



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**  
*Enseñar la explotación de la tierra, no la del hombre*

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**  
**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL**

**ANTAGONISMO DE *Trichoderma harzianum* RIFAI Y  
*Trichoderma viride* PERS EN PLANTAS DE AGUACATE  
INOCULADAS CON *Phytophthora cinnamomi* RANDS.**

**TESIS**

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

Presenta:

**IMELDA JARQUÍN NIETO**

Bajo la supervisión de: **Dr. SAMUEL RAMÍREZ ALARCÓN**



DIRECCION GENERAL ACADEMICA  
DIRECCION DE SERVICIOS ESCOLARES  
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES



**CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO, JUNIO DE 2018**

ANTAGONISMO DE *Trichoderma harzianum* RIFAI Y *Trichoderma viride* PERS  
EN PLANTAS DE AGUACATE INOCULADAS CON *Phytophthora cinnamomi*  
RANDS.

Tesis realizada por **IMELDA JARQUÍN NIETO** bajo la supervisión del Comité  
Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para  
obtener el grado de

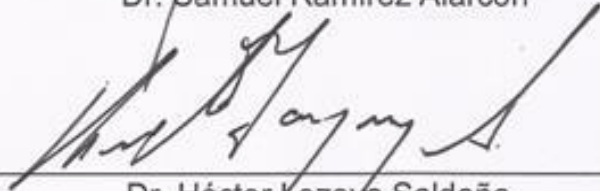
**MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL**

DIRECTOR:



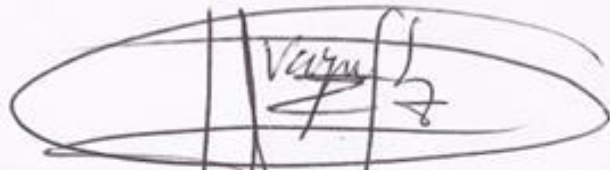
Dr. Samuel Ramírez Alarcón

ASESOR:



Dr. Héctor Lozoya Saldaña

ASESOR:



Dr. Mateo Vargas Hernández

## CONTENIDO

LISTA DE CUADROS .....	iv
LISTA DE FIGURAS .....	v
DEDICATORIAS .....	vii
AGRADECIMIENTOS .....	viii
DATOS BIOGRÁFICOS .....	ix
CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL .....	1
1.1. Objetivos .....	2
1.1.1. Objetivo General .....	2
1.1.2. Objetivos Específicos. ....	2
1.2. Hipótesis .....	2
CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA .....	3
2.1. Generalidades del Aguacate .....	3
2.1.1 Principales Enfermedades del Aguacate .....	4
2.1.2. Tristeza del Aguacate .....	5
2.2. <i>Phytophthora cinnamomi</i> .....	9
2.3. <i>Trichoderma</i> spp. ....	12
2.3.1. <i>Trichoderma harzianum</i> .....	14
2.3.2. <i>Trichoderma viride</i> .....	17
2.4. Literatura Citada .....	18
CAPÍTULO III. ....	21
ANTAGONISMO DE <i>Trichoderma harzianum</i> Y <i>Trichoderma viride</i> SOBRE <i>Phytophthora cinnamomi</i> EN PLANTAS DE AGUACATE VARIEDAD HASS EN INVERNADERO .....	21
RESUMEN .....	22
ABSTRACT .....	22
INTRODUCCIÓN .....	23

MATERIALES Y MÉTODOS .....	23
RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....	28
CONCLUSIONES.....	36
LITERATURA CITADA .....	36

## LISTA DE CUADROS

<b>Cuadro 1.</b> Escala <sup>1</sup> para la evaluación de la parte aérea de la severidad por efecto de <i>Phytophthora cinnamomi</i> en plantas de aguacate variedad Hass en condiciones de invernadero en los seis tratamientos.....	25
<b>Cuadro 2.</b> Escala <sup>1</sup> para la evaluación del sistema radical de la severidad por efecto de <i>Phytophthora cinnamomi</i> en plantas de aguacate variedad Hass en condiciones de invernadero en los seis tratamientos.....	26
<b>Cuadro 3.</b> Resumen del análisis estadístico de la separación de medias del porcentaje de severidad de la parte aérea en la evaluación de efectividad biológica de <i>T. harzianum</i> y <i>T. viride</i> para el control de la tristeza del aguacatero <i>P. cinnamomi</i> en el cultivo del aguacate.....	31
<b>Cuadro 4.</b> Resumen del análisis estadístico de la separación de medias del porcentaje de severidad en la raíz en la evaluación de efectividad biológica de <i>T. harzianum</i> y <i>T. viride</i> para el control de la tristeza del aguacatero <i>P. cinnamomi</i> en el cultivo del aguacate. ....	32

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1.** Características macroscópicas del aislamiento usado en este ensayo de *Phytophthora cinnamomi*. (A) Se puede observar el crecimiento en forma de roseta y tipo petaloide de la colonia de *P. cinnamomi* en medio del cultivo ADS. (B y C) En estas imágenes obtenidas con microscopio compuesto y objetivo 40X se puede observar el micelio cenocítico de tipo coraloide de *P. cinnamomi*. ..... 11
- Figura 2.** Ciclo biológico de *Phytophthora cinnamomi*. Tomado de Hardham, (2005). *P. cinnamomi* produce clamidosporas en las raíces infectadas. Las clamidosporas germinan, producen esporangios que liberan zoosporas y éstas llegan a las raíces. Las zoosporas se enquistan, germinan y penetran la raíz y forman hifas. .... 12
- Figura 3.** Características macroscópicas y microscópicas de los aislamientos usados en este ensayo de *Trichoderma harzianum* y *T. viride*. (A) En medio de cultivo PDA las colonias de *T. harzianum* se observan con aspecto aterciopelado de color verde grisáceo que al madurar se vuelve verde oscuro. (B) En microscopio óptico compuesto con objetivo 40X, se observa el micelio septado hialino y delgado, los conidios ovoides, lisos y hialinos que con la edad se tornan verdes, característicos de *T. harzianum*. (C) En medio de cultivo PDA las colonias de *T. viride* se observan se color azul verdoso. (D) En microscopio óptico compuesto con objetivo 40X, se observan los conidióforos que se ramifican el forma piramidal, los conidios son esféricos, hialinos, verdes y tienden a estar en masa. .... 16
- Figura 4.** Porcentaje de severidad de la parte aérea en nueve evaluaciones de la efectividad biológica de *T. harzianum* y *T. viride* para el control de la tristeza del aguacatero producida por *P. cinnamomi*. Las evaluaciones se realizaron cada 15 días. .... 30

**Figura 5.** Porcentaje de la efectividad biológica respecto a la severidad en la parte aérea de *T. harzianum* y *T. viride* para el control de la tristeza del aguacatero *P. cinnamomi*. Las evaluaciones se realizaron cada 15 días. .... 32

## DEDICATORIAS

A todos quienes me brindaron la oportunidad de ser, de aprender, de crecer...

En sueños... En realidad...

E hicieron más cordial y ameno mi paso por los caminos del continuo vivir...

FAMILIA y AMIGOS...!

Presentes o Ausentes...!

Que importantes fueron...!

son...!

y serán...!

Hasta el último de mis suspiros...



## **AGRADECIMIENTOS**

Presento mi mayor agradecimiento al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT), por la oportunidad que brinda otorgando el apoyo económico a muchos de nosotros y así podamos llevar a cabo nuestros estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma Chapingo, que a través del Departamento de Parasitología Agrícola me abrió las puertas al desarrollo y conocimiento. En especial a todos quienes integran y conforman la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal.

