *T. harzianum*. Los compradores en el estado de Colorado, U.S.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 sembrados 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 trasplante. En ambos casos el porcentaje de floración y número de flores por planta se vió 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 *T. 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.

Conway y Kahn (1990) sembraron semillas de brócoli, cultivares Green comet y Premium crop, en tres sustratos; uno inoculado con esclerocios de *Laetisaria arvalis* en proporción de 20 esclerocios/g de sustrato, otro con clamidosporas de *T. harzianum* en densidades de 10^6 clamidosporas/g de suelo y el testigo que consistió de suelo no inoculado. Después de 5 semanas de crecimiento en el invernadero se tomaron al azar 10 plantas de cada cultivar por tratamiento y se les midió el peso de tallos y raíces. Ambos hongos incrementaron el peso seco de tallos y raíces de los dos cultivares comparados con el

testigo. Sin embargo, cuando el brócoli fue transplantado al campo, no hubo diferencias en el tiempo a cosecha, número de cabezas cosechadas y peso de las cabezas.

4.2.1. FACTORES QUE AFECTAN LA RESPUESTA AL INCREMENTO DE CRECIMIENTO

Se ha realizado un gran número de experimentos sobre la aplicación de *Trichoderma spp.* para el desarrollo de los cultivos en un amplio rango de condiciones ambientales; en campos de Universidades e invernaderos comerciales. Ocasionalmente no se ha observado incremento en el crecimiento de los cultivos, o los incrementos han sido muy pequeños. Esto es debido, fundamentalmente, a que *Trichoderma spp.* sufre de los defectos comunes a todas las entidades biológicas, es decir, la influencia nociva de un medio ambiente no favorable o su actividad. Este agente requiere de un sustrato apropiado y raíces con tejidos absorbentes, temperatura, humedad y pH adecuados (Baker, 1988).

Se han propuesto numerosas estrategias para hacer a tales agentes más eficientes e incrementar sus actividades, aún cuando el medio ambiente no sea favorable; sin embargo, una solución obvia a este problema es la aplicación de *Trichoderma* cuando el medio ambiente presenta condiciones óptimas para la actividad de este hongo. Muchas de estas condiciones están dadas en la industria ornamental, la cual utiliza un medio ambiente controlado bajo estructuras cubiertas. Aquí la temperatura está controlada, la mezcla del suelo provee condiciones favorables para su desarrollo, ya que la turba ácida es un componente usual de estos suelos y *Trichoderma* funciona mejor en tales suelos (Baker, 1988).

Varios grados de respuesta se han obtenido en pruebas comerciales, una fuente candidata de tal variabilidad en los ensayos fue el diferente sustrato utilizado por los cultivadores. Casi todos los medios contenían turba ácida y vermiculita en varias proporciones. La influencia de las mezclas sobre el incremento del crecimiento se midió mezclando la turba y vermiculita en varios

porcentajes, que iban de 0 a 100% de turba. Los mayores incrementos se obtuvieron cuando *T. harzianum* se añadió a las mezclas que contenían de 20 a 100% de turba.

Otro factor que también influyó en la respuesta atribuida a *T. harzianum* fue observado en tomates, en suelos con pH de 5.5 o 6.2 se incrementó el rendimiento, pero ésto no sucedió a pH de 7.8

Existen indicios de que algunas especies y biotipos de *Trichoderma*, estimulan el crecimiento de las plantas mejor que otros (Baker, 1988).

Por otra parte, se ha observado que al incrementarse la cantidad de inóculo del agente se obtiene un correspondiente incremento en el desarrollo de la planta; sin embargo, la formulación de turba-salvado aplicada para proveer 10^8 conidios/gr de suelo, indujo achaparramiento en un cultivo de berenjenas. Tal actividad patogénica fue reportada por McFadden y Sutton (1975), citados por Baker (1988), donde una densidad similar de población de *Trichoderma* spp. en campo inhibió la germinación de maíz.

Suslow (1982), citado por Baker (1988), analizó el mecanismo potencial para explicar el efecto de promoción del desarrollo por microorganismos en las plantas y concluyó que los efectos podrían resultar de la inhibición y alteración de la microflora normal de las raíces. También podrían estar involucrados efectos directos de sustancias estimuladoras del crecimiento (hormonas, factores de crecimiento), disponibilidad de nutrientes o estimulación de la toma de nutrientes. Incluso podría existir la posibilidad de que sustancias inhibitorias para la planta, disminuyeran su concentración en el suelo.

4.3. CARACTERISTICAS GENERALES DEL CULTIVO DE GERBERA

La gerbera (*Gerbera jamesonii*, Bolus) ha alcanzado una aceptación excepcional. Actualmente, es una de las plantas más buscadas en el mercado de las flores. Los multicolores arreglos florales de gerbera, para las ocasiones especiales, tienen un gran

éxito. La aceptación está bien fundamentada, pues las flores de la gerbera se distinguen no sólo por su noble forma y bellos colores, sino también por su larga vida útil después de la cosecha (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Es conocida como margarita de Transvaal o de Barberton, ya que es nativa de Transvaal, área de Sur Africa. La planta fue enviada al jardín botánico de Durban por Robert Jameson. A principios de 1880, mientras explotaba una mina de oro en Barberton, R. Jameson colectó especímenes de esta planta y le dió el nombre botánico. John Medley Wood, encargado del jardín botánico, envió el espécimen a Harry Bolus en Cape Town para su identificación. Poco después Bolus, remitió especímenes secos al herbario del jardín botánico real, con la sugerencia de que podría llamarse *Gerbera jamesonii* (Rogers y Tjia, 1990).

El género *Gerbera* comprende 40 ó 50 especies, que crecen generalmente en terrenos altos, al pie de las montañas, principalmente en el sudeste de Africa y en Madagascar así como en las regiones tropicales de Asia, es decir, en Ceilán, India hasta Nepal, Indonesia y China. Además en una región de Tasmania.

La gerbera pertenece a la familia de las plantas compuestas (Compositae ó Asteraceae) y a la tribu Mutisieae, es perenne (Oszkinis y Lisiecka, 1990; Vergara, 1993).

Gerbera jamesonii Bolus, es la especie que posee mayor valor decorativo. De ella provienen todas las razas y variedades cultivadas actualmente. Crece de manera silvestre en las provincias de Transvaal, Natal y Orange, de Sur Africa. Se encuentra a 500 - 600 m sobre el nivel del mar, en lugares intermedios entre estepa y sabana, es decir, en los prados herbáceos con presencia de algunos arbustos. El suelo de estos lugares contiene principalmente cuarzo y arcilla y se distingue por una gran cantidad de humus y un pH débilmente ácido (entre 5-6). La temperatura de este suelo es ligeramente mayor a la del aire (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

En condiciones naturales la gerbera forma una raíz principal larga. En cambio, ya en cultivo, a causa de los frecuentes cambios de lugar forma unas raíces adventicias largas y relativamente gruesas, que salen de la base del vástago o de los nudos laterales. Las raíces jóvenes tienen numerosos pelos radiculares. Estas raíces blancas, las de mayor edad, que alcanzan un diámetro de 0.5 mm, toman un color café y no tienen pelos radiculares, éstas tienen la capacidad de contraerse e introducir a la planta dentro de la tierra (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Forma y tamaño de los capítulos florales

El tamaño de las inflorescencias de las razas y variedades de gerbera cultivadas actualmente es muy diverso y varía entre 8-9 y 18-20 cm. Sin embargo, las flores de un diámetro superior a 12 cm no son tan deseadas, puesto que se obtienen generalmente a costa del rendimiento total de las flores. La ganancia proveniente de la venta de flores de primerísima calidad, no es siempre mayor a la ganancia de la venta de un número mayor de flores cortadas, aunque sean de calidad inferior. Por esto, las inflorescencias de 10-12 cm de diámetro son las más valiosas (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Calidad de los pedúnculos

La apariencia del vástago floral depende también de las características de los pedúnculos de las inflorescencias. Como se demostró en los trabajos de Maurer (1968), citado por Oszkinis y Lisiecka (1990), esta característica depende principalmente de las condiciones del cultivo. Es deseable que las plantas tengan pedúnculos rígidos de 40-60 cm de largo y 3-4 mm de diámetro.

Productividad de las plantas

La productividad de las diferentes plantas obtenidas por semilla es muy diversificada y oscila entre 0 y 90 flores durante el año. Los trabajos de mejoramiento pretenden obtener clones que independientemente de las condiciones de cultivo produzcan de 30-50 flores/planta/año. Sin embargo, un incremento excesivo de la floración puede traer como consecuencia la disminución del diámetro

de las inflorescencias. Para ejemplificar ésto se puede mencionar la variedad Carmen obtenida por F. Penningsfeld, que anualmente produce 90 flores de 6-8 cm de diámetro por planta. Algunos cultivares holandeses producen entre 20 y 30 flores/planta/año, pero en general se dice que el promedio de producción oscila entre 15 y 20 flores de calidad por planta por año (Oszkinis y Lisiecka, 1990; Armendariz, 1987).

Herreros (1976), menciona que el promedio de producción por planta oscila alrededor de 20 flores de calidad por año.

Resistencia a enfermedades

Se necesitan trabajos de mejoramiento y selección para obtener clones resistentes a enfermedades de marchitamiento, sobre todo resistentes a *Phytophthora cryptogea* Pethyb et Laff., la cual es un problema muy importante (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Ciclo de producción

Si se siembran plántulas provenientes de cultivo de tejido (6-7 cm) entre abril y septiembre florearán en 10 a 12 semanas.

La duración de un ciclo de producción de gerbera, en general, no rebasa tres años. Las plantas cultivadas durante un tiempo más largo, año con año forman menos flores. Además las pérdidas causadas por enfermedades y plagas son tan grandes que el cultivo deja de ser redituable (Oszkinis y Lisiecka, 1990; Rogers y Tjia, 1990).

Cosecha de flores

La vida útil de las flores cortadas depende principalmente del momento propio de su cosecha. Las inflorescencias se cosechan hasta cuando, aparte de las flores liguliformes, se desarrollan los dos o tres anillos de flores tubiformes y empieza a salir polén en abundancia de las anteras (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Clasificación.

Antes de la venta las flores de gerbera se clasifican en clases o categorías. Las normas de calidad abarcan tres clases (Oszkinis y

Lisiecka, 1990; Armendariz, 1987).

- 1° grado: Comprende los capítulos que tienen por lo menos 10 cm de diámetro, sus tallos son rígidos, por lo menos 45 cm de longitud, sin un angostamiento abajo de los capítulos; la rigidez del tallo se caracteriza por una desviación del plano vertical, la cual no debe ser mayor de 5 cm, sin deformaciones, de color uniforme, con una vida en el florero de unos 10-15 días, el grosor del pedúnculo o tallo floral debe ser de 5 mm o más.
- 2° grado: Abarca a los capítulos de 8-9.5 cm de diámetro como mínimo y tallos de 35 cm de longitud; la rigidez del tallo se caracteriza por tener una desviación de 10 cm del plano vertical. Flores con pequeños defectos. El grado de madurez de estas flores puede ser de hasta 2.5 anillos de florecillas masculinas con los estambres expuestos.
- 3° grado: Incluye capítulos de diámetro menores de 8 cm. La longitud del tallo no deberá ser menor de 25 cm.

Vida útil de las flores cortadas

Muchos factores afectan la rapidez de la senescencia de las flores incluyendo la constitución genética de la planta, las condiciones ambientales y las reacciones bioquímicas y fisiológicas que ocurren dentro de la planta (Rogers y Tjia, 1990).

Entre los productores de flores existe la opinión de que la durabilidad de las flores cortadas depende de la forma del capítulo, del grosor del tallo y hasta del tipo de receptáculo. Las investigaciones realizadas en Alemania han demostrado que la característica de longevidad de las flores no depende tanto de la forma o reservas de la flor, sino mas bien de las características hereditarias y de las condiciones del cultivo (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

De Jong (1985-86), citado por Rogers y Tjia (1990), encontró grandes diferencias entre la vida postcosecha de las flores cosechadas de diferentes cultivares comerciales. El atribuyó un 78% de la variación a los factores genéticos o a las razas utilizadas en las cruas.

Herreros (1976) menciona que la duración de la flor en agua varía de 8 a 14 días.

Ramón López (1989) al trabajar con gerbera en hidroponia observó que las flores con mayor diámetro del pedúnculo tenían mayor duración en el florero.

Requerimientos de la gerbera en cuanto a factores externos

Luz: La gerbera no muestra gran susceptibilidad a la longitud del día (es una planta fotoperiodicamente neutral), puesto que florece tanto en el periodo de días largos como en el de días cortos. Gracias a las sustancias nutritivas contenidas en sus gruesas y carnosas raíces, la gerbera inicia su crecimiento y desarrollo en condiciones naturales en la primavera temprana, cuando los días se alargan y las condiciones de calor y humedad son favorables. Sin embargo, la cantidad e intensidad de luz tienen gran importancia en el cultivo (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Stinson (1957), citado por Rogers y Tjia (1990), menciona que la gerbera parece responder sólo ligeramente al fotoperiodo, ya que en ese año demostró que no hay efectos significativos en la respuesta de floración cuando se tenían de 8 a 16 hr de longitud del día.