A mi Comité Asesor:           Dr. Samuel Ramírez Alarcón

  Dr. Héctor Lozoya Saldaña

  Dr. Mateo Vargas Hernández

A la Dra. María Guadalupe Carrillo Benítez, que con paciencia y guía, me mostró la Ciencia del maravilloso mundo de la Micología Agrícola.

A mis compañeros de la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, en especial a los integrantes de las generaciones 57 y 58.

## DATOS BIOGRÁFICOS



### Datos Personales

Nombre	Imelda Jarquín Nieto
Fecha de nacimiento	24 de Febrero de 1966
Lugar de nacimiento	México, D.F.
CURP	JANI660224MDFRTM07
Profesión	Médica Veterinaria Zootecnista
Cédula Profesional	No: 2067380

### Desarrollo académico

Bachillerato	Universidad del Valle de México
Licenciatura	Universidad Nacional Autónoma de México FES Cuautitlán
2016	Ingreso a la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal en la Universidad Autónoma Chapingo

## CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

La fruticultura es una fuente importante de captación de divisas para el país, con lo que apoya fuertemente a la economía nacional por su participación en el producto nacional bruto, donde el valor y la composición de las exportaciones e importaciones tienen un papel de primera magnitud, siendo el cultivo del aguacate uno de los productos que reportan altos rendimientos económicos (Almager, 1997). El aguacate se utiliza principalmente en la alimentación, como complemento de todo tipo de comidas debido a su alto contenido de proteínas, vitaminas y minerales. De su rica materia grasa pueden extraerse aceites que una vez procesados son utilizados en la Industria Cosmética y Farmacéutica (SAGARPA, 2017; SE, 2012).

México es líder mundial en el mercado del aguacate, participó en 2009 con 27% de la superficie sembrada total, es el principal exportador con el 45.95% y el de mayor consumo per-cápita, con 10 Kg al año. En el ranking mundial, los principales 20 países productores de aguacate, produjeron 3.5 millones de toneladas (t). México destaca como el principal productor con 1.2 t cantidad que representa el 35% de la producción de este grupo. En el 2010 la producción total de aguacate en la República Mexicana reportó un poco más de 1 millón 77 mil t. La mayor producción se focaliza en el Estado de Michoacán, lugar donde se concentran 920 mil t de la fruta. Michoacán es el Estado que reporta 85% del total de la producción, siendo el líder productor, ofertando en promedio 76 mil t mensuales que se destinan al mercado internacional y al mercado doméstico. Jalisco produce 29 mil t, las cuales representan el 3% de la producción nacional. Morelos, Nayarit, México, Guerrero y Yucatán en conjunto producen 97 mil t, las cuales representan el 8% de la producción total (SAGARPA, 2011).

Los problemas fitosanitarios que se pueden presentar en este cultivo, tienen efectos negativos en la comercialización del aguacate ya que las plagas y las enfermedades causan daños importantes a las plantas y merman la producción de este frutal. Este cultivo es atacado por el Oomycete *Phytophthora*

*cinnamomi*, que causa la pudrición de las raíces y posteriormente la muerte de los árboles. La pudrición radicular producida por *P. cinnamomi* es la enfermedad más importante del aguacate en los países productores de todo el mundo (Pérez, *et al.*, 2014; Vidales-Fernández, 1999).

Debido a la escasez de productos amigables con el medio ambiente y con la salud humana, y dada la importancia de la Tristeza del Aguacatero, es necesario buscar alternativas biológicas para un manejo integral de *Phytophthora cinnamomi*, por lo que se realizó el presente estudio.

## **1.1. Objetivos**

### **1.1.1. Objetivo General.**

Evaluar el control de *Phytophthora cinnamomi* con *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* en condiciones de invernadero.

### **1.1.2. Objetivos Específicos.**

- Evaluar y determinar la eficacia de *Trichoderma viride* sobre *Phytophthora cinnamomi* en plantas de aguacate en invernadero.
- Evaluar y determinar la eficacia de *Trichoderma harzianum* sobre *Phytophthora cinnamomi* en plantas de aguacate en invernadero.

## **1.2. Hipótesis**

Se plantea la siguiente hipótesis:

Al menos un aislamiento de *Trichoderma* spp. será efectivo sobre *Phytophthora cinnamomi* para el control de la tristeza del aguacatero.

## CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Generalidades del Aguacate

El aguacate es un árbol originario de Mesoamérica, su origen tuvo lugar en la parte centro de México y en algunas partes altas de Guatemala, donde ya se cultivaba con anterioridad a la llegada de los españoles. El nombre del aguacate proviene del náhuatl (Ahuacatl), palabra que significa “testículos del árbol”. Su nombre científico es *Persea Americana* Mill, y proviene de la Familia lauráceae. Regularmente, el árbol de aguacate puede alcanzar una altura de hasta 20 metros, sin embargo, cuando se cultiva no se deja crecer más de 5 metros, para facilitar las prácticas de control fitosanitario, cosecha, poda y fertilización foliar. Es de tronco grueso y con hojas alargadas que terminan en punta en la parte alta del tronco. Tiene varias ramificaciones, que generan un follaje denso (SAGARPA, 2011).

La clasificación taxonómica del aguacate se presenta a continuación (Téliz y Mora, 2007).

**Reino:** Plantae

**División:** Magnoliophyta

**Clase:** Magnoliopsida

**Orden:** Laurales

**Familia:** Lauaceae

**Género:** *Persea*

**Especie:** *Persea americana* Miller

Esta fruta tiene más de 400 variedades, sin embargo, la variedad Hass es la más consumida en el ámbito mundial y es la que más se produce en nuestro país y también en todo el mundo, siendo el Estado de Michoacán la entidad que contribuye con el 86% de la producción Nacional (CESAVEM, 2009).

El problema más limitante en la comercialización de los frutales es la presencia de plagas, algunas de interés cuarentenario que impiden la movilización de

varias de estas especies frutales. Particularmente el aguacate es atacado por el barrenador pequeño del hueso *Conotrachelus perseae*, y *C. aguacatae* y por el barrenador de ramas *Copturus aguacatae*. Precisamente por la presencia de este tipo de plagas es que el cultivo del aguacate está regulado y su movilización está sujeta a un estricto control, con base a la norma oficial mexicana NOM-066FITO-1995 que establece la campaña de manejo fitosanitario del aguacatero. Otras limitantes de tipo fitosanitario para el caso del aguacate son la presencia y daño en todas las huertas por trips, araña café y agalla de la hoja. Además las enfermedades conocidas como roña (*Sphaceloma perseae*) y antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) que en suma afectan al 50% de la fruta de aguacate producida; además de problemas como tristeza del aguacatero ocasionada por el hongo *Phytophthora cinnamomi* Rands (1922) (CESAVEG, 2012; Téliz y Mora, 2007).

Las regiones de climas templado subhúmedo [C(w2)(w)] y semicálido subhúmedo [(A)C(w2)(w)] que se encuentren a una altitud entre 1,300 y 2,400 metros sobre el nivel del mar, se consideran importantes para lograr un cultivo altamente rentable. El cultivo de aguacate puede establecerse en temporal o riego. El establecimiento de temporal se puede realizar únicamente en suelos con alta humedad residual. La opción de riego es para los demás tipos de suelos aún con poca humedad residual. En los casos donde se tenga más de una floración deberán implementar riegos en la época de mayor demanda de agua (abril-mayo) (SAGARPA, 2015).

### **2.1.1 Principales Enfermedades del Aguacate**

Entre los hongos de mayor importancia que afectan al cultivo de aguacate se encuentran: *Verticillium* spp. agente causante de marchitez, *Sphaceloma perseae* ocasiona roña, *Glomerella cingulata* produce antracnosis, *Phytophthora cinnamomi* causante de la pudrición de raíces. Otros hongos cómo *Lasiodiplodia theobromae* causa pudrición de pedúnculo y *Erwinia* spp. causa

muerte descendente de las ramas (Pérez, *et al.*, 2014). Mientras que las enfermedades causadas por *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp. y *Verticillium albo-atrum* afectan mayormente el sistema radical y son de gran importancia en la etapa de vivero del cultivo de aguacate, ya que es ahí donde las plantas son más susceptibles a su infección (CESAVEJAL, 2000). *Rhizoctonia* spp. genera pudrición de raíz y de tallo, reflejado en su síntoma más común, el ahogamiento del cuello de la planta (Agrios, 2007). Por su lado, *Pythium* spp. ocasiona la pudrición blanda de las raíces lo que genera la muerte de la plántula (Fry & Niklaus, 2010). *Verticillium albo-atrum* produce que las hojas se sequen y permanezcan adheridas a las plántulas por largo tiempo, síntoma que puede presentarse en la planta completa o por partes (Zentmyer, 1948).

### **2.1.2. Tristeza del Aguacate**

*P. cinnamomi* fue descrita por primera vez en 1922 por Rands, como el agente causal del cancro del tallo de los árboles de canelo en Sumatra y fue descubierta por primera vez en aguacate en Puerto Rico en 1929, donde causó una severa pudrición de las raíces. Desde entonces se ha informado sobre su aparición en más de 70 países, con un amplio rango de hospederos de más de mil especies. Entre los hospederos de importancia económica se incluyen el aguacate, la piña, el nogal, la macadamia, el kiwi, el pavel, el eucalipto, el ciprés, la azalea, la camelia, el rododendro y muchas plantas nativas de Australia y Sudáfrica. Este patógeno ha tenido un efecto devastador en los bosques de Jarrah en Australia Occidental, en donde destruyó los eucaliptos y la mayoría de las plantas del sotobosque. En Australia es un patógeno que ataca a más de 400 especies en 48 familias. Pese a que ha existido mucha especulación respecto al centro de origen de este patógeno, existe cierta evidencia que sugiere que *P. cinnamomi* podría haberse originado en Papua Nueva Guinea y se habría trasladado debido a las actividades humanas hacia otras regiones tropicales y subtropicales del mundo. En las zonas que se

caracterizan por la producción de aguacate en México, la tristeza del aguacatero puede causar pérdidas hasta del 90% (Ramírez, *et al.*, 2014; Téliz y Mora, 2007).

La pudrición de la raíz también conocida como tristeza del aguacatero es la enfermedad más importante del aguacate, es causada principalmente por el Oomycete *P. cinnamomi*. El fitopatógeno ataca la base del tallo y lo coloniza totalmente, evita la absorción de agua y su transporte al follaje, produce marchitez, secamiento y muerte repentina del árbol (SAGARPA, 2011). Del decaimiento general de la parte aérea de la planta se le denomina tristeza. En México "La Tristeza del Aguacatero" se detectó inicialmente en el Estado de Michoacán, en la región de Peribán y Los Reyes, distribuyéndose a otros Estados por traslado de plantas para el establecimiento de nuevos huertos. En Michoacán, está presente en todos los cultivares, afectando al 5% de la superficie total de los cultivos. Como primer síntoma de la enfermedad, el follaje de los árboles afectados comienza a decaer y se decolora a amarillo. Las hojas comienzan a caer hasta que solo quedan las ramas. La variedad Wurtz tiene una gran tolerancia a este hongo, crece en las zonas afectadas sin ningún síntoma, y es poco común perder este tipo de árbol por la enfermedad. Algunos árboles híbridos ("criollos") también son resistentes (Dorantes, *et al.*, 2004).

Las hojas muestran una tendencia a arrugarse, se observan pálidas y flácidas que pueden desprenderse y los brotes no crecen normalmente. Conforme avanza la infección, las ramas mueren de la punta a la base; muchas de las hojas se desprenden y las raíces recién formadas son pequeñas y amarillentas, los frutos no alcanzan su tamaño normal y la raíz se pudre, secándose finalmente toda la planta. La pérdida gradual de vigor y de productividad de los árboles a partir de la infección, abarca varios años, aunque en ocasiones los árboles mueren en poco tiempo. Las raíces afectadas se ennegrecen, volviéndose quebradizas al morir principalmente las secundarias. Las raíces más gruesas se afectan progresivamente a medida que la enfermedad avanza.



Los árboles más afectados producen mucha fruta pero pequeña, antes de morir las hojas caen (CESAVEG, 2012).

Las medidas de control efectivas para mitigar la enfermedad del aguacate causada por *P. cinnamomi* son limitadas y generalmente se requiere de estrategias integradas para manejar la enfermedad como son control cultural, control químico y biológico y uso de portainjertos resistentes al patógeno. El control cultural se ejecuta como una acción rutinaria y preventiva, mientras el control biológico y químico son alternativas opcionales a escoger (Rodríguez-Henao, *et al.*, 2017). El manejo integrado de la pudrición radicular en aguacate tiene como objetivos: mejorar el vigor a las plantas; restituir un equilibrio entre los volúmenes de follaje y raíces, incrementar la flora benéfica al cultivo y dañino a *P. cinnamomi*, mejorar la nutrición y el riego, reducir la acción de las plagas y enfermedades; y evitar el mal uso de prácticas culturales que debiliten los árboles. El manejo integrado de la enfermedad, incluye los componentes de sanidad e higiene, control biológico y cultural, patrones tolerantes y el uso de fungicidas (Jorge y Medina, 2000; Téliz y Mora, 2007).

Como control cultural se recomienda: Evitar plantaciones en suelos arcillosos que con pH de 6.5 y mal drenaje que favorecen el desarrollo de *Phytophthora cinnamomi*, así como evitar el riego excesivo y mejorar el drenaje del suelo nivelando el terreno; Mejorar la aireación del suelo; Utilizar plántulas provenientes de invernaderos libres de la enfermedad para el establecimiento de nuevos huertos y usar semillas desinfectadas; y Eliminar los árboles muertos incluyendo las raíces de los mismos y realizar su disposición adecuada evitando que sirvan como fuentes de infección (Hardham, 2005; Ramírez, *et al.*, 2013 y 2014).

Una de las herramientas del manejo integrado de plagas es el control biológico, que ha adquirido relevancia por la preocupación de la preservación del ambiente y la inocuidad alimentaria (López-Ferrer, *et al.*, 2017). Para el control biológico la recomendación es el uso de hongos antagonistas como *T. harzianum* y *T. viride* en solución para ser aplicados en “drench”, se usan para

tratar semillas, propagación de plantas, en charolas y almácigos, además en aplicaciones foliares. En la práctica se debe tener en cuenta un ambiente favorable para su desarrollo y establecimiento, como son temperatura, humedad, presencia de oxígeno y pH, por lo que es importante el horario de aplicación; así como las condiciones de suelo (textura, contenido de materia orgánica y nutrientes) (Costa, *et al.*, 2000; Téliz y Mora, 2007).

El uso de sustancias químicas como metalaxyl y mefanoxam (Ridomil y Ridomil Gold respectivamente), fosetil aluminio (Aliette) y otros productos fosforados que reducen la enfermedad por cortos períodos de tiempo (meses), pero no eliminan *P. cinnamomi*. El uso de productos químicos sistémicos como el Fosetyl-Al 80%, es de alto costo. Sin embargo, el uso de productos químicos frecuente, prolongado y de forma repetitiva puede producir resistencia en las poblaciones de patógenos. (Rodríguez-Henao, *et al.*, 2017).