Las investigaciones realizadas por Junges (1963), citado por Oszkinis y Lisiecka (1990), en el Depto. de Plantas Ornamentales del Inst. de Horticultura Dresden-Pillnitz, demostraron que la longitud del día tiene influencia sobre las fechas de la floración de gerbera, mientras que la magnitud de la cosecha de flores cortadas depende principalmente de la intensidad de la luz suministrada a las plantas no sólo al año de su floración sino también durante el año anterior. Las plantas tienen las mejores condiciones de crecimiento cuando la

longitud del día es mayor de 12 hr con una temperatura óptima.

Armendáriz (1987) establece que respecto a la intensidad luminosa, la gerbera es una planta heliófila que requiere de altas intensidades de luz sobre todo en el invierno.

Rogers y Tjia (1990) mencionan que las gerberas están clasificadas como plantas de sol y se desarrollan mejor bajo sol completo en el norte de Estados Unidos, Canada y en Europa durante finales de verano, invierno y principios de primavera. Durante principios de primavera y verano es necesario aplicar un 25% de sombreo, para mejorar el color de hojas y el desarrollo y calidad de la flor. En las áreas calientes y brillantes de Florida el crecimiento óptimo y producción de flores es alcanzado bajo un 20-30% de sombreo y las plantas desarrollan hojas verde oscuro con un área foliar grande, mayor longitud de pedúnculos y el diámetro de la flor ligeramente mayor que aquellas que crecen bajo pleno sol. Las gerberas responden a una fuente suplementaria de luz en el norte de Estados Unidos, incrementándose la producción, pero esto es debido a la actividad fotosintética y no a la respuesta fotoperiódica.

Temperatura: Oszkinis y Lisiecka (1990) mencionan que durante los meses de invierno la temperatura más adecuada para la gerbera en periodos de reposo, a causa de la baja intensidad de luz, es de 10-12°C durante el día y 8-10°C en la noche. El mantenimiento de una temperatura mayor en este período de poca intensidad luminosa provoca un mayor metabolismo, un consumo excesivo de carbohidratos y un debilitamiento de las plantas.

En general, los rangos de temperatura en que la gerbera se desarrolla, están entre 14-32°C, siendo el rango óptimo entre 20-23°C con una humedad relativa de 60-80% (Anónimo, 1994).

En verano las temperaturas demasiado altas dan lugar a una notable disminución de inflorescencias formadas. Además, a causa de un excesivo crecimiento de la planta, los peciolos y los tallos son

poco leñosos, suaves y débiles, lo cual hace que las flores no sean durables después de ser cortadas, perdiendo con ésto valor comercial. La disminución de la temperatura en días calurosos se logra a través de una fuerte ventilación del invernadero, el riego de los pasillos y las paredes de concreto de las camas y también rociando las plantas. Por otra parte, también son desfavorables para el desarrollo de las plantas los grandes cambios de temperatura diurna y nocturna. En estas condiciones las flores se deforman, aunque estén aún cerradas (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Además de una temperatura ambiental adecuada, es sumamente importante el mantenimiento de la temperatura del sustrato a un nivel adecuado. Durante todo el tiempo del cultivo ésta debe ser de 21-25°C. En una temperatura de 21-25°C el número de plantas eliminadas a causa de *Phytophthora cryptogea* Pethyb. et Laff. disminuye considerablemente. Las investigaciones realizadas en el Centro Experimental de Floricultura de Aalsmeer (Holanda), en 1965, indicaron que al cultivar la gerbera en un sustrato de 25°C no había pérdidas provocadas por *P. cryptogea*, mientras que a temperatura de 20°C había un 6.6% de plantas marchitas y en el sustrato no calentado un 16.3% (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Rogers y Tjia (1990) señalan que las temperaturas nocturnas (15°C) durante el invierno, favorecen la producción de brotes vegetativos en la corona de la planta, lo cual aumentará el número de flores en la primavera.

Las investigaciones de Berninger (1979) muestran que algunas respuestas fisiológicas de crecimiento de la gerbera están más correlacionadas con la temperatura del aire, mientras otras están relacionadas con la temperatura del suelo.

Respuestas de crecimiento afectadas principalmente por la temperatura del aire:

- Tiempo transcurrido desde la aparición del botón floral hasta su madurez.

- Elongación del pedúnculo durante la etapa inicial de desarrollo.

Respuestas de crecimiento afectadas por la temperatura del suelo.

- Intervalo de tiempo entre la aparición de los botones florales.
- Longitud final del tallo floral.
- Elongación del pedúnculo durante su etapa final de desarrollo.

Agua: Oszkinis y Lisiecka (1990) indican que un riego abundante en el periodo de iniciación de yemas florales incrementa la longitud de los tallos. Por otra parte, Rogers y Tjia (1990) señalan que aunque la gerbera requiere un constante aporte de agua, la superficie del suelo debe estar seca entre los riegos ya que una humedad excesiva alrededor de las hojas y coronas fomenta el desarrollo de tizón por *Botrytis*, mildiu y pudrición de la corona.

Sustrato

La gerbera en su lugar de origen se da en suelos ligeramente ácidos, ricos en humus y arena. Esto significa que para el cultivo de esta planta son adecuados los sustratos permeables, con buenas características de aire y agua y un pH ácido. Algunos productores cultivan gerberas para flor cortada en contenedores (bolsas de polietileno, macetas), más que en camas o bancales. Esta técnica favorece el espaciamiento entre plantas y hace posible moverlas fácilmente de un área a otra durante la producción. Las plantas infectadas con pudrición de la raíz pueden removerse y destruirse sin daño o contaminación de las plantas adyacentes. El cultivo de plantas en maceta también facilita la venta de plantas maduras o de 3 años de producción para su venta al menudeo y uso en jardines, al final de su ciclo de producción como flor cortada. Los contenedores deben tener de 25-30 cm de profundidad para que se pueda desarrollar el sistema radical tan abundante y profundo de la gerbera. Se recomiendan generalmente las macetas de 11 l, ya que contenedores más pequeños se secarían pronto y reducirían la capacidad de producción de flores. El medio de crecimiento para gerbera necesita una alta capacidad de retención de agua, pero al mismo tiempo debe poseer un alto espacio

poroso para un rápido drenaje después del riego. La producción de gerbera para flor cortada en cama deberá tener por lo menos 25-30 cm de profundidad para evitar problemas de drenaje, los cuales favorecen el desarrollo de *Phytophthora cryptogea* y *Pythium* spp. que son los principales patógenos de la raíz. Las raíces de gerbera necesitan una gran cantidad de aire para que la planta se desarrollen bien, por ello es indispensable que el cultivo se haga en un terreno con buen drenaje, pues el agua estancada asfixia a la planta (Ramon López, 1989; Oszkinis y Lisiecka, 1990; Rogers y Tjia, 1990).

Cultivo en tierra: En el cultivo de gerbera deben evitarse los suelos demasiado pesados, los cuales debilitan el crecimiento y la floración de las plantas y crean la posibilidad de la aparición de clorosis. El medio de crecimiento debe contener por lo menos 50-60% de materia orgánica por volumen y tener buenas condiciones de espacio poroso y drenaje. El sustrato que contenga arena de río, debe ser pasteurizado con vapor o fumigantes químicos antes de plantar ya que *Phytophthora cryptogea* es un patógeno siempre presente en el campo y jardines, y debe ser erradicado de los sustratos por tales tratamientos (Oszkinis y Lisiecka, 1990; Rogers y Tjia, 1990).

Cultivo sin tierra: Rogers y Tjia (1990) señalan que debido particularmente a las dificultades para obtener suelos libres de patógenos y de una calidad consistente, cada vez más los cultivadores utilizan otros sustratos diferentes de la tierra o suelo para cultivar gerbera. La mayoría de los sustratos comercialmente preparados son satisfactorios para la producción de gerbera. En general se han sugerido dos mezclas de sustratos para el cultivo de gerbera:

- | | |
|-------------------------|-------------------------|
| - 50% Peat moss | - 60% Peat moss |
| - 25% Vermiculita | - 20% Vermiculita |
| - 10% Perlita | - 10% Perlita |
| - 15% Arcilla calcinada | - 10% Arcilla calcinada |

Cultivo en turba ácida: La turba ácida contiene muy pocos nutrientes y antes de utilizarse debe ser encalada y fertilizada adecuadamente. La gerbera crece y florece bien cuando el pH de la turba seleccionada para su cultivo es de 4.8 - 5.5. La turba ácida es el sustrato que más se ha empleado en el cultivo de la gerbera, aunque también ha dado buenos resultados la composta de corteza de pino (Ramón López, 1989; Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Cultivo en corteza de pino: Rogers y Tjia (1990) previenen contra el uso de un medio que contenga más de 20% de corteza de pino, puesto que algunas veces se presenta clorosis en el follaje. La corteza de pino tiene menor capacidad de retención de agua que el peat moss, lo cual hace al riego apropiado más difícil, especialmente durante el verano. La corteza de pino puede también tomar o fijar nitrógeno y fósforo dando como resultado problemas nutricionales. Aunque en algunas investigaciones la composta de corteza en el medio ha estimulado el crecimiento de azaleas y poinsettias por la producción de sustancias antimicrobianas que detienen el desarrollo de Pythium y/o Phytophthora, la adición de composta de corteza o la adición de corteza sin compostar a un suelo contaminado con los hongos fitopatógenos, no reduce las pérdidas por *Phytophthora cryptogea* en gerbera, necesitándose otras medidas de control.

Cultivo en lignito: El lignito que se usa para el cultivo de gerbera debe tener partículas de diferente grosor, con predominio de las de 5 mm de diámetro, con el propósito de proporcionar un medio con buena aireación y drenaje. En un experimento se observó que las gerberas cultivadas en un sustrato de grava, comparadas con aquellas cultivadas en suelo, tuvieron mayor producción de flores, pedúnculos más largos y mayor diámetro del capítulo floral (Armendáriz, 1987; Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Cultivo en lana de roca: Muchos cultivadores Europeos han utilizado lana de roca exitosamente. Rogers y Tjia (1990), indican que en un experimento las gerberas cultivadas en lana de roca y en una mezcla de perlita y vermiculita crecieron igualmente bien,

no así las que se sembraron en lana de roca desmenuzada, en comparación con las que se cultivaron en una mezcla de 75% de musgo de pantano y 25% de perlita. En un boletín técnico sobre cultivo de gerbera editado por la compañía Florist se señala que el cultivo en lana de roca proporciona un 20% más de producción en comparación con el cultivo en suelo o tierra.

Otros sustratos

Entre los sustratos comúnmente utilizados en la horticultura ornamental, se encuentra la germinaza. La germinaza es un medio orgánico para la germinación y cultivo de plantas en invernadero o en almacigos, está libre de hongos o bacterias patógenas, además de tener buenas características de retención de humedad y aireación para el desarrollo de hortalizas y plantas de ornato. Tiene un pH de 6.3 a 6.5. Su densidad es de 200 kg/m³.

En 1989, Ramón López cultivó gerberas para flor de corte en tezontle obteniendo un buen desarrollo del cultivo. La densidad aparente de este sustrato, para una granulometría de 2 a 15 mm, es de 1.200 g/l.

pH del sustrato

En la práctica se ha demostrado que la gerbera crece mejor y florece más abundantemente en sustratos ácidos. El rango de pH óptimo para la tierra y las mezclas de sustratos con corteza de pino o con lignito es de 5.5 - 6.5 y para el sustrato de turba es de 4.8 - 5.5. Zwaard (1963), citado por Oszkinis y Lisiecka (1990), considera que la gerbera que crece en un sustrato de 6.5 - 7.9 de pH es más resistente a las enfermedades de marchitamiento que la gerbera cultivada en sustratos con pH de 3.6 a 4.0.

Stinson (1964), citado por Oszkinis y Lisiecka (1990), fue el primero en determinar la relación entre el pH del sustrato y el rendimiento de las flores. Este autor considera que para la floración de gerbera es más favorable un pH igual a 6.0, ya que si hay niveles más altos de pH, disminuye visiblemente el número de inflorescencias obtenidas de una planta.

Oszkinis y Lisiecka (1990) señalan que el pH del sustrato tiene también una influencia sobre la durabilidad de las flores, el diámetro de los capítulos y la longitud de los pedúnculos. Las inflorescencias provenientes de plantas cultivadas en un sustrato con pH óptimo son mucho más durables en los floreros. Tratándose de niveles inferiores de pH, el diámetro de los capítulos es mayor. Sobre la relación entre el pH y la longitud de los pedúnculos no hay uniformidad de criterios.