Se recomienda el uso de inductores de autodefensas, formulados a base de Fosfonato Potásico (30% de Fósforo y 20% de Potasio), que además de ser fungicida para el control de *P. cinnamomi*, es un fertilizante de buena calidad por lo que se logra un doble efecto en el cultivo. Una aplicación general por vía foliar en dosis de 2.5 litros por hectárea (5 cc por litro de agua), dos meses después hacer una aplicación dirigida a aquellos árboles que todavía presenten síntomas y luego realizar aplicaciones preventivas cada 3-4 meses, hasta mantener la enfermedad bajo control y que prácticamente no afecte la rentabilidad de la plantación (Téliz y Mora, 2007).

Los árboles injertados en patrones resistentes muestran un buen rendimiento y productividad incluso en suelos con presencia del patógeno como son las variedades Duke 6, Duke 7, G6, D9, Toro Canyon, Thomas y Martin Grande (G755) (Rodríguez-Henao, *et al.*, 2017).

## **2.2. *Phytophthora cinnamomi***

Este patógeno ha sido incluido en la lista de los 10 Oomycetes más destructivos (Kamoun, *et al.*, 2015) y como una de las 100 especies invasoras más grandes a nivel mundial por el Grupo de Especialistas en Especies Invasoras (Invasive Species Specialist Group ISSG: <http://www.issg.org>). *Phytophthora cinnamomi* Rands 1922 (Oomycetes, Pythiales) es la nomenclatura actualmente aceptada de este organismo (Farr, & Rossman, 2018).

La clasificación taxonómica de *P. cinnamomi* se presenta a continuación (Agrios, 2007; Kirk, 2018; Mycobank, 2018a):

**Reino:** Cromista

**Filo:** Oomycota

**Clase:** Oomycetes

**Orden:** Peronosporales

**Familia:** *Peronosporaceae*

**Género:** *Phytophthora*

**Especie:** *P. cinnamomi* Rands

Las especies de *Phytophthora* se clasifican en el Reino Cromista y el filo Oomycota y en realidad están más estrechamente relacionadas con las algas marrones doradas que los verdaderos hongos. Alexopoulos, *et al.*, (1996) prefieren incluirlos en el reino *Stramenopila* (el cual, estrictamente hablando, sería un grupo dentro de *Chromista*). Las especies de *Phytophthora* tienen un ciclo de vida diploide y contienen celulosa en sus paredes celulares a diferencia de los verdaderos hongos. Estos moldes de agua son capaces de formar zoosporas flageladas que se dispersan fácilmente por el agua con una marcada habilidad para enquistar en pocos minutos. Las especies de *Phytophthora* son microorganismos móviles y los procesos de dispersión juegan un papel importante en los patrones espaciales que se observan dentro de los campos y a nivel mundial (Frisullo, *et al.*, 2018; Piepenbring, 2015; Ristaino & Gumpertz, 2000).

*P. cinnamomi* en medio de cultivo presenta colonias macroscópicas de crecimiento en forma de roseta y tipo petaloide Figura 1. La temperatura óptima de desarrollo es de 24 a 28 °C. Presenta estructuras microscópicas vegetativas y reproductivas (hifas de tipo coraloide y clamidosporas globosas). El micelio es cenocítico con hifas moderadamente ramificadas, con hinchamientos vesicales y la pared no está demasiado espesa. Los esporangios, que solo se forman en soluciones acuosas, son ovals y grandes sin papila y esporangióforos delgados. *P. cinnamomi* forma abundantes clamidosporas esféricas, terminales e intercalares en cultivos y tejido infectados. Los órganos sexuales rara vez se producen en medios de agar. El oogonio tiene una pared lisa, volviéndose amarilla o dorada con la edad. El antheridio es anfiginoso y largo. La oospora casi llena el oogonio y su pared es incolora. (Agrios, 2007; Frisullo, *et al.*, 2018; Hardham, 2005; Mycobank, 2018a).

*P. cinnamomi* puede crecer saprófitamente en el suelo por largos períodos, aprovechando rápidamente el advenimiento de condiciones favorables para esporular y producir un gran número de zoosporas asexuadas y biofiltradas. Las zoosporas móviles son atraídas por sitios de infección adecuados, donde se adhieren e invaden la planta. En unos pocos días, las hifas se ramifican a través de los tejidos de las plantas susceptibles, formando esporangios en la superficie de la planta y amplificando rápidamente el inóculo de la enfermedad. El ciclo biológico se presenta en la Figura 2 y se puede resumir de la siguiente manera: *Phytophthora cinnamomi* produce clamidosporas en las raíces infectadas, las cuales pasan al suelo donde pueden sobrevivir por varios años. Las clamidosporas germinan, producen esporangios que liberan zoosporas y éstas alcanzan las raíces absorbentes atraídas por los exudados radicales. Sobre estas raíces las zoosporas se enquistan, germinan y penetran la raíz, colonizando el tejido vegetal y causando necrosis o pudrición de la raíz. (Hardham, 2005).

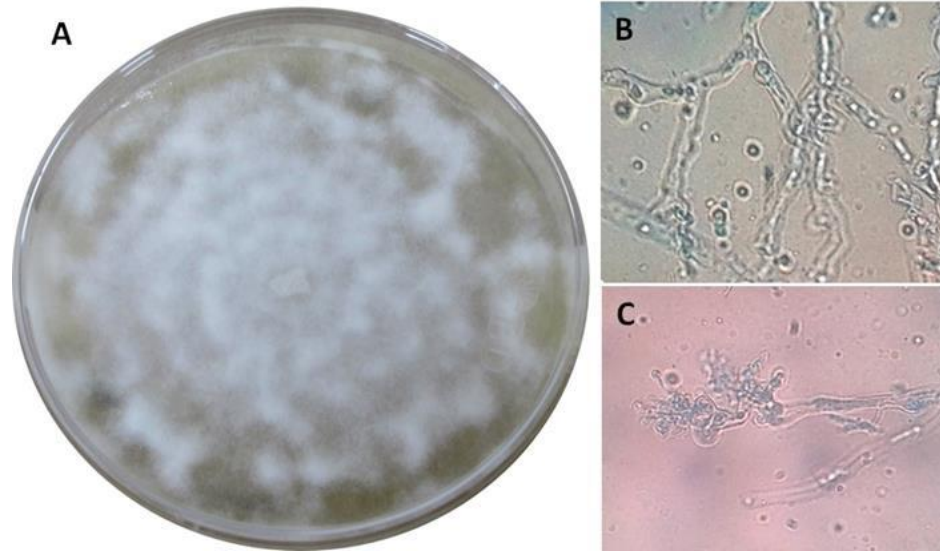


Figura 1. Características macroscópicas del aislamiento usado en este ensayo de *Phytophthora cinnamomi*. (A) Se puede observar el crecimiento en forma de roseta y tipo petaloide de la colonia de *P. cinnamomi* en medio del cultivo ADS. (B y C) En estas imágenes obtenidas con microscopio compuesto y objetivo 40X se puede observar el micelio cenocítico de tipo coraloide de *P. cinnamomi*.

La temperatura óptima para la infección por *P. cinnamomi* varía de 21 a 30 °C y hay poca o ninguna infección a 33 °C o entre 9 y 12 C. La producción de clamidosporas y esporangios ocurre a temperaturas óptimas entre 21 °C y 24 °C. La humedad es un factor ambiental primario que afecta la ocurrencia de la pudrición de la raíz causada por *P. cinnamomi* y determina su desarrollo o proceso de crecimiento, esporulación e infección. Los altos niveles de humedad en el suelo aumentan la infección debido a una mayor formación de esporangios y las condiciones apropiadas para la liberación de zoosporas, la movilidad y el movimiento en el sitio de la infección (Andrade-Hoyos, *et al.*, 2015; Rodríguez-Henao, *et al.*, 2017).