Fertilización

La gerbera requiere fertilizaciones bajas pero constantes, la compañía Florist de Kwakel, recomienda niveles semanales de 400 a 500 ppm de N. Ramón López (1989) al cultivar gerbera en hidroponia utilizó la siguiente solución nutritiva: 300 ppm de N; 60 ppm de P; 300 ppm de K; 300 ppm de Ca; 75 ppm de Mg; 1.0 ppm de Fe; 0.5 ppm de B; 0.5 ppm de Mn; 0.05 ppm de Zn y 0.05 ppm de Cu. Con esta solución obtuvo un buen desarrollo del cultivo.

Enfermedades

Después de introducir la gerbera al cultivo, se convirtió en una cuestión inmensamente importante la determinación de las causas de su marchitamiento, pues esta enfermedad limitaba notablemente el cultivo de esta planta. En la actualidad ya se conocen los agentes causales de estas enfermedades, entre ellos tenemos a; *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Sclerotinia* spp., *Fusarium* spp., o *Verticilium* spp. (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Pudrición de la corona (*Phytophthora* spp. Tucker). Esta enfermedad se presenta generalmente cuando la gerbera ha sido plantada demasiado profundo y el sustrato se mantiene excesivamente húmedo. Ha sido mencionada varias veces como el factor más limitante de la producción de gerbera en invernadero, pues cuando se presenta una infestación severa puede destruir un cultivo entero.

Las hojas de las plantas infectadas se marchitan y se secan gradualmente, tornándose de color café rojizo. La corona de la planta se torna oscura y se pudre. Las raíces, las cuales parecen sanas al

principio, desarrollan un color café húmedo. La planta entera puede morir en 2 semanas después de la aparición de los síntomas iniciales. Cuando se intenta arrancar las plantas, se rompen al nivel del cuello, o si se logran arrancar se puede desprender la corteza de la raíz, quedando a la vista el cilindro central, de color café.

Los síntomas aéreos del ataque de Phytophthora son una pudrición basal de los pecíolos y el pedúnculo floral, que se extiende hacia el limbo, las hojas se enrollan, se tornan amarillas o carmín - violeta, se secan y se vuelven quebradizas.

La transmisión del patógeno es por agua de riego, la cual al ponerse en contacto con las plantas infestadas arrastra las zoosporas y disemina la enfermedad.

El control preventivo de Phytophthora incluye la desinfección del sustrato, evitar excesos de humedad y grandes fluctuaciones de temperatura. Otra forma de evitar el ataque de la enfermedad es usar cultivares resistentes como los cvs. Sachas y Palas. Desde un punto de vista práctico, el control básico de este patógeno ayuda a prevenir las pérdidas debidas a otros patógenos (Armendáriz, 1987; Oszkinis y Lisiecka, 1990; Rogers y Tjia, 1990).

Marchitez y muerte de la gerbera (*Fusarium oxysporum*, Sheld.). Este hongo vive en el suelo y provoca el marchitamiento de la gerbera a causa de la infección de la base de la corona, la cual inicialmente toma un color café oscuro y después se descompone y se pudre, las hojas se amarillan y se marchitan. Las flores liguliformes tienen las lígulas formadas y coloreadas irregularmente. Las raíces de las plantas enfermas por un largo tiempo, no muestran los síntomas de la enfermedad y se mueren hasta después de que la planta se seca. El desarrollo de la enfermedad es lento, el pleno desarrollo del hongo inicia hasta cuando se muere la planta, en los restos vegetales aparecen entonces esclerocios de color café oscuro, los cuales pueden sobrevivir a condiciones ambientales desfavorables.

El benomyl aplicado al suelo cada 8 semanas, aunque impide el desarrollo de diferentes especies de Fusarium, Sclerotinia y Botrytis, actúa fitotóxicamente sobre la gerbera provocando

encafesamiento y muerte de las partes apicales y de los bordes de las láminas foliares (Oszkinis y Lisiecka, 1990; Rogers y Tjia, 1990).

Para impedir la presencia de hongos fitopatógenos en el suelo se recomienda la desinfección preventiva del sustrato. Para realizar la desinfección del sustrato existen algunas dudas. En el caso de la desinfección química se presenta el fenómeno de actividad selectiva de los fungicidas, mientras que el tratamiento del sustrato con vapor es costoso y efectivo sólo cuando se realiza cuidadosamente y la temperatura adecuada es mantenida en toda la superficie, ya que al dejar aunque sea un solo foco de infección o restos vegetales (raíces) se ocasiona una nueva y rápida reinfección del suelo. Además, de acuerdo con investigaciones realizadas en la Granja Hortícola Estatal de Owińska (Polonia), la desinfección del sustrato, ya sea por medios químicos o por vapor, repercute en la población microbiana del suelo, dando como resultado que el nivel de la población microbiológica quede destruida por un largo período de tiempo.

En el resurgimiento de los microorganismos del suelo después de la desinfección, juega un papel importante la rapidez de la reproducción de los hongos y bacterias que son antagónicos en relación a los patógenos que infectan las raíces de las plantas cultivadas. Desgraciadamente, los hongos patógenos al encontrar enemigos se expanden más rápidamente en un sustrato desinfectado que en uno no desinfectado. Por esto, de acuerdo con las investigaciones realizadas, es claro que para el cultivo de plantas de importancia económica y que son susceptibles a los patógenos del suelo es mejor utilizar sustrato recientemente preparado que el desinfectado. Sin embargo, esto no es siempre posible. En este caso toma gran importancia la cuestión de una recolonización controlada del sustrato, es decir, la introducción al suelo de hongos o bacterias, los cuales al desarrollarse en el sustrato limitan la presencia de patógenos que causan la enfermedad de las plantas (Oszkinis y Lisiecka, 1990).

Klonowa y Kafarski (1979), citados por Oszkinis y Lisiecka (1990), indican que es importante la adición de composta de corteza de pino a los sustratos de turba o a las mezclas tierra-turba, ya que en la corteza se encuentran hongos antagónicos importantes del género *Trichoderma*. De esta manera, la composición del sustrato, tan importante para la vida de las plantas, juega también un papel extremadamente importante en el proceso de determinación de los microorganismos del suelo.

V. MATERIALES Y METODOS

Se realizaron dos ensayos experimentales: Uno para valorar la importancia de *Trichoderma* spp. (PROMOT PLUS) como agente de control biológico contra *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri*, en cultivo de gerbera, y el otro para determinar si *Trichoderma* spp., (PROMOT PLUS) tiene efectos sobre el desarrollo e incremento del número de flores por planta de gerbera.

5.1. LOCALIZACION

Los experimentos se realizaron en los invernaderos del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, sita en los 19° 29' de latitud norte y en los 98° 53' de latitud oeste. Chapingo, Edo. de México, se encuentra a una altitud de 2250 m. sobre el nivel del mar y cuenta con un clima C(Wo) (W) b(i'') g, el cual corresponde a un clima templado subhúmedo, el más seco de los subhúmedos con lluvias en verano. La precipitación media anual es de 645 mm, ocurriendo la máxima precipitación en el mes de julio y la mínima en enero.

El invernadero utilizado es del tipo de dos aguas, construido con estructura de metal y cubierta de fibra de vidrio. La superficie que abarca el invernadero es de 219.51 m²; cuenta con 5 camas de 26 m de largo por 1.14 m de ancho, con 30 cm de profundidad y pasillos pavimentados de 35 cm de ancho; tiene ventilación lateral, dichas ventilas están cubiertas con malla mosquitera permitiendo la circulación del aire y sirviendo de protección contra insectos.

5.2. MATERIAL VEGETAL

Para ambos experimentos se utilizó el cultivar "Marie Louise", provisto por la casa Florist de Kwakel, provenientes de Aalsmeer, Holanda.

Las características generales de este cultivar de gerbera son las siguientes: color lila o fucsia, flor semidoble de centro negro, longitud del pedúnculo floral $\geq$ 50 cm, el diámetro del capítulo floral es de 10 cm en promedio, y la producción por planta es de 1.7 flores al mes.

5.3. MANEJO DE LOS EXPERIMENTOS

5.3.1. SIEMBRA, CONTENEDORES Y SUSTRATOS

Las plantas de gerbera se sembraron el 21 de mayo de 1994, en bolsas de polietileno negro, calibre 600, de tamaño 40 x 45, de 18 l de capacidad.

Se utilizaron dos tipos de sustrato, uno consistió en una mezcla de 60% de germinaza, 25% de agrolita y 15% de grava de tezontle rojo, y el otro sustrato sólo de grava de tezontle rojo. Antes de ser utilizados se desinfectaron utilizando bromuro de metilo (Fumigran®) a una dosis de 48 g/m³.

Para determinar las características físicas de ambos sustratos se siguieron los procedimientos recomendados por Sánchez (1994) que se señalan a continuación:

- Densidad aparente

Se tomó una muestra de cada sustrato, teniendo cuidado de que éste estuviera seco, llenando una probeta de un litro después de lo cual se peso para establecer el peso de un litro de sustrato. Se realizaron 10 repeticiones por sustrato, promediando posteriormente los resultados.

- Porcentaje de espacio poroso

Se llenaron macetas de 6" (a las que previamente se les taparon los orificios de drenaje) con un litro de cada sustrato, a continuación se les agregó agua hasta obtener el punto de saturación, anotando la cantidad de agua vertida, posteriormente se destaparon los agujeros de las macetas dejándose drenar por tres horas y recogiendo el agua en otro recipiente, midiendo la cantidad de agua drenada por maceta. Al restar el volumen de agua drenada del volumen vertido se obtuvo el porcentaje de porosidad, porcentaje de sólidos y el porcentaje de poros después del drenaje. Para este procedimiento también se realizaron 10 repeticiones.

5.3.2. RIEGOS Y FERTILIZACION

Las plantas se regaron durante su etapa de establecimiento en la mañana y por la tarde, y cuando ya estuvieron aclimatadas, una vez

cada tres días, alternando los riegos; una vez con agua y otra con solución nutritiva.

Como el cultivo se manejó en hidroponia, la solución nutritiva que se utilizó fue la siguiente: 300 ppm de N; 60 ppm de P; 300 ppm de K; 400 ppm de Ca; 75 ppm de Mg; 1.0 ppm de Fe; 0.5 ppm de B; 0.5 ppm de Mn; 0.05 ppm de Zn y 0.05 ppm de Cu. Para suministrar las concentraciones anteriores se utilizaron como fuentes de los elementos los siguientes fertilizantes comerciales: nitrato de calcio, nitrato de potasio, sulfato de magnesio, fosfato diamónico, sulfato de fierro, sulfato de manganeso, ácido bórico, sulfato de cobre y sulfato de zinc.

El pH de la solución se mantuvo en un rango de 6 - 6.5, que es el óptimo para este cultivo, con la ayuda de ácido sulfúrico.

5.3.3. LABORES CULTURALES Y CONTROL DE PLAGAS Y ENFERMEDADES

Durante el desarrollo del experimento se presentó el ataque de *Trialeurodes vaporariorum* (mosquita blanca), la cual se mantuvo controlada con aplicaciones de Folimat, 1 ml/l de agua, y Temik, 1 g/maceta.

En cuanto a enfermedades, se tuvo la presencia de *Erysiphe cichoracearum* (cenicilla), la cual se controló realizando fumigaciones con Saprol, 1.5 ml/l de agua.

Para mantener limpio el cultivo se realizaban labores de deshojado que consistían en retirar las hojas enfermas y secas, para evitar que fueran fuente de inóculo. Otra labor que se realizó en el transcurso del experimento fue el desenterrado de las plantas, ya que la gerbera tiene raíces contráctiles que tienden a jalar a la planta hacia abajo, y para evitar que la corona quedara enterrada se tuvo que quitar periódicamente el sustrato que la cubría.

5.4 DISEÑO EXPERIMENTAL

5.4.1. EXPERIMENTO NO. 1

Este experimento se diseñó con la finalidad de evaluar a *Trichoderma* spp., en su formulación de Promot, como agente de control biológico contra *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri*.

El experimento se realizó utilizando un diseño de bloques al azar con tres factores, cada uno con dos niveles (aplicación o no de Trichoderma, tipo de sustrato y tipo de patógeno). De la combinación de los factores y sus respectivos niveles se obtuvieron ocho tratamientos (que se describen adelante). El número de repeticiones fue de ocho resultando 64 unidades experimentales cada una con cinco plantas de gerbera.

5.4.1.1. MODELO ESTADISTICO

El análisis de información se basó en el modelo:

$$Y_{ijkl} = \mu + \beta_i + T_j + S_k + P_l + (TS)_{jk} + (TP)_{jl} + (SP)_{kl} + (TSP)_{jkl} + E_{ijkl}$$

$$i = 1, 2, 3, \dots, 8$$

$$j = 1, 2$$

$$k = 1, 2$$

$$l = 1, 2$$

donde;

Y_{ijkl} = Característica en estudio o variable de respuesta, correspondiente a la parcela del bloque i que recibió los niveles j , k y l de los factores "Trichoderma", "sustrato" y "patógeno", respectivamente.