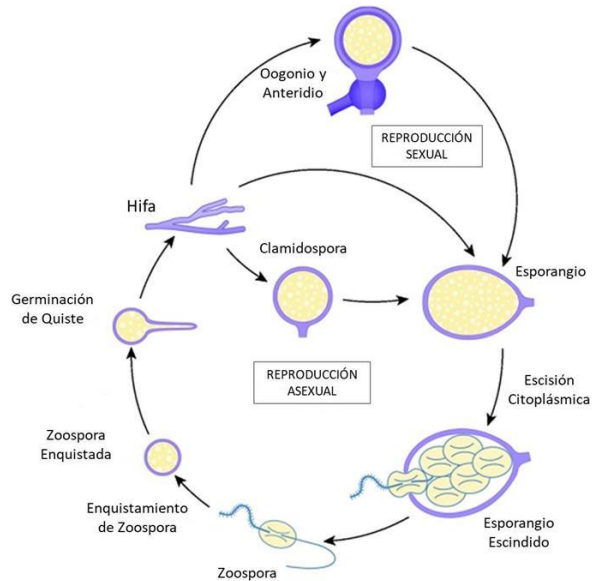


Figura 2. Ciclo biológico de *Phytophthora cinnamomi*. Tomado de Hardham, (2005). *P. cinnamomi* produce clamidosporas en las raíces infectadas. Las clamidosporas germinan, producen esporangios que liberan zoosporas y éstas llegan a las raíces. Las zoosporas se enquistan, germinan y penetran la raíz y forman hifas.

### 2.3. *Trichoderma* spp.

*Trichoderma* (Hypocrea, Ascomycota, Hypocreales, Hypocreaceae) es un hongo anaeróbico, saprófito que ha sido aislado comúnmente del suelo en diferentes países del mundo, también se ha encontrado sobre la superficie de las raíces de las plantas, sobre cortezas en descomposición, en el interior de troncos, y sobre otros hongos. Algunas especies de *Trichoderma* son ampliamente utilizadas como agentes de control biológico (por ejemplo *T. harzianum*, *T. virens*, *T. viride*, *T. asperellum*, *T. koningii*) en la agricultura contra varios hongos fitopatógenos y nematodos, otras para la producción de enzimas (celulasas, glucanasas, pectinasas, quitinasas, proteasas) y antibióticos (peptaiboles, gliotoxina, 6-pentil- $\alpha$ -pirona, atroviridinas) activos contra hongos, bacterias y células cancerígenas humanas, en la biorremediación de ambientes contaminados, y como fuente de genes para la

obtención de plantas transgénicas. Sin embargo, se han identificado especies (*T. aggressivum*, *T. pleuroticola*, *T. pleurotum*) que atacan plantaciones comerciales de champiñones (*Agaricus bisporus*) en Norteamérica y Europa, y algunas que tienen la habilidad de crecer a 40°C, tal es el caso de *T. longibrachiatum*, la cual es considerada como un patógeno oportunista de pacientes inmunocomprometidos e inmunosuprimidos. Actualmente la Subcomisión Internacional de Trichoderma/Hypocrea reconoce 104 especies, las cuales han sido caracterizadas a nivel molecular. Investigadores de diferentes países continúan explorando nuevos nichos ecológicos para encontrar nuevas especies (Howell, 2003; Samuels, 1999).

Diversas especies de *Trichoderma* spp. son utilizadas en la agricultura para el manejo de fitopatógenos, ya que limitan el desarrollo de hongos dañinos como *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum*, *Verticillium dahliae* (González-Cárdenas, et al., 2005). Los mecanismos empleados por *Trichoderma* spp son la competencia, la antibiosis o el hiperparasitismo; en este último caso, se adhiere a las hifas de los fitopatógenos por medio de estructuras especializadas llamadas apresorios y libera enzimas (glucanasas, quitobiosas y quitinasas) y antibióticos (viridina, gliotoxina, gliovirina y peptaiboles) (Howell, et al., 1993).

Los preparados a base de organismos benéficos para el control de enfermedades fungosas han tenido un gran auge en los últimos años. Tal es el caso de *Trichoderma* spp para el control de *Pythium*, *Fusarium* y *Phytophthora* entre otros hongos fitopatógenos. Los productos formulados con *Trichoderma* spp. se consideran preventivos. (De Liñan, 2010; Ezziyyani, et al., 2004; Fernández-Larrea, 2001).

La alta capacidad reproductiva por su gran producción micelial y de conidios, la eficiencia en utilización de nutrientes, la capacidad de modificar la rizósfera, la acción antagónica contra fitopatógenos, la eficiencia en promoción del crecimiento e inducción de mecanismos de defensa de las plantas, hacen del género *Trichoderma*, excelentes agentes de control biológico. Además de ser un método fácil, rápido y económico (Tello, et al., 2016; Samuels, 1996). *T.*

*harzianum* y *T. virens* son las especies más comúnmente citadas en control biológico. Se recomienda el uso de cepas de *Trichoderma* en combinación con niveles más bajos de fumigante para el control de la pudrición de la raíz en árboles individuales de alta valor (Samuels, 1996).

Los principales mecanismos de acción de *Trichoderma* spp. que inhiben el desarrollo y crecimiento de microorganismos fitopatógenos son: competencia directa por espacio y nutrientes; producción de metabolitos como enzimas líticas y de tipo antibiótico (antibiosis), inactivación de enzimas patógenas, modificación de condiciones ambientales y producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal. El micoparasitismo es otro mecanismo de acción que ocurre en cuatro etapas: crecimiento quimiotrófico, reconocimiento, adhesión y producción de enzimas extracelulares quitinasas, glucanasas y proteasas que degradan las paredes del patógeno y posibilitan la penetración de las hifas del *Trichoderma* (López-Ferrer, *et al.*, 2017; Tello y Camacho, 2010).

### **2.3.1. *Trichoderma harzianum***

*Trichoderma harzianum* Rifai 1969 (Ascomycetes, Hypocreales) es la nomenclatura actualmente aceptada de este organismo (Farr & Rossman, 2018). La clasificación taxonómica de *Trichoderma harzianum* se presenta a continuación (Jaklitsch, *et al.*, 2006; Mycobank, 2018b):

**Reino:** Mycetae (Fungi)

**División:** Eumycota

**Filo:** Ascomycota

**Clase:** Euascomycetes

**Orden:** Hypocreales

**Familia:** *Hypocreaceae*

**Género:** *Trichoderma*

**Especie:** *T. harzianum* Rifai.



*T. harzianum*, solo o en combinación con otras especies de *Trichoderma* o adyuvantes químicos, ha sido utilizado en el control de varias enfermedades. Además, en aplicaciones individuales, es efectivo para restaurar a medios tratados térmicamente modificados con composta de corteza de madera dura. Suelos con *T. harzianum* pueden ser supresores de enfermedades (Samuels, 1996).

En PDA después de 96 h a 25 °C con fotoperíodo de 12 h el micelio aéreo es algodonoso a aterciopelado color blanco, que crece rápidamente en forma radiante. Los conidios que se forman abundantemente dentro de las 48 h en un disco central denso, casi costroso y en anchos anillos concéntricos que al madurar produce masas de conidios que torna a la colonia verde Figura 3. Los conidios son verde grisáceos cuando son jóvenes, volviéndose verde oscuro; y a veces presentan un de color amarillo pálido que se difunde después de 48 h a 35 °C. A veces presenta un olor dulce a 30 °C. La temperatura óptima de crecimiento es de 25 a 30 °C. (Cepero, *et al.*, 2012; Mycobank, 2018b).

*T. harzianum* presenta micelio septado, hialino y delgado. Produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios, las cuales son activas contra fitopatógenos en diferentes fases de ciclo de vida, desde la germinación de la espора hasta la esporulación. Los conidios son subglobosos a ovoides, con un promedio de 3.2 x 2.8  $\mu$ , son lisos, hialinos cuando los jóvenes se vuelven verdes a verde oscuro con la edad. (López\_Ferrer, *et al.*, 2017; Mycobank, 2018b).