μ = Media general,

β_i = Efecto del bloque i ,

T_j = Efecto del nivel j de Trichoderma,

S_k = Efecto del nivel k del sustrato,

P_l = Efecto del nivel l del patógeno,

$(TS)_{jk}$ = Efecto de interacción entre los efectos de los niveles j y k de Trichoderma y sustrato, respectivamente.

$(TP)_{jl}$ = Efecto de interacción entre los efectos de los niveles j y l de Trichoderma y patógeno, respectivamente,

$(SP)_{kl}$ = Efecto de interacción entre los efectos de los niveles k y l del sustrato y patógeno, respectivamente,

$(TSP)_{jkl}$ = Efecto de interacción entre los efectos de los niveles j , k y l del tipo de sustrato, acción de Tichoderma y presencia del patógeno, respectivamente,

E_{ijkl} = Error experimental o componente aleatorio correspondiente a Y_{ijkl} .

Para estudiar el efecto de la combinación de niveles de los tres factores (considerados como un tratamiento), sobre cada variable, se corrió un análisis de varianza para cada una de las variables, con base en el modelo:

$$Y_{11} = \mu + \beta_1 + C_1 + E_{11} \quad \begin{matrix} i = 1, 2, 3, \dots, 8 \\ j = 1, 2, 3, \dots, 8 \end{matrix}$$

en donde;

Y_{11} = Característica en estudio o variable de respuesta, correspondiente a la parcela del bloque i que recibió la combinación de factores j

μ = Media general,

β_1 = Efecto del bloque i ,

C_1 = Efecto de la combinación de factores j ,

E_{11} = Error experimental o componente aleatorio correspondiente a Y_{11} .

5.4.1.2. TRATAMIENTOS

Los tratamientos que se generaron al combinar los dos niveles de cada uno de los tres factores fueron los siguientes:

1. Aplicación de *Trichoderma* spp. (PROMOT) a las plántulas de gerbera al trasplante, inoculando 90 días después la cepa de *Fusarium oxysporum*, en mezcla de sustratos.
2. Aplicación de *Trichoderma* spp. (PROMOT) a las plántulas de gerbera al trasplante, inoculando 90 días después la cepa de *Fusarium oxysporum*, en grava de tezontle rojo.
3. Aplicación de *Trichoderma* spp. (PROMOT) a las plántulas de gerbera al trasplante, inoculando 90 días después la cepa de *Phytophthora drechsleri*, en mezcla de sustratos.
4. Aplicación de *Trichoderma* spp. (PROMOT) a las plántulas de gerbera al trasplante, inoculando 90 días después la cepa de *Phytophthora drechsleri*, en grava de tezontle rojo.
5. Testigo no. 1. Plantas de gerbera sembradas en mezcla de sustratos más la adición de *Fusarium oxysporum*. Sin Trichoderma.
6. Testigo no. 2. Plantas de gerbera sembradas en grava de tezontle rojo más *Fusarium oxysporum*. Sin Trichoderma.

7. Testigo no. 3. Plantas de gerbera sembradas en mezcla de sustratos más la adición de *Phytophthora drechsleri*. Sin Trichoderma.
8. Testigo no. 4. Plantas de gerbera sembradas en grava de tezontle rojo más *Phytophthora drechsleri*. Sin Trichoderma.

5.4.1.3. OBTENCION Y PREPARACION DEL INOCULO

Para obtener propágulos de *F. oxysporum* y *P. drechsleri* se realizaron muestreos de plantas que presentaban los síntomas producidos por estas enfermedades. Estos muestreos se llevaron a cabo en la empresa Zumpaflor, en Villa Guerrero Edo. de México y en los invernaderos del Depto. de Fitotecnia de la U.A.CH.

Con las raíces y corona del material vegetal enfermo se realizaron los procedimientos de aislamiento y purificación, cortando las muestras en pequeños trozos (1 - 1.5 mm), desinfectándolos superficialmente con hipoclorito de sodio al 1% durante 2 a 3 min. y después de haber eliminado el hipoclorito con tres enjuagues de agua destilada estéril, se procedió a sembrarlos en cajas de Petri con papa-dextrosa-agar (PDA) y jugo de tomate-agar como medios de cultivo. Después de 72 horas de incubación se tomaron pequeñas muestras del micelio de las cajas para su identificación al microscopio. De acuerdo con las características de las estructuras fructíferas observadas, y con la ayuda de las claves de Booth (1971), Newhook et al. (1978) y Streets (1975) se determinó la presencia de *Phytophthora drechsleri*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*.

Para incrementar el inóculo de *Phytophthora drechsleri* y *Fusarium oxysporum* se realizaron los siguientes procedimientos:

Fusarium oxysporum Sheld.

- Se sembró en 50 cajas de Petri, utilizando como medio de cultivo PDA.
- A los 10 días cuando estaban presentes los conidios, se licuó el contenido de las cajas en 2 l de agua destilada estéril, obteniéndose una suspensión de conidios.

Phytophthora drechsleri Tucker.

- Se prepararon 50 cajas de Petri con jugo de tomate - agar, como medio de cultivo, sembrándose en ellas el inóculo del hongo.
- Las cajas de Petri se colocaron en incubadora, después de 8 días se observó el contenido para determinar la presencia de esporangios.
- Una vez presentes los esporangios se licuó el contenido de las 50 cajas en 2 l de agua destilada estéril para obtener una suspensión de esporangios.
- Los 2 l de suspensión se colocaron en el refrigerador a una temperatura de 12 a 15°C por una hora para tener liberación de zoosporas.

5.4.1.4. APLICACION DE LOS TRATAMIENTOS

Trichoderma spp. en su formulación de Promot Plus, fue aplicada a las raíces de las plántulas de gerbera en el momento del trasplante, diluyendo 42.5 g del producto en 4 l de agua, y sumergiendo las raíces de las plantas en esta suspensión.

Fusarium oxysporum se aplicó el 25 de octubre de 1994, cuando las plantas tenían 5 meses de sembradas. A 160 plantas les correspondió recibir este tratamiento, como se tenían 2 l de suspensión de conidios del patógeno, cada una recibió 12.5 ml de esta preparación, la cual fue inoculada a la raíz y corona con la ayuda de un riego ligero. En el caso de los tratamientos testigos 1 y 2, al momento de la inoculación se hicieron pequeñas heridas en las raíces y corona de las plantas de gerbera para facilitar la infección por el hongo.

El 21 de noviembre de 1994 se realizó la inoculación de *Phytophthora drechsleri*, cuando las plantas tenían 6 meses de sembradas. Este tratamiento les correspondió a 160 plantas y como se tenían 2 l de suspensión de zoosporas, cada planta recibió 12.5 ml de esta preparación, la cual fue inoculada a la raíz y corona con la ayuda de un riego ligero.

5.4.1.5. VARIABLE DE RESPUESTA

La característica en estudio fué la siguiente:

1. Porcentaje de plantas sanas, después de inocular la cepa de *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri* . Esta característica se tomó cuando aproximadamente un 100% de las plantas de los testigos 1, 2, 3 y 4 presentaban síntomas de la enfermedad.

5.4.1.6. REAISLAMIENTO DE TRICHODERMA, FUSARIUM Y PHYTOPHTHORA

Con el fin de verificar que los agentes causales del marchitamiento de las plantas habían sido los patógenos inoculados, se realizaron los siguientes procedimientos.

Para los tratamientos 5 y 6:

- Se cortaron pequeños trozos (1 a 1.5 mm) de las raíces y corona de 10 plantas enfermas, desinfectándolos superficialmente con hipoclorito de sodio al 1% durante 2 a 3 min., después se eliminó el hipoclorito con tres enjuagues de agua destilada estéril, sembrando estos trozos en cajas de Petri con papa-dextrosa-agar (PDA) como medio de cultivo. Después de 72 horas de incubación se tomaron muestras del micelio de las cajas para su identificación al microscopio.

Para los tratamientos 7 y 8:

- Se siguió el método anteriormente descrito, sustituyéndose el medio de cultivo papa-dextrosa-agar por jugo de tomate - agar.

Para comprobar la presencia de Trichoderma en las plantas sanas se tomaron 10 muestras de las raíces y corona de los tratamientos 1,2,3 y 4, realizando con éstas los procedimientos de aislamiento y purificación, sembrándose en cajas de Petri con PDA como medio de cultivo. Después de 72 horas de incubación se tomaron muestras del micelio desarrollado para su identificación al microscopio.

5.4.2. EXPERIMENTO NO. 2

El experimento se realizó utilizando un diseño de bloques al azar para el estudio de dos factores, cada uno con dos niveles (aplicación, o no, de Trichoderma y tipo de sustrato). De las combinaciones de los niveles y factores resultaron cuatro tratamientos, cada uno de los cuales se repitió 8 veces, resultando 32 unidades experimentales cada una con 5 plantas de gerbera.

5.4.2.1. MODELO ESTADISTICO

El análisis de información se basó en el modelo:

$$Y_{ijk} = \mu + \beta_i + T_j + S_k + (TS)_{jk} + E_{ijk}$$

$$\begin{aligned} k &= 1, 2 \\ j &= 1, 2 \\ i &= 1, 2, \dots, 8 \end{aligned}$$

donde;

Y_{ijk} = Observación correspondiente a la unidad experimental del bloque i que recibió los niveles j y k de los factores Trichoderma y sustrato, respectivamente.

μ = Media general,

β_i = Efecto del bloque i ,

T_j = Efecto del nivel j de Trichoderma,

S_k = Efecto del nivel k del sustrato,

$(TS)_{jk}$ = Efecto de la interacción de los niveles j y k de Trichoderma y el sustrato, respectivamente,

E_{ijk} = Error experimental correspondiente a Y_{ijk} .

5.4.2.2. TRATAMIENTOS

Los tratamientos que se estudiaron fueron los siguientes:

1. Aplicación de Trichoderma spp. (PROMOT) a las plántulas de gerbera al momento del trasplante, en mezcla de sustratos.
2. Aplicación de Trichoderma spp. (PROMOT) a las plántulas de gerbera al momento del trasplante, en grava de tezontle rojo,
3. Testigo no. 1, plantas de gerbera sembradas en mezcla de sustratos sin adición de Trichoderma spp.
4. Testigo no. 2, plantas de gerbera sembradas en grava de tezontle rojo sin la adición de Trichoderma spp.

5.4.2.3. APLICACION DE LOS TRATAMIENTOS

Trichoderma spp., en su formulación de Promot Plus, fue aplicada a las raíces de las plántulas de gerbera en el momento del trasplante, diluyendo 42.5 g del producto en 4 l de agua, y sumergiendo las raíces de las plantas en esta suspensión (Cuadro 1).

Cuadro 1. Dosis aplicada de Trichoderma

Producto	Ingrediente activo por (g)	Dosis
PROMOT		42.5 g/4 l
(<i>Trichoderma koningii</i>)	3×10^8 conidios / g	
(<i>Trichoderma harzianum</i>)	2×10^8 conidios / g	

5.4.2.4. VARIABLES DE RESPUESTA

Las características estudiadas fueron las siguientes:

1. Número de días a la primera floración. Esta característica se contabilizó a partir del 21 de mayo de 1994 (fecha de siembra) hasta la aparición del primer botón floral, con la finalidad de establecer si Trichoderma tenía efectos de precocidad en esta planta.
2. Número de hojas por planta a la aparición del 1er. botón floral. Una vez que se presentó el primer botón floral se contó el número de hojas presentes en ese momento. El número de hojas presentes en promedio es de 7 a 8 en otros cultivares de gerbera. Esta característica también se midió para determinar precocidad.
3. Número de inflorescencias a los 90, 120 y 160 días, después del transplante (el 19 de agosto, 18 de septiembre y 4 de diciembre se cumplieron los 90, 120 y 160 días, respectivamente). Las flores se cortaron cuando ya se habían formado dos hileras de anteras mostrando polen. Registrando y sumando el total de flores para cada fecha.

6. Diámetro de la inflorescencia al momento del corte. Esta variable se tomó midiendo (cm) desde el ápice de las lígula hasta el ápice de la lígula del extremo opuesto.
7. Diámetro del pedúnculo al momento de la cosecha. Utilizando un vernier se midió el ancho del pedúnculo (cm) a los 10 cm a partir del receptáculo de la flor.
8. Longitud del pedúnculo al momento del corte. Esta característica se determinó midiendo la longitud (cm) desde el inicio del pedúnculo (abajo del receptáculo) hasta el final del mismo.

5.5. ANALISIS DE LOS DATOS

Con la información generada por los dos experimentos se realizó, para cada uno de ellos, un análisis de varianza para cada variable estudiada. La prueba de comparación de medias de efectos de tratamientos se realizó de acuerdo con el método de Tukey. Y, con el fin de estudiar la relación entre variables, se efectuó un análisis de correlación lineal. Originalmente, para cada variable se realizó una prueba de hipótesis con el fin de determinar si la variable seguía una distribución normal, o no. La prueba de normalidad se realizó para los residuos generados por las diferencias entre los valores observados y los predichos correspondientes de acuerdo con los modelos predichos propuestos. La prueba utilizada fue la Kolmogorov-Smirnov (SAS, 1979).

VI. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1. EXPERIMENTO NO. 1

6.1.1. PORCENTAJE DE PLANTAS SANAS, DESPUES DE INOCULAR LAS CEPAS DE *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri*.

El análisis de varianza realizado para esta variable señala que los factores sustrato y *Trichoderma* inducieron diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y altamente significativas ($\alpha=0.01$), respectivamente. La interacción entre estos dos factores también resultó ser significativa (Cuadro 2).

Cuadro 2. Análisis de varianza (modelo factorial), del porcentaje de plantas sanas.

F.V.	G.L.	S. de C.	C. M.	F	Pr>F	
Bloque	7	1.98	0.2834	0.6	0.7	NS
Sustrato (S)	1	2.64	2.6406	5.5	0.02	*
<i>Trichoderma</i> (T)	1	276.39	276.3906	585.2	0.0001	**
Patógeno (P)	1	0.76	0.7656	1.6	0.20	NS
S * T	1	2.64	2.6406	5.5	0.02	*
T * P	1	0.76	0.7656	1.6	0.20	NS
S * P	1	0.14	0.1406	0.3	0.58	NS
S * T * P	1	0.14	0.1406	0.3	0.58	NS
Error	49	23.14	0.4722			
Total	63					
C.V. = 33%		Plantas sanas promedio = 2.07				

* = Diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

** = Diferencias altamente significativas ($\alpha=0.01$)

NS = Diferencias no significativas ($\alpha=0.05$)

Las medias indican que la aplicación de *Trichoderma* spp. (promedio por parcela = 4), evitó que las plantas de gerbera fueran atacadas por *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri*, obteniendo un 83% de plantas sanas, mientras que en los tratamientos donde no se aplicó *Trichoderma* spp. (Testigos), el porcentaje de plantas sanas fue de 0%.



Fig. 6. Planta de gerbera afectada por *Fusarium oxysporum* se muestra una sección de la corona de color café obscuro, síntoma de la enfermedad.



Fig. 7. Plantas de gerbera afectada por *Phytophthora drechsleri*. Se observa la separación de la corona de la planta de las raíces, también es notoria la pudrición de las mismas, mostrándose el cilindro central de éstas.

Con respecto al sustrato, se obtuvo un mayor porcentaje de plantas sanas (45.6 %) al utilizar tezontle, en comparación con un 37.5 % de plantas sanas, cuando se utilizó la mezcla de sustratos. Este resultado pudo deberse a que dicha mezcla tiene mayor capacidad de retención de agua que el tezontle, y por lo tanto los hongos patógenos se vieron favorecidos por este medio húmedo.

En cuanto a la interacción entre sustratos y *Trichoderma*, que resultó ser significativa, se observa como el comportamiento relativo de un tipo de sustrato con respecto al del otro cambia de cuando no se aplica, a cuando sí se aplica *Trichoderma*. En ausencia de *Trichoderma* el número medio de plantas sanas resultó ser igual a cero en ambos sustratos; sin embargo, cuando se aplicó *Trichoderma* se observa cómo el sustrato de tezontle fué el que mejor uso hizo de tal aplicación, generando una media de plantas sanas por parcela de 4.56 (91 %), que fue superior a la que se obtuvo con la mezcla de sustratos de 3.7 (74.5 %), Cuadro 3.

Cuadro 3. Medias de número y porcentaje de plantas sanas, después de inocular *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri*, en dos tipos de sustratos y con aplicación o no de *Trichoderma* spp.

	Sustrato	
	Tezontle	Mezcla de Sustratos
Presente <i>Trichoderma</i>	4.56 (91 %)	3.72 (74.5 %)
Ausente	0	0

Este resultado confirma que el mejor sustrato, para la obtención de plantas sanas, independientemente del patógeno inoculado, fue el tezontle.

La no significancia de la interacción *Trichoderma* * patógeno, indica que la diferencia entre los efectos en número de plantas sanas obtenidos, aplicando y no aplicando *Trichoderma*, no cambia significativamente en presencia de *Phytophthora* o *Fusarium*. Por otra parte, el que la interacción sustrato * *Trichoderma* * patógeno no haya

sido significativa, señala que el patrón de interacción observado entre sustrato y *Trichoderma* se mantiene constante independientemente de la presencia de *Fusarium* o *Phytophthora*.

Considerando a las combinaciones de los niveles de los factores sustrato, *Trichoderma* y patógeno como ocho tratamientos, se estudió el efecto de dichos tratamientos sobre esta variable, realizando un análisis de varianza, el cual nos indicó que existen diferencias altamente significativas ($\alpha=0.01$) entre los efectos de los tratamientos, Cuadro 4.

Cuadro 4. Análisis de varianza (ocho tratamientos), para el porcentaje de plantas sanas después de inocular *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri*.

F.V.	G.L.	S. de C.	C. M.	F	Pr>F	
Bloques	7	1.9	0.2834	0.6	0.7	NS
Tratamientos	7	283.4	40.4977	85.7	0.0001	**
Error	49	23.1	0.4722			
Total	63					
C.V. = 33 %		Plantas sanas promedio = 2				

** = Diferencias altamente significativas ($\alpha=0.01$)

NS = Diferencias no significativas ($\alpha=0.05$)

Para determinar cuales de estos ocho tratamientos favorecieron la presencia de plantas sanas, se llevó a cabo la prueba de comparación de medias de Tukey, la cual nos señaló que los tratamientos 4 (con aplicación de *Trichoderma* spp., en tezontle y con inoculación de *Phytophthora*) y 2 (con aplicación de *Trichoderma* spp., en tezontle y con inoculación de *Fusarium*) fueron los que presentaron mayor porcentaje de plantas sanas, 97.5 % y 85 %, respectivamente (Cuadro 5). Todos los tratamientos con *Trichoderma* produjeron medias de plantas sanas que fueron significativamente superiores que las correspondientes a las que no usaron *Trichoderma*.

Estos resultados sugieren que la mejor combinación para obtener plantas sanas fué la aplicación de *Trichoderma* spp. y uso de tezontle como sustrato. Los dos tratamientos con esta combinación fueron los que produjeron las medias estadísticamente superiores (excepto al tratamiento 3) a todos los demás (Cuadro 5).

Cuadro 5. Prueba de comparación de medias de Tukey para la variable porcentaje de plantas sanas, después de inocular *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora drechsleri*.

Plantas sanas		
Tratamientos	Promedio/parcela	Porcentaje (%)
4	4.875 a *	97.5
2	4.250 a	85
3	3.875 ab	77.5
1	3.625 b	72.5
5	0 c	0
6	0 c	0
7	0 c	0
8	0 c	0

* = Medias unidas con las misma letra son estadísticamente iguales ($\alpha=0.05$).

Tratamiento 4 = Trichoderma + tezontle + Phytophthora.

T. 2 = Trichoderma + tezontle + Fusarium.

T. 3 = Trichoderma + mezcla + Phytophthora.

T. 1 = Trichoderma + mezcla + Fusarium.

T. 5 = Sin Trichoderma + mezcla + Fusarium.

T. 6 = Sin Trichoderma + tezontle + Fusarium.

T. 7 = Sin Trichoderma + mezcla + Phytophthora.

T. 8 = Sin Trichoderma + tezontle + Phytophthora.

6.1.2. REAISLAMIENTO DE LOS HONGOS

Con base en las estructuras presentes y con la ayuda de las claves de Booth (1971), Newhook et al. (1978) y Domsch et al. (1980), se identificaron las cepas aisladas de los diferentes tratamientos.

Para los tratamientos 5 y 6 la cepa fue identificada como *Fusarium oxysporum*. En los tratamientos 7 y 8 el hongo encontrado fue *Phytophthora drechsleri* y finalmente para los tratamientos 1,2,3 y 4 se identificó al hongo *Trichoderma spp.*

Con los resultados anteriores se corrobora que los agentes causales de la marchitez de las plantas fueron los hongos patógenos inoculados y asimismo se comprueba la presencia de *Trichoderma spp.* en las plantas sanas.

6.2. EXPERIMENTO NO. 2

6.2.1. NO. DE DÍAS A LA PRIMERA FLORACION

Para determinar si alguno de los tratamientos aplicados tuvo efectos significativos en adelantar los días a la floración, se realizó un análisis de varianza (Cuadro 6) con los datos obtenidos. Ninguna fuente de variación resultó ser estadísticamente significativa.

Cuadro 6. Análisis de Varianza para el número de días a la primera floración.

F.V.	G.L.	S. de C.	C. M.	F	Pr>F	
Bloque	7	268.3	38.32	1.5	0.20	NS
Sustrato (S)	1	11.0	11.04	0.4	0.50	NS
Trichoderma (T)	1	2.0	2.00	0.08	0.77	NS
S * T	1	51.0	51.00	2.0	0.16	NS
Error	21	513.7	24.46			
Total	31					
C.V.= 5 %		Días promedio = 93				

NS = Diferencias no significativas ($\alpha=0.05$)

El promedio general de días a la primera floración fue de 93, aproximadamente 13 semanas. De acuerdo con lo reportado por Oszkinis y Lisiecka (1990) y por Rogers y Tjia (1990), las plántulas de gerbera, dependiendo de su tamaño y época de plantación, florearán en 10 a 12 semanas. Si se considera que las plántulas utilizadas en este experimento fueron traídas de Holanda, y se necesitaron aproximadamente 15 días para que se aclimataran a las condiciones ambientales imperantes en el lugar del experimento, se puede afirmar que los resultados obtenidos para esta característica de estudio son satisfactorios.

En el Cuadro 7 se muestran los datos referentes a promedios y coeficientes de variación, registrados por tratamiento.

Cuadro 7. Número de días a la primera floración, promedios y coeficientes de variación por tratamiento. Chapingo, Méx. 1994.

Tratamiento	Días promedio	C.V. (%)
1	95	4.8
2	91	6
3	92	6
4	93	5.5

- 1 = Trichoderma spp. + Mezcla de sustratos
- 2 = Trichoderma spp. + Tezontle
- 3 = Sin Trichoderma spp. + Mezcla de sustratos
- 4 = Sin Trichoderma spp. + Tezontle

6.2.2. NUMERO DE HOJAS POR PLANTA A LA APARICION DEL PRIMER BOTON FLORAL

El resultado del análisis de varianza para esta variable señala que no se encontraron diferencias significativas entre los efectos de los tratamientos (Cuadro 8).

Ramón López (1989) al evaluar esta particularidad en gerbera, encontró que para el cultivar "Terra-México", el número de hojas presentes a la aparición del primer botón floral era de 7 y para el cultivar "Tropic-Lady", fue de 9. Al realizar el presente experimento el promedio general para el cv. "Marie Louise" fue de 6 hojas. Lo anterior concuerda con lo mencionado por Oszkinis y Lisiecka (1990), quienes señalan que la gerbera forma bastantes hojas, colocadas en roseta y el número de ellas es muy variable y depende de las características individuales de cada planta.

Cuadro 8. Análisis de Varianza para el número de hojas por planta a la aparición del primer botón floral.

F.V.	G.L.	S. de C.	C. M.	F	Pr>F	
Bloque	7	4.12	0.58	1.29	0.30	NS
Sustrato	1	1.36	1.36	2.97	0.09	NS
Trichoderma	1	0.15	0.15	0.33	0.57	NS
S * T	1	0.66	0.66	1.44	0.24	NS
Error	21	9.63	0.45			
Total	31					
C.V. = 10 %		Hojas promedio = 6				

NS = Diferencias no significativas ($\alpha=0.05$)

En el Cuadro 9 se anotan los promedios registrados en cada tratamiento, así como los coeficiente de variación correspondientes.

Cuadro 9. Promedios de hojas por planta y sus coeficientes de variación (CV) a la aparición del primer botón floral.

Tratamiento	Hojas promedio	C.V. (%)
1	5.9	13.49
2	6.6	12.22
3	6.3	7.28
4	6.4	10.43

1 = Trichoderma spp. + Mezcla de sustratos

2 = Trichoderma spp. + Tezontle

3 = Sin Trichoderma spp. + Mezcla de sustratos

4 = Sin Trichoderma spp. + Tezontle

6.2.3. NUMERO DE INFLORESCENCIAS POR PLANTA A LOS 90, 120 Y 160 DIAS

Midiendo esta característica se pretendió estudiar la importancia de las fuentes de variación involucradas en el experimento (Trichoderma, sustrato o la interacción T * S) con relación a la producción de flores en este cultivo. Al estudiar los datos con un análisis de varianza se encontró significancia estadística (Cuadros 10-13) sólo para el factor sustrato.

Cuadro 10. Análisis de Varianza para la variable de respuesta, Número de inflorescencias por planta a los 90 días.