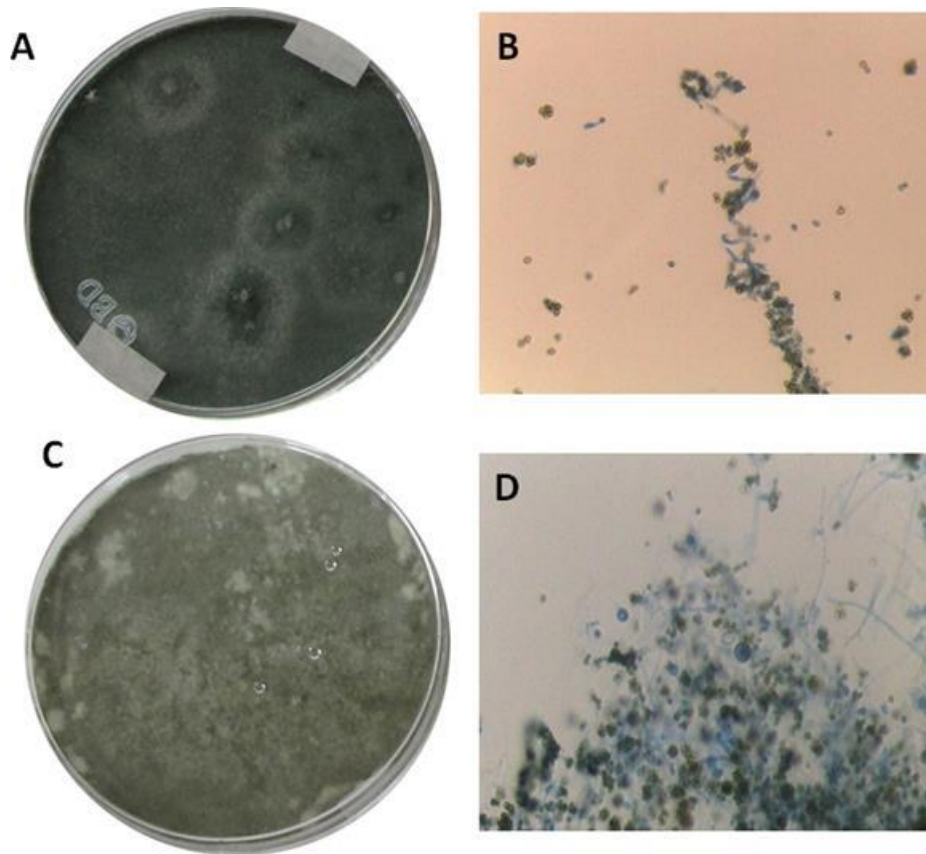


Figura 3. Características macroscópicas y microscópicas de los aislamientos usados en este ensayo de *Trichoderma harzianum* y *T. viride*. (A) En medio de cultivo PDA las colonias de *T. harzianum* se observan con aspecto aterciopelado de color verde grisáceo que al madurar se vuelve verde oscuro. (B) En microscopio óptico compuesto con objetivo 40X, se observa el micelio septado hialino y delgado, los conidios ovoides, lisos y hialinos que con la edad se tornan verdes, característicos de *T. harzianum*. (C) En medio de cultivo PDA las colonias de *T. viride* se observan se color azul verdoso. (D) En microscopio óptico compuesto con objetivo 40X, se observan los conidióforos que se ramifican el forma piramidal, los conidios son esféricos, hialinos, verdes y tienden a estar en masa.

### 2.3.2. *Trichoderma viride*

*Trichoderma viride* Pers.: Fr. 1794 (Ascomycetes, Hypocreales) es la nomenclatura actualmente aceptada de este organismo (Farr, & Rossman, 2018). La clasificación Taxonómica de *Trichoderma viride* se presenta a continuación (Jaklitsch, *et al.*, 2006; Mycobank, 2018c):

**Reino:** Mycetae (Fungi)

**División:** Eumycota

**Filo:** Ascomycota

**Clase:** Euascomycetes

**Orden:** Hypocreales

**Familia:** *Hypocreaceae*

**Género:** *Trichoderma*

**Especie:** *T. viride* Pers

Las colonias de *T. viride* crecen muy rápidamente, inicialmente son más o menos hialinas, y pronto se vuelven de un verde verdoso con áreas conidiales con penachos en tonos azul verdoso, primero en el margen y luego en toda la colonia Figura 3. Temperatura de crecimiento máxima 30 °C. Microscópicamente presenta hifas hialinas. Los conidióforos se ramifican en forma piramidal, con ramas cortas cerca de la punta y ramas más largas en la parte inferior; ramificando en ángulos rectos. Las fialides se presentan en verticilos en forma de matraz, atenuados abruptamente cerca de los extremos y extendiéndose ampliamente. Los conidios son esféricos, hialinos, verdes y en masa, tienen un diámetro de 3.6 a 4.5  $\mu$  y son rugosos. Las clamidosporas generalmente se presentan en cultivos antiguos, son intercalares, a veces terminales, y en su mayoría esféricos, hialinos, de pared lisa. *T. viride* produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios, las cuales son activas contra fitopatógenos en diferentes fases de ciclo de vida, desde la germinación de la spora hasta la esporulación (López-Ferrer, *et al.*, 2017; Mycobank, 2018c).

## 2.4. Literatura Citada

- Agrios, G. N. (2007). Fitopatología. Editorial Limusa, S.A. de C.V. Segunda edición. pp. 838.
- Alexopoulos, C. J., Mims, C. W. and Blackwell, M. 1996. Introductory Mycology (4th Ed.). John Wiley and Sons, New York, USA. 868p.
- Andrade-Hoyos, P., Molina, G.E., De León, C., Espíndola, B.M., Alvarado, R.D. y López, J.A. (2015). Mecanismos de defensa en portainjertos de aguacate ante *Phytophthora cinnamomi* Rands. Rev. Mex. Cienc.Agríc. Vol.6 Núm.2 p.347-360
- Almager, V. G. (1997). Fruticultura General. Serie Textos Agronómicos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México.
- Cepero, G.M., Restrepo, R.S., Franco-Molano, A., Cárdenas, T.M. y Vargas, E.N. (2012). Biología de Hongos. Ed. Uniandes. Colombia. pp. 485.
- CESAVEJAL. (2000). Campaña contra plagas reglamentadas del aguacate. Comité estatal de sanidad vegetal de Jalisco. México. Disponible en <http://www.cesavejal.org.mx/divulgacion/EnfermedadesAguacate.pdf>
- CESAVEG. (2012). Manual de Plagas y Enfermedades del Aguacatero. Campaña Contra Plagas Reglamentadas del Aguacatero. Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato, A.C. Irapuato, Guanajuato.
- CESAVEM. (2009). El aguacate Hass. Manejo Fitosanitario del Aguacate. Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Michoacán. México.
- Costa, J.L., Menge, J.A. and Casale, W.L. (2000). Biological Control of *Phytophthora* Root Rot of Avocado with microorganisms grown in Organic Mulches. Brazilian Journal of Microbiology. 31:239-246.
- De Liñan, C. (2010). Agroquímicos de México. Ediciones Agrotécnicas, S. L. Editorial Tecnoagrícola de México. México.
- Dorantes, L., Parada, L., & Ortiz, A. (2004). Capítulo XXX Avocado: Post-Harvest Operation. AGST/FAO: Danilo Mejía, PhD, FAO (Technical), Emanuela Parrucci (HTML transfer). Disponible en: <http://www.fao.org/3/a-au996e.pdf>
- Ezziyyani, M., Pérez, S.C., Sid, A.A., Requena, M.E. y Candela, M.E. (2004). *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). Anales de Biología. 26: 35-45.
- Farr, D.F., & Rossman, A.Y. (2018). Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved April 29, 2018, from <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>
- Fernández-Larrea V. O. (2001). Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no-sintéticos. Manejo Integrado de Plagas: 62. 96-100.
- Frisullo, S., Lima, G., SanLio, G.M., Camele, I., Melissano, L., Puglisi, I., Pane, A., Agosteo, G.E., Prudente, L. y Cacciola S.O. (2018). *Phytophthora cinnamomi* Involved in the Decline of Holm Oak (*Quercus ilex*) Stands in Southern Italy. For. Sci. 00(00):1–9.