F.V.	G.L.	S. de C.	C. M.	F	Pr>F	
Bloque	7	4.34	0.62	3.5	0.01	*
Sustrato (S)	1	2.42	2.42	13.8	0.001	**
Trichoderma (T)	1	0.18	0.18	1.0	0.32	NS
S * T	1	0.32	0.32	1.8	0.19	NS
Error	21	3.68	0.17			
Total	31					
C.V.= 13 %		Inflorescencias promedio = 3				

NS = Diferencias no significativas ($\alpha=0.05$)

* = Diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

** = Diferencias altamente significativas ($\alpha=0.01$)

En el Cuadro 11 se muestran los números promedio de flores por planta a los 90, 120 y 160 días. En este cuadro se puede observar que

Cuadro 11. Promedios del número de inflorescencias por planta a los 90, 120 y 160 días.

Factor	Nivel	Número de flores a los		
		90 días	120 días	160 días
Sustrato (S)	Tezontle	3.450	5.525	7.575
	Mezcla de S.	2.900	4.887	6.700

el sustrato que produjo más flores a los 90, 120 y 160 días fue el tezontle, lo cual coincide con lo reportado por Armendáriz (1987) y por Oszkinis y Lisiecka (1990). Quizás, el que la mezcla de germinaza, agrolita y tezontle permaneciera húmeda por más tiempo (ya que retenía mayor cantidad de agua) que el tezontle, haya sido el factor que influyó en los resultados, ya que en la mezcla de sustratos las plantas tendían a enterrarse más, con lo cual la corona quedaba cubierta por la mezcla húmeda, llegando a observarse incluso botones florales necróticos y podridos por la humedad, los cuales obviamente no se desarrollaban.

Cuadro 12. Análisis de Varianza para el número de inflorescencias por planta a los 120 días

F.V.	G.L.	S. de C.	C. M.	F	Pr>F	
Bloque	7	6.7	0.9698	2.07	0.09	NS
Sustrato (S)	1	3.2	3.2512	6.94	0.01	*
Trichoderma (T)	1	0.2	0.2112	0.45	0.50	NS
S * T	1	0.9	0.9112	1.95	0.17	NS
Error	21	9.8	0.4683			
Total	31					
C.V.= 13 %		Inflorescencias promedio = 5				

NS = Diferencias no significativas ($\alpha=0.05$)

* = Diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

En los Cuadros 12 y 13 se muestran los resultados obtenidos para el análisis de varianza de los datos recabados para las variables número de inflorescencias por planta a los 120 y, 160 días, respectivamente. En ambos casos el tipo de sustrato es la única fuente de variación que produce los efectos diferentes y significativos ($\alpha=0.05$).

Cuadro 13. Análisis de Varianza para el número de inflorescencias por planta a los 160 días

F.V.	G.L.	S. de C.	C. M.	F	Pr>F	
Bloque	7	10.49	1.49	1.49	0.22	NS
Sustrato (S)	1	6.12	6.12	6.10	0.02	*
Trichoderma (T)	1	1.12	1.12	1.12	0.30	NS
S * T	1	1.44	1.44	1.44	0.24	NS
Error	21	21.08	1.00			
Total	31					
C.V.= 14 %		Inflorescencias promedio = 7				

NS = Diferencias no significativas ($\alpha=0.05$)

* = Diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

El promedio general de producción de flores por planta fue de 7.13. Si consideramos que la toma de datos se llevó a cabo durante cuatro meses (septiembre, octubre, noviembre y diciembre), tenemos que la producción de flores por planta, por mes, fue de 1.78 flores lo cual coincide con lo óptimo reportado para este cultivar (Anónimo, 1994).

6.2.4. DIAMETRO DE LA INFLORESCENCIA AL MOMENTO DEL CORTE

La finalidad de estudiar esta característica fue determinar si al menos alguno de los factores involucrados en los tratamientos, producía un aumento en el diámetro de la flor y con ello una mejor calidad. Al observar el análisis de varianza, Cuadro 14, se evidencia que el factor *Trichoderma* está asociado con una diferencia altamente significativa ($\alpha=0.01$) en el diámetro de la flor.

Cuadro 14. Análisis de Varianza para el diámetro de las inflorescencias al momento del corte

F.V.	G.L.	S. de C.	C. M.	F	Pr>F	
Bloque	7	0.35	0.051	0.63	0.72	NS
Sustrato (S)	1	0.13	0.132	1.64	0.21	NS
<i>Trichoderma</i> (T)	1	1.05	1.015	12.54	0.001	**
S * T	1	0.32	0.324	4.00	0.058	NS
Error	21	1.70	0.080			
Total	31					
C.V.= 2.65 %		Diámetro promedio = 10.71				

De las medias de esta variable se desprende que la presencia de *Trichoderma* favoreció el incremento de el diámetro del capítulo floral (Cuadro 15).

Cuadro 15. Promedios del diámetro de las inflorescencias al momento del corte.

Factor	Nivel	Diámetro de la inflorescencia (cm)
<i>Trichoderma</i> (T)	Presencia	10.894
	Ausencia	10.538



Fig. 8. Flores de gerbera cv. "Marie Louise". Izq. sin aplicación de *Trichoderma* spp., der. con aplicación de *Trichoderma* spp.

El diámetro promedio del cultivar "Marie Louise" es de 10 cm. Y el diámetro promedio logrado en este experimento para dicho cultivar fue de 10.7. Si consideramos que las gerberas se clasifican, para su venta, en tres categorías, y aquellas que entran dentro del primer grado, son las que cuentan con un capítulo floral de 10 cm, entonces podemos declarar que los resultados fueron muy satisfactorios.

En relación con la aplicación de *Trichoderma*, en cultivos florícolas, Chang et al. (1986) y Paulitz et al. (1985), notificaron respuestas de incremento en el desarrollo de tales cultivos.

6.2.5. DIAMETRO DEL PEDUNCULO AL MOMENTO DE LA COSECHA

Este variable fue utilizada para determinar si alguna de las fuentes de variación (sustrato, *Trichoderma* o la interacción de los mismos), involucrados en los tratamientos, estaba relacionada con cambios en el espesor del escapo floral. El análisis de varianza (Cuadro 16) para esta característica indica que el factor *Trichoderma* produjo diferencias altamente significativas ($\alpha=0.01$).

Cuadro 16. Análisis de Varianza para diámetro del pedúnculo floral al momento del corte.

F.V.	G.L.	S. de C	C. M.	F	Pr>F	
Bloque	7	0.001	0.000192	0.63	0.72	NS
Sustrato (S)	1	0.000003	0.000003	0.01	0.92	NS
<i>Trichoderma</i> (T)	1	0.003	0.003003	9.91	0.004	**
S * T	1	0.0001	0.000153	0.51	0.48	NS
Error	21	0.006	0.000303			
Total	31					
C.V.= 2.72 %		Diámetro promedio = 0.63 cm				

NS = Diferencias no significativas ($\alpha=0.05$)

** = Diferencias altamente significativas ($\alpha=0.01$)

Con la comparación de medias se observa que fue la aplicación de *Trichoderma* lo que incrementó el diámetro del pedúnculo floral (Cuadro 17).

Cuadro 17. Promedio del diámetro del pedúnculo al momento del corte.

Factor	Nivel	Diámetro del escapo floral
<u>Trichoderma</u> (T)	Presencia	0.64875 cm
	Ausencia	0.62937 cm

De acuerdo con Oszkinis y Lisiecka (1990), los tallos florales deben armonizar con las inflorescencias, es decir, las flores grandes no pueden estar colocadas sobre tallos demasiado delgados. Y es deseable que las plantas tengan pedúnculos rígidos, de 3 - 4 mm de diámetro.

El espesor promedio del pedúnculo, que se obtuvo en este experimento fue de 0.63 cm, lo cual armonizó con el tamaño de la flor (promedio = 10.7 cm). En base a observación práctica se determinó la vida poscosecha de las flores, ésta fue de aproximadamente 10 días, lo cual fue muy positivo, y es de esperarse que flores con mayor diámetro del escapo floral tengan mayor vida poscosecha, hasta 14 días, según Ramón López (1989).

6.2.6. LONGITUD DEL ESCAPO FLORAL AL MOMENTO DEL CORTE

Puesto que esta característica es importante en la clasificación comercial de las flores de gerbera, fue elegida para establecer si alguno de los factores involucrados en los tratamientos aplicados estaba relacionado con cambios en la longitud del escapo floral, y con ello mejoraba la calidad de la flor. El análisis de varianza para los datos recabados para esta variable, indicó que los factores sustrato y Trichoderma, indujeron diferencias significativas ($\alpha=0.05$) y altamente significativas ($\alpha=0.01$), respectivamente (Cuadro 18).

Cuadro 18. Análisis de Varianza para la longitud del escapo floral al momento del corte.

F.V.	G.L.	S. de C.	C. M.	F	Pr>F	
Bloque	7	83.40	11.915	2.99	0.02	*
Sustrato (S)	1	30.10	30.108	7.56	0.01	*
Trichoderma (T)	1	45.07	45.077	11.32	0.002	**
S * T	1	0.55	0.556	0.14	0.71	NS
Error	21	83.64	3.983			
Total	31					
C.V.= 3.41 % Longitud promedio = 58.43 cm						

NS = Diferencias no significativas ($\alpha=0.05$)

* = Diferencias significativas ($\alpha=0.05$)

** = Diferencias altamente significativas ($\alpha=0.01$)

En el Cuadro 19 se observan las medias, las cuales señalan que la mezcla de sustratos (60% de germinaza, 25% de agrolita y 15% de tezontle), y Trichoderma, favorecieron el aumento en la longitud del escapo floral.

Cuadro 19. Promedios de la longitud del escapo floral al momento del corte.

Factor	Nivel	Longitud del escapo floral
Trichoderma (T)	Presencia	59.6 cm a
	Ausencia	57.2 cm b
Sustrato (S)	Mezcla de S.	59.4 cm a
	Tezontle	57.4 cm b

* = Medias unidas con la misma letra son estadísticamente iguales ($\alpha=0.05$).

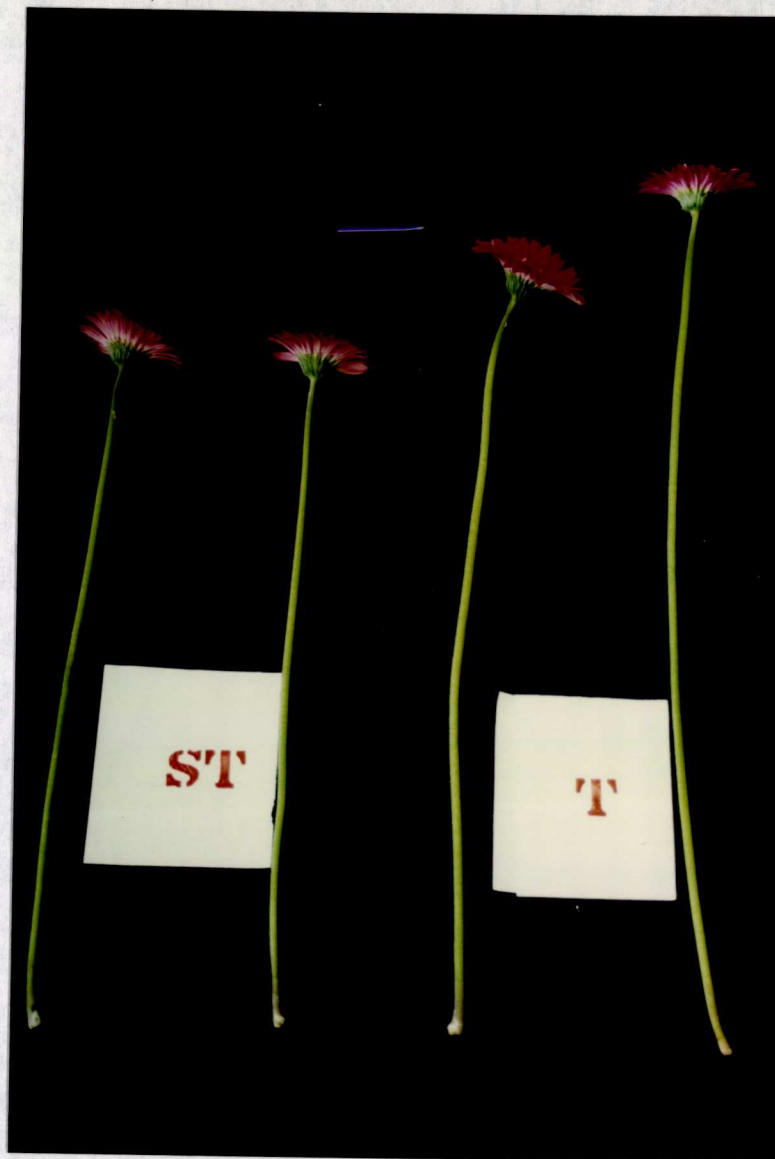


Fig. 9. Flores de gerbera cv. "Marie Louise". Izq. sin aplicación de *Trichoderma* spp., der. con aplicación de *Trichoderma* spp.

El que la mezcla de sustratos y no el tezontle haya influido más en la longitud del pedúnculo, quizás se debió a que dicha mezcla tuvo mayor capacidad de retener los nutrientes, en comparación con el tezontle, cuyo calibre de 2 - 4 mm, favoreció el lavado de los nutrientes. Del mismo modo, la mezcla de sustratos tuvo más capacidad de retención de agua que el tezontle, ocasionando con ello que las plantas sembradas en este sustrato tuvieran siempre agua disponible para su desarrollo, mientras que, las cultivadas en tezontle padecían de un ligero estrés de agua al medio día, en los días calurosos, reponiéndose por las tardes. El agua es un factor muy importante para el buen desarrollo del escape floral, ya que, como lo señalan Oszkinis y Lisiecka (1990), un riego abundante y, por lo tanto, agua disponible en el período de iniciación de las yemas florales, incrementa la longitud de los tallos.

En lo concerniente a el factor Trichoderma, su presencia favoreció el aumento en la longitud del pedúnculo, resultado que coincide con lo experimentado por Paulitz et al. (1985), quienes al cultivar crisantemo, cuyos esquejes habían sido inicialmente inoculados con el hongo, obtuvo más altura, peso seco y fresco, así como mayor número de botones florales en el producto final. La longitud promedio fue de 58.43 cm, lo cual coloca a las flores producidas en la clasificación de primera calidad.

6.3. ANALISIS DE CORRELACION

Para determinar si las variables de respuesta estaban asociadas, y, en su caso, la intensidad de la asociación se realizó un análisis de correlación, utilizando coeficientes de Pearson, cuyos resultados se muestran en el Cuadro 20.

Cuadro 20. Coeficientes de Correlación (Coeficientes de Pearson), entre variables relacionadas con la producción y calidad, en cultivo de gerbera cv. "Marie Louise". La segunda cantidad es el nivel de significancia.

	No. flores 90 días.	No. flores 120 días.	No. flores 160 días.	Diámetro de la flor.	Ancho del escapo.	Long. del escapo.
Días a la 1ra. flor	-0.327 0.067	-0.366* 0.039	-0.277 0.123	-0.035 0.848	0.073 0.687	0.183 0.314
Hojas a la 1ra. flor	0.396* 0.024	0.466** 0.007	0.323 0.070	-0.379* 0.032	0.384* 0.028	0.425* 0.015
Flores 90 días.	0.0	0.697** 0.0001	0.666** 0.0001	0.145 0.426	0.031 0.865	0.295 0.100
Flores 120 días.		0.0	0.864** 0.0001	0.102 0.578	0.074 0.683	0.007 0.968
Flores 160 días.			0.0	0.145 0.427	0.027 0.881	0.024 0.893
Diámetro de la flor.				0.0	0.759** 0.0001	0.401* 0.022
Ancho del escapo.					0.0	0.321 0.073

* = Correlación significativa ($\alpha=0.05$).

** = Correlación altamente significativa ($\alpha=0.01$).

En este Cuadro, se observa una correlación negativamente significativa ($\alpha=0.05$), entre el número de días a la primera floración y el número de flores a los 120 días ($r=-0.366^*$), lo que significa, que entre más tiempo transcurra antes de la aparición del primer botón floral menos flores se producirán a los 120 días, lo cual es un resultado obvio.

Entre las variables número de hojas a la 1ra. flor y número de flores a los 90 y 120 días ($r=0.396$ y $r=0.466$), resultaron correlaciones positivas, significativas ($\alpha=0.05$) y altamente significativas ($\alpha=0.01$). Si establecemos que a mayor área foliar, obtendremos mayor fotosíntesis y, por lo tanto, una alta producción de metabolitos, es claro que entre más hojas tenga una planta puede esperarse una mayor capacidad de producción. Este resultado confirma la práctica común entre los productores, de remover los botones florales que aparecen en la planta que no tiene de 6 a 8 hojas presentes, ya que se considera que una planta con menor cantidad de hojas, es aún muy débil y sus primeras flores serán de poca calidad.

Una correlación negativamente significativa ($\alpha=0.05$) se presenta entre las variables número de hojas a la aparición del 1er. botón floral y los parámetros de calidad (diámetro de la flor, espesor y longitud del tallo floral). Si consideramos, como se discutió anteriormente, que a mayor número de hojas habrá mayor producción de flores, entonces este resultado confirma lo citado por Oszkinis y Lisiecka (1990) y por Armendáriz (1987), quienes afirman que un incremento excesivo de la floración, puede traer como consecuencia una disminución en la calidad de la flor, lo que implica tallos cortos y delgados, así como diámetros pequeños del capítulo floral.

Otro resultado obvio, es el que señalan las correlaciones significativas ($\alpha=0.05$) y positivas entre las variables número de flores por planta a los 90, 120 y 160 días.

Información interesante, es la que se desprende de las correlaciones positivas, altamente significativas ($\alpha=0.01$) y significativas ($\alpha=0.05$), entre las variables diámetro del capítulo floral, espesor del escapo floral y longitud del mismo. Lo cual indica que, en este cultivar se espera que las inflorescencias con mayor diámetro, tengan también buenas características de anchura y longitud del tallo floral. Esto es desde un punto de vista aplicado, la evaluación de la calidad, por lo que a las tres variables se refiere, se puede estimar con base en la evaluación de una sola variable, la más fácil de ser medida

6.4. PRUEBA DE NORMALIDAD

Para cada una de las variables de respuesta, de ambos experimentos, se realizó la prueba de normalidad de Kolmogorov-Smirnov. Los resultados señalan que los datos tomados para todas las variables fueron extraídos de muestras provenientes de poblaciones que se distribuyen normalmente.

6.5. CARACTERÍSTICAS FÍSICAS DE LOS SUSTRATOS EMPLEADOS

En el Cuadro 21 se muestran los resultados obtenidos para algunas características físicas de los dos sustratos utilizados en los experimentos.

Los resultados señalan que la densidad aparente más elevada la encontramos en el tezontle (1.2 g/l), en tanto que en la mezcla de sustratos el valor es más bajo (200 g/l), este resultado es un indicador de la cantidad de sólidos y espacio poroso que posee cada sustrato, por ello no es sorprendente observar que el tezontle tiene a la vez el porcentaje de sólidos (49.35%) más elevado y, el menor contenido de espacio poroso total (50.65%) en comparación con la mezcla de sustratos.

Cuadro 21. Características físicas de los sustratos empleados.

	Tezontle	Mezcla de sustratos
Densidad aparente.	1.200 g/l	200 g/l
% de sólidos.	49.35	21
% de poros totales.	50.65	79
% de retención de agua.	62.98	80.13
% de poros después del drenaje.	37.21	19.87

En este cuadro también se observa que la mezcla tiene mayor capacidad de retención de agua (80.13%) que el tezontle (62.78%), pero el porcentaje de poros después de drenaje es mayor en el tezontle que en la mezcla de sustratos, revelando con esto que el tezontle posee mejores cualidades de drenaje y aireación.

VII. CONCLUSIONES

Con base en los resultados obtenidos, para las condiciones particulares de cada experimento, se concluye lo siguiente:

- 1.- *Trichoderma* spp., en su formulación de "Promot Plus", mostró capacidad, como agente de control biológico contra *Fusarium oxysporum* Sheld. y *Phytophthora drechsleri* Tucker.
- 2.- El sustrato que favoreció la presencia de plantas sanas fué el tezontle.
- 3.- *Trichoderma* spp., no afectó precocidad en el cv. de gerbera "Marie Louise", ya que no redujo el número de días a la aparición del 1er. botón floral, ni disminuyó el número de hojas a la aparición de la primera flor.
- 4.- Aunque se alcanzó un promedio de producción satisfactorio, 1.78 flores/planta/mes, *Trichoderma* spp. no incrementó el rendimiento de flores del cv. "Marie Louise".
- 5.- Al influir favorablemente en los parámetros de calidad de la flor, induciendo un diámetro del capítulo floral de 10.89 cm, superior al óptimo reportado para este cultivar (10 cm), un espesor del escapo floral de 0.64 mm y una longitud de 59.6 cm, *Trichoderma* spp. promovió el desarrollo de las flores y mejoró su calidad.
- 6.- En relación a los medios de cultivo utilizados en estos experimentos, las plantas de gerbera tendieron a enterrarse más en la mezcla de sustratos que en el tezontle, incrementando con ello los trabajos del cultivo.
- 7.- El tezontle utilizado, cuyo calibre fue de 2 a 4 mm, requirió de riegos con mayor frecuencia, ya que su capacidad de retención de agua fue menor a la de la mezcla de sustratos.

VIII. BIBLIOGRAFIA

- Abd-El Moity, T.H., Papavizas, G.C. and Shatla, M.N. 1982. Induction of new isolates of *Trichoderma harzianum* tolerant to fungicides and their experimental use for control of white rot onion. *Phytopathology* 72:396-400.
- Alavouvette, C., Couteaudier, Y. and Louvet, J. 1982. A comparison of the receptivity of soils and peats to *Fusarium* wilts. *Agronomie* 2(1). p:1-6.
- Alavouvette, C., Couteaudier, Y. and Louvet, J. 1985. Soils suppressiveness. In *Ecology and management of soil borne pathogens*. Parker, C.A. and Rovira, D.A. eds. American Phytopathological Society, St. Paul Minnesota. USA. p:101-106.
- Anónimo. 1986a. Biological Control of Plant Pathogens by *Trichoderma* spp.. J.H. Biotech, INC. Ventura, California, USA. 5 p.
- Anónimo. 1986b. PROMOT PLUS, Biological Growth Promoter. J.H. Biotech, INC.. Ventura, California, USA. 6 p.
- Armendáriz G., J.A. 1987. Aspectos generales del cultivo de la gerbera (*Gerbera jamesonii*). Tesis profesional. Depto. de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo.
- Anónimo. 1994. Descripción del cultivo de gerbera. Florist de kwakel b.v. Alsmeer, Holanda. 15 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.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, England. 237 p.
- Brian, P.W. and McGowan, J.C. 1945. Viridin: A highly fungistatic substance produced by *Trichoderma viride*. *Nature* 156: 144-145.
- Bruehl, G.W. 1975. Systems and mechanisms of residue possession by pioneer fungal colonists. In: *Biology and Control of Soil Borne Plant Pathogens*, ed. G. W. Bruehl, St. Paul Minn. Am. Phytopathol. Soc. 216pp.
- Caldwell, R. 1958. Fate of spores of *Trichoderma viride* Pers. ex Fr. introduced into Soil. *Nature* 181:1144-1145.

- Campbell, R. 1989. Control of microbial plant pathogens. Cambridge University Press. Cambridge. England.
- Chang, Y.C.; R. Baker; O. Kleifield and I. Chet. 1986. Increased Growth of Plant in the Presence of the Biological Control Agent *Trichoderma harzianum*. Plant disease. (70):145.
- Cherif, M. and Benhamou, N. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis lycopersici*. Phytopathology. Vol.80. No.12:1406-1414.
- Chet, I. and Baker, R. 1980. Induction of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology 70:994-998.
- Chet, I. and Baker, R. 1981. Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive to *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 71:286-290.
- Conway, K.E. and Kahn, B.A. 1990. Enhanced growth of broccoli transplants by the biocontrol fungi *Trichoderma harzianum* and *Laetisaria arvalis*. Phytopathology. Vol.80, No.4:434 (Abstr).
- Cook, R.J. and Baker, K.F. 1983. The nature and practice of biological control of plant pathogens. Am. phytopatho. Soc. St. Paul Minnesota. USA. 539pp.
- 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.
- Danielson, R.M. and Davey, C.B. 1973. Effects of nutrients and acidity on phialospore germination of *Trichoderma* in vitro. Soil Biol. Biochem. 5:517-524.
- 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.
- Domsch, K.H., Gams, W. and Anderson, T.H. 1980. Compendium of Soil Fungi. Vol. 1, London Academic. 859pp.
- Elad, Y. and Chet, I. 1983. Improved selective media for isolation of *Trichoderma* spp. or *Fusarium* spp. Phytoparasitica. 11:55-58.
- Elad, Y., Chet, I., Boyle, P. and Henis, Y. 1983. Parasitism of *Trichoderma* spp. on *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* Scanning electron microscopy and fluorescence microscopy. Phytopathology 73:85-88.