- Fry, W.E. & Niklaus, J.G. 2010. Introducción a los Oomycetes. Trans. Alberto J. Valencia-Botín. (2012). *The Plant Health Instructor*. Disponible en: <http://www.apsnet.org/edcenter/intropp/PathogenGroups/Pages/IntroOomycetesEspanol.aspx>
- González-Cádenas, S.C., Maruri-García, J. y González-Acosta, A. (2005). Evaluación de diferentes concentraciones de *Trichoderma* spp. contra *Fusarium oxysporum* agente causal de la pudrición de plántulas de papaya (*Carica papaya* L.) en Tuxpan, Veracruz, México. *Revista UDO Agrícola* 5 (1): 45-47.
- Hardham, A.R. (2005). Pathogen profile *Phytophthora cinnamomi*. *Molecular Plant Pathology*. 6(6):589-604.
- Howell, C., Stipanovic, R. and Lumsden, R. (1993). Antibiotic production by strains of *Gliocladium virens* and its relation to biocontrol of cotton seedling diseases. *Biocontrol Sci. Technol.* 3: 435-441.
- Howell, C.R., (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87(1):4-10.
- Jaklitsch, W. M., Samuels, G. J., Dodd, S. L., Lu, B.-S., & Druzhinina, I. S. (2006). *Hypocrea rufa*/*Trichoderma viride*: a reassessment, and description of five closely related species with and without warted conidia. *Studies in Mycology*, 56, 135–177. <http://doi.org/10.3114/sim.2006.56.04>
- Jorge, P.E. y Medina, P.C. (2000). Pudrición Radicular o Muerte Descendente (*Phytophthora cinnamomi* Rands) en plantaciones de aguacate (*Persea americana* Mill). Hoja informativa 4. CEDAF. República Dominicana.
- Kamoun S., Furzer O., Jones J. D. G., Judelson H. S., Ali G. S., Dalio R. J. D., et al. (2015). The Top 10 oomycete pathogens in molecular plant pathology. *Mol. Plant Pathol.* 16 413–434.
- Kirk P.M. (2018). Species Fungorum (version Oct 2017). In: Roskov Y., Abucay L., Orrell T., Nicolson D., Bailly N., Kirk P.M., Bourgoin T., DeWalt R.E., Decock W., De Wever A., Nieukerken E. van, Zarucchi J., Penev L., eds. Species 2000 & ITIS Catalogue of Life, 28th March 2018. Digital resource at [www.catalogueoflife.org/col](http://www.catalogueoflife.org/col). Species 2000: Naturalis, Leiden, the Netherlands. ISSN 2405-8858.
- Lavaire, E. (2013). Manual técnico del cultivo de aguacate en Honduras (*Persea americana* Mill). Programa Nacional de Desarrollo Agroalimentario de la Secretaría de Agricultura y Ganadería (SAG). Honduras. pp. 58.
- López-Ferrer, U., Brito-Vega, H., López-Morales, V. Salaya-Dominguez, J. y ómez-Méndez, E. (2017). Papel de *Trichoderma* en los sistemas agroforestales Cacaotal como un agente antagónico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20 : 91 – 100.
- Mycobank: Catalogue of Life. (2018a). ITIS SpECIES 2000. Disponible en:<http://www.catalogueoflife.org/col/search/all/key/Phytophthora%20cinnamomi>
- Mycobank: Catalogue of Life. (2018b). ITIS SpECIES 2000. Disponible en:<http://www.catalogueoflife.org/col/search/all/key/Trichoderma%20harzi anum>

- Mycobank: Catalogue of Life. (2018c). ITIS SpECIES 2000. Disponible en: <http://www.catalogueoflife.org/col/search/all/key/Trichoderma%20virie>
- Pérez, A., Hernández, J., y Fuentes, J. (2014). Uso de bacterias endófitas como control biológico sobre *Phytophthora cinnamomi* Rands causante de la pudrición Radicular del aguacate (*Persea Americana* Mill.). *Revista Colombiana de Ciencia Animal - RECIA*, 6(1), 213-222.
- Piepenbring, M. (2015). Introducción a la Micología en los Trópicos. APS Press. U.S.A. pp.366.
- Ramírez, G.J., Castañeda, S.D. y Morales, O.J. (2013). Dinámica microbiana del suelo asociada a diferentes estrategias de manejo de *Phytophthora cinnamomi* Rands. *Rev Ceres, Vicosá*, 60(6), 811-819.
- Ramírez, G.J., Castañeda, S.D. y Morales, O.J. (2014). Estudio etiológico de la marchitez del aguacate en Antioquia Colombia. *Rev Ceres, Vicosá*, 61(1), 50-61.
- Ristiano, J.B. & Gumpertz, M.L. (2000). New Frontiers in the Study of Dispersal and spatial Analysis of Epidemics caused by Species in the Genus *Phytophthora*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 38:541-576.
- SAGARPA. (2011). Monografía de Cultivos. Aguacate. Subsecretaría de Fomentos a los Agronegocios. México. Disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/pablo/Documentos/Monografias/Monograf%C3%ADa%20del%20aguacate.pdf>
- SAGARPA. (2015). Agenda Técnica Agrícola de Michoacán. 2ª ed. México. pp. 17-26. Disponible en: [http://extensionismo.sagarpa.gob.mx/web2/documentos/agenda\\_tecnica/F16\\_Michoacan.pdf](http://extensionismo.sagarpa.gob.mx/web2/documentos/agenda_tecnica/F16_Michoacan.pdf)
- SAGARPA. (2017). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. Aguacate mexicano. México. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257067/Potencial-Aguacate.pdf>
- Samuels, G. J. (1996). *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. *Mycological research*, 100(8), 923-935.
- SE. (Secretaría de Economía). (2012). Monografía del Sector Aguacate en México: Situación Actual y Oportunidades de Mercado. Secretaría de Economía. Dirección General de Industrias Básicas. México.
- Téliz, O. y Mora, A. (2007). El aguacate y su manejo integrado. 2ª ed. Mundi-Prensa. México. P.321.
- Tello, M.J. y Camacho, F.F. (2010). Organismos para el control de patógenos en los cultivos protegidos. Prácticas culturales para una agricultura sostenible. Fundación Cajamar. España. pp.528.
- Vidales-Fernández, J.A. y Alcántar-Rocillo J. J. (1999). Acción de la solarización y de la materia orgánica en el control de la tristeza *Phytophthora cinnamomi* Rands del aguacate *Persea americana* L. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 5: 255-259.
- Whiley, A.W., B. Schaffer, B.N. Wolstenholme. (1997). The avocado, Botany, production and Uses, CABI Publishing.
- Zentmyer, G. (1948). *Verticillium* wilt of avocado. *California Avocado Society Yearbook* 33: 83-87.