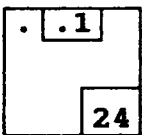
- Evans, E. 1955. Survival and recolonization by fungi in soil treated with formalin o carbon disulphide. Trans. Brit. Mycol. Soc. 38:335-346.
- Fedorinchik, N.S., Tarunina, T.A., Tyutyunnikov, M.G., and Kudryavtseva, K.I. 1975. Trichodermin-4, a new biological preparation for plant disease control. 8th. Int. Congr. Plant. Prot. 3:67-72.
- Fravel, D.R., Marois, J.J. and Connick, W.J. 1984. Encapsulation of potential biocontrol agents in sodium alginate aggregate. Phytopathology 74:756 (Abstr.).
- Godtfredsen, W.O. and Vangedal, S. 1965. Trichodermin , a new sesquiterpene antibiotic, Acta Chem. Scand. 19:1088-1102.
- Henis, Y. and Papavizas, G.C. 1983. Factors affecting germinability and susceptibility to attack of sclerotia of *Sclerotium rolfsii* by *Trichoderma harzianum* in field soil. Phytopathology 73:1469-1474.
- Herreros D., L. M. 1976. Cultivo de la Gerbera. Hojas Divulgadoras del Ministerio de Agricultura. Madrid, España. 16 p.
- Hoitink, H.A.J. 1980. Composted bark, a lightweight growth medium with fungicidal properties. Plant Disease 64:142-147.
- Hubbard, J.P., Harman, G.E. and Hadar, Y. 1983. Effect of soilborne *Pseudomonas* spp. on the biological control agent, *Trichoderma hamatum*, on pea seeds. Phytopathology 73:655-659.
- Lewis, J.A. and Papavizas, G.C. 1980. Integrated control of *Rhizoctonia* fruit rot of cucumber. Phytopathology 70:85-89.
- Lewis, J.A. and Papavizas, G.C. 1983. Production of chlamydospores and conidia by *Trichoderma* spp. in liquid and solid growth media. Soil Biol. Biochem. 15:351-357.
- Lewis, J.A. and Papavizas, G.C. 1984. Chlamydospore formation by *Trichoderma* spp. in natural substrates. Can. J. Microbiol. 30:1-7.
- Lewis, J.A. and Papavizas, G.C. 1984. A new approach to stimulate population proliferation of *Trichoderma* species and other potential biocontrol fungi introduced into natural soils. Phytopathology 74:1240-1244.
- Lewis, J.A. and Papavizas, G.C. 1984. Proliferation of *Trichoderma* and *Gliocladium* from alginate pellets in natural soil and reduction of *Rhizoctonia solani* inoculum. Phytopathology 74:836 (Abstr.).

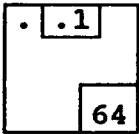
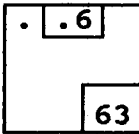
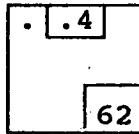
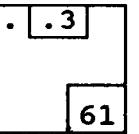
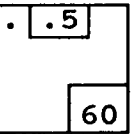
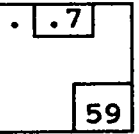
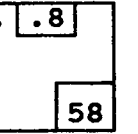
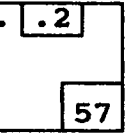
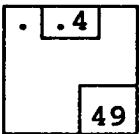
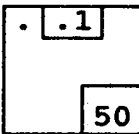
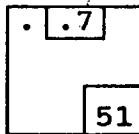
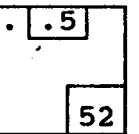
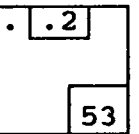
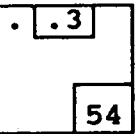
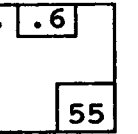
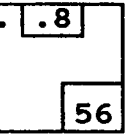
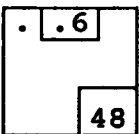
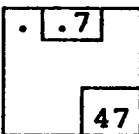
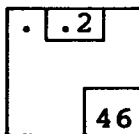
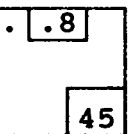
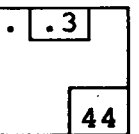
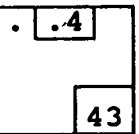
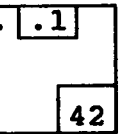
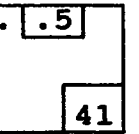
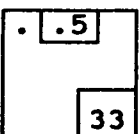
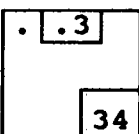
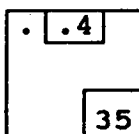
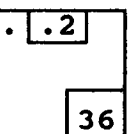
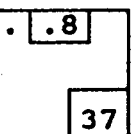
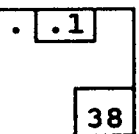
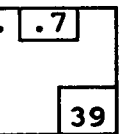
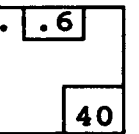
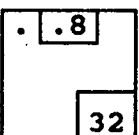
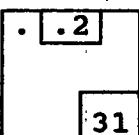
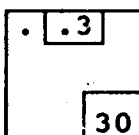
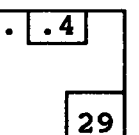
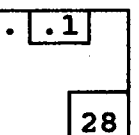
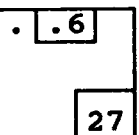
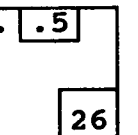
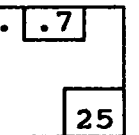
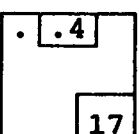
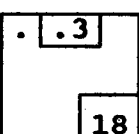
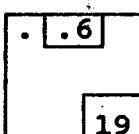
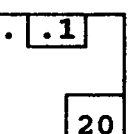
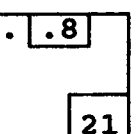
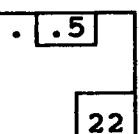
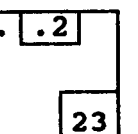
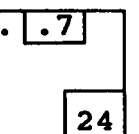
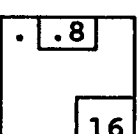
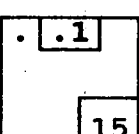
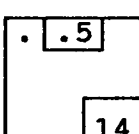
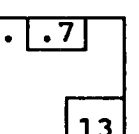
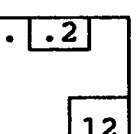
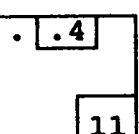
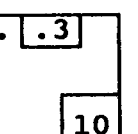
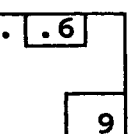
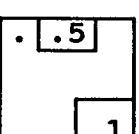
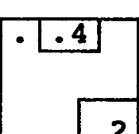
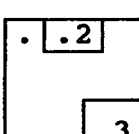
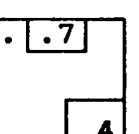
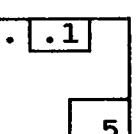
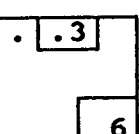
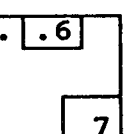
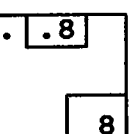
- Liu, S.D. 1980. Growth promotion effect of *Trichoderma* spp.. Department of Plant Protection. National Ping Tung Institute of Agriculture. Ping Tung. Taiwan. 9 p.
- Liu, S.D. and Baker, R. 1980. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 70:404-412.
- Locke, J.C., Marois, J.J. and Papavizas, G.C. 1984. Biological Control of Fusarium wilt of greenhouse-grown chrysanthemums. *Plant Dis.* 69:167-169.
- Lockwood, J.L. 1977. Fungistasis in soils. *Biol. Rev.* 52:1-43.
- Mangenot, F. and Diem, H.G. 1979. Fundaments of biological control. Falta completar cita.
- Marois, J.J. and Locke, J.C. 1985. Population dynamics of *Trichoderma viride* in steamed growing mixes. *Phytopathology* 75:205-208.
- Martínez L. A. 1991. La Floricultura del Estado de México y los Retos del Futuro Inmediato. *Floricultura Intensiva*. México. No. 3: p. 6.
- McBeath, J.H. and Adelman, M. 1991. Effects of cold tolerant *Trichoderma* on pathogenic fungi. *Phytopathology*. Vol. 81. No.10:1151 (Abstr).
- Merriman, P.R. 1976. Survival of sclerotia of *Sclerotinia sclerotiorum* in soil. *Soil Biol. Biochem.* 8:385-389.
- Mitchell, C.P. and Dix, N.J. 1975. Growth and germination of *Trichoderma* spp. under the influence of soil fungistasis. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 79:253-241.
- Newhook, J.F.; Waterhouse, M.G. and Stamps, J.D. 1978. Tabular key to the species of *Phytophthora* De Bary. *Mycological Papers*, No. 143. Commonwealth Mycological Institute. Kew Surrey. England, 20 p.
- Ohr, H.D., Munnecke, D.E. and Bricker, J.L. 1973. The interaction of *Armillaria mellea* and *Trichoderma* spp. as modified by methyl bromide. *Phytopathology* 63:965-973.
- Oszkinis, K. y Lisiecka, A. 1990. *Gerbera*. EDAMEX. 248 pp.
- Papavizas, G.C. 1981. Survival 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. Phytopathol.* Vol. 23:23-54.

- Papavizas, G.C., Dunn, M.T., Lewis, J.A. and Beagle-Ristaino, J. 1984. Liquid fermentation technology for experimental production of biocontrol fungi. *Phytopathology* 74:1171-1175.
- Papavizas, G.C., Lewis, J.A. and Abd-El Moity, T.H. 1982. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology* 72:126-132.
- Papavizas, G.C. and Lumsden, R.D. 1980. Biological control of soilborne fungal propagules. *Ann. Rev. Phytopathology* 18:389-413.
- Parkinson, D., Taylor, G.S. and Pearson, R. 1963. Studies on fungi in the 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 Chrysanthemum Cutting. *Phytopathology*. (75):133.
- P. Verhaegh, A. 1991. "México puede y debe convertirse en el principal proveedor de flores hacia E.U.A.". *Floricultura Intensiva*. México. No. 4: p. 8-9.
- Pryor, A. 1991. Plant Propellant. Researchers evaluate substances showing an ability to promote growth and combat plant disease. *California Farmer*. No.11:18-20.
- Richardson, L.T. 1954. The persistence of thiram in soil and its relationship to the microbiological balance and damping-off control. *Can. J. Bot.* 32:335-346.
- Rifai, M.A. 1969. A revision of the genus *Trichoderma*. *Commonw. Mycol. Inst. Mycol. Pap.* 116:56p.
- Rogers, M.N. and Tjia, B.O. 1990. Gerbera Production For cut flowers and pot plants. Armitage, A.M. (Eds.). *Growers Handbook series*. Vol. 4. Timber Press. Portland, Oregon. 116 p.
- Ramón López, V.E. 1989. Ensayo preliminar de la producción de Gerbera (*Gerbera jamesonii*, H. Bolus) en hidroponia bajo invernadero. Tesis profesional. Depto. Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo
- Ruiz K. G. 1991. La Floricultura de México Frente al Reto de la Internacionalización. *Floricultura Intensiva*. México. No. 3:4-8.
- SAS, 1979. SAS, User'S Guide. SAS Institute Inc. Cary, NC, USA.
- Sánchez del Castillo, F. 1994. Apuntes del curso de Sistemas Hidroponicos. Universidad Autónoma Chapingo. Depto. de Fitotecnia. 100 p.

- Schippers, B., Meijer, J.W. and Liem, J.I. 1982. Effect of ammonia and other soil volatiles on germination and growth of soil fungi. Trans. Brit. Mycol. Soc. 79:253-259.
- Sivan, A., Elad, Y. and Chet, I. 1984. Biological control effects of a new isolate of *Trichoderma harzianum* on *Pythium aphanidermatum*. Phytopathology 74:498-501.
- Smith, V.L., Wilcox, W.F. and Harman, G.E. 1990. Potential for biological control of Phytophthora root and crown rots of apple by *Trichoderma* and *Gliocladium* spp.. Phytopathology Vol. 80, No.9:880-885.
- Streets, B.R. 1975. The diagnosis of plant diseases. The University of Arizona Press. Tucson. Arizona. 1111 p.
- Turian, G. 1983. Concepts of fungal differentiation. In: Fungal Differentiation. ed. J.E. Smith, New York. 624 pp.
- Vergara G., I. 1993. Sintomatología e identificación de enfermedades bacterianas y fungosas en gerbera (*Gerbera jamesonii* H. Bolus), en Chapingo, Méx. Tesis Profesional, Depto. de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo
- Weindling, R. 1934. Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lignorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. Phytopathology 24:1153-1179.
- Weindling, R. 1937. Isolation of toxic substances from the culture filtrates of *Trichoderma* and *Gliocladium*. Phytopathology 27:1175-1177.
- 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 62:442-447.
- Windham, M.T., Elad, Y. and Baker, R. 1986. A mechanism for increased plant growth induced by *Trichoderma* spp. Phytopathology 76:518-521.
- Windham, M.T., Elad, Y. and Baker, R. 1985. Use of *Trichoderma* in propagation media used for bedding plants. Phytopathology Vol. 75, No.11:Abstr.

IX. APENDICE 1
EXPERIMENTO NO. 1
DISTRIBUCION DE LOS TRATAMIENTOS

NO. DE TRATAMIENTO ...  ...NO. DE PARCELA

X. APENDICE 2

EXPERIMENTO NO. 2

DISTRIBUCION DE LOS TRATAMIENTOS

NO. DE TRATAMIENTO ...

. .1
24

 ...NO. DE PARCELA

. .1 32	. .3 31	. .4 30	. .2 29
. .3 25	. .4 26	. .2 27	. .1 28
. .1 24	. .2 23	. .3 22	. .4 21
. .3 17	. .1 18	. .4 19	. .2 20
. .4 16	. .1 15	. .2 14	. .3 13
. .1 9	. .2 10	. .3 11	. .4 12
. .2 8	. .4 7	. .3 6	. .1 5
. .1 1	. .3 2	. .4 3	. .2 4