### **CAPÍTULO III.**

ANTAGONISMO DE *Trichoderma harzianum* Y *Trichoderma viride* SOBRE  
*Phytophthora cinnamomi* EN PLANTAS DE AGUACATE VARIEDAD HASS EN  
INVERNADERO

ANTAGONISMO DE *Trichoderma harzianum* Y *Trichoderma viride* SOBRE *Phytophthora cinnamomi* EN PLANTAS DE AGUACATE VARIEDAD HASS EN INVERNADERO

ANTAGONISM OF *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* ON *Phytophthora cinnamomi* IN GREENHOUSE AVOCADO PLANTS HASS VARIETY

Jarquín-Nieto Imelda<sup>1\*</sup>, Ramírez-Alarcón Samuel<sup>1</sup>, Lozoya-Saldaña Héctor<sup>1</sup>, Vargas-Hernández Mateo<sup>1</sup>.

**Resumen:** El cultivo del aguacate es importante en la captación de divisas, ya que México es líder mundial en su producción. La tristeza del aguacate, enfermedad producida por el Oomycete *Phytophthora cinnamomi* es la más importante del cultivo a nivel mundial. Dada la importancia de la enfermedad es necesario buscar alternativas biológicas para un manejo integral, por lo que el objetivo del presente trabajo fue evaluar el control de *P. cinnamomi* con *Trichoderma harzianum* y *T. viride* en condiciones de invernadero. Se evaluaron seis tratamientos incluyendo un testigo y 23 repeticiones en plantas de aguacate variedad Hass inoculadas con la combinación de los tres microorganismos. El inóculo se obtuvo por producción masiva en sustrato de arroz y se colocó en el suelo alrededor del borde del sistema radical de cada planta. Se evaluó la severidad de la enfermedad en la parte aérea y en el sistema radical por medio de escala visual, las raíces se midieron y se hizo recuperación del inóculo. Se realizó un análisis de varianza (ANOVA,  $\alpha = 0.05$ ) y una comparación múltiple de medias (Tukey  $\alpha = 0.05$ ) mediante el paquete estadístico SAS<sup>®</sup>, y se calculó la efectividad biológica mediante la fórmula de Abbott. Ambas especies de *Trichoderma* fueron estadísticamente efectivos para el control de *P. cinnamomi*. La efectividad biológica de *T. harzianum* fue de 76.47% y de *T. viride* de 58.82%. Los resultados obtenidos de las medidas de la raíz corresponden a los obtenidos por la evaluación visual. *T. harzianum*, *T. viride* y *P. cinnamomi* fueron recuperados de las raíces en los tratamientos inoculados.

**Palabras clave:** Antagonismo, Control biológico, Tristeza del Aguacate, Severidad.

**Abstract:** Avocado is important in generating foreign exchange earnings for Mexico as the country is a world leader in its production. The disease known as Avocado Laurel Wilt is produced by the Oomycete *Phytophthora cinnamomi* and is considered the most critical avocado disease in the world. Given the importance of the disease, it is necessary to look for an integral management approach. In this sense, the aim of this paper is to evaluate *P. cinnamomi* control by using *Trichoderma harzianum* and *T. viride* in greenhouse conditions. Six treatments including a control and 23 replications were evaluated in Hass avocado plants and inoculated in combination with the three microorganisms. The inoculum was obtained by massive production in rice substrate and was placed in the soil around the edge of the root system of each plant. *P. cinnamomi* was inoculated and three days later *T. harzianum* and *T. viride*. The disease severity was evaluated in the aerial part and in the root system by means of a visual scale, the roots were measured and the inoculum was recovered. An analysis of variance (ANOVA,  $\alpha = 0.05$ ) and Tukey's range test (Tukey  $\alpha = 0.05$ ) were performed using SAS<sup>®</sup> statistical software and the biological effectiveness was calculated using Abbott's formula. Both species of *Trichoderma* were statistically effective for the control of *P. cinnamomi*. The biological effectiveness of *T. harzianum* was 76.47% and of *T. viride* it was 58.82%. The results obtained from the measurements of the root correspond to those obtained by visual evaluation. *T. harzianum*, *T. viride*, and *P. cinnamomi* were recovered from roots in the inoculated treatments.

**Keywords:** Antagonism, Biological control, Avocado Laurel Wilt, Severity

<sup>1</sup> Universidad Autónoma Chapingo, Km. 38.5, Carretera México-Texcoco, Chapingo, México, C.P. 56230. Tel: (595) 952 1500. (\*) imys24@hotmail.com



## INTRODUCCIÓN

México es líder mundial en el mercado del aguacate, es el principal exportador con el 45.95 % y el de mayor consumo per-cápita, con 10 kg al año (SAGARPA, 2017; SE, 2012). El aguacate (*Persea americana* Mill.) es cultivado en muchos países del mundo, especialmente en el continente americano. Este cultivo es atacado por el Oomycete *Phytophthora cinnamomi*, que causa la pudrición de las raíces y posterior muerte de los árboles (Ramírez, *et al.*, 2014). La pudrición radicular causada por *P. cinnamomi* es la enfermedad más importante del aguacate en los países productores de todo el mundo.

El control químico ha demostrado ser eficiente contra *P. cinnamomi*, pero su impacto ambiental, a la salud humana y la resistencia que desarrollan los microorganismos, han generado una creciente y justificada preocupación por la contaminación (Michel-Aceves, *et al.*, 2013). El uso de hongos antagonistas como control biológico es una estrategia que podría mitigar los efectos de contaminación del ambiente ocasionados por el uso continuo de fungicidas (Samuels, 1996). Los hongos del género *Trichoderma* tienen gran potencial para controlar enfermedades en los cultivos con importancia económica. Es por ello que el objetivo de este trabajo fue evaluar la efectividad biológica de *T. harzianum* y *T. viride* sobre *P. cinnamomi* en plantas de aguacate a través de una prueba de antagonismo en condiciones de invernadero.

## MATERIALES Y MÉTODOS

El bioensayo se llevó a cabo en las instalaciones del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo ubicada en el Km 38.5 de la Carretera Federal México – Texcoco, 56230 Chapingo, Estado de México, en el invernadero número 32 y en el laboratorio de Control Biológico de la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal. El material biológico consistió de 138 plantas de aguacate Hass injertadas en patrón criollo blanco, patrones

establecidos en junio e injertado en diciembre de 2016 (en bolsas para cultivo 30 × 30 con fuelle color negro calibre 500). Originarias de Peribán, Michoacán.

Las plantas se colocaron en condiciones de invernadero en instalaciones del Departamento de Parasitología Agrícola de la UACH (Febrero 2017) y se pusieron en cuarentena. Una vez recuperadas las plantas se eliminó el patrón por arriba del injerto y se distribuyeron en el invernadero para llevar a cabo las acciones relacionadas con el manejo evitando la contaminación. Se aseguraron las condiciones requeridas de temperatura y humedad para las plantas y la expresión del patógeno. Los aislamientos usados de *T. harzianum*, *T. viride* y *P. cinnamomi* fueron del cepario del laboratorio de Control Biológico de la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

Se tomaron muestras de suelo de las plantas antes del bioensayo para realizar un análisis general de suelo y aislamiento microbiológico, principalmente de hongos, utilizando técnicas de trapeo con cebo biológico mediante el protocolo modificado de Almaraz-Sánchez *et al.* (2013) y Kaen *et al.* (2015), y cultivo de diluciones seriadas. Las colonias obtenidas se identificaron macroscópicamente por características de crecimiento y color; posteriormente se realizó una identificación microscópica de las estructuras presentes mediante una tinción simple con azul de lactofenol en microscopio óptico compuesto.

De la dilución  $10^{-2}$  de la técnica de diluciones seriadas se tomaron 100  $\mu$ L (0.1 ml) y se sembraron en cajas de Petri con 15 ml de medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) y se incubaron a 27 °C, y 70-80% de humedad relativa. Se hicieron conteos de las colonias desarrolladas a las 24, 48 y 72 h. Con ayuda de un microscopio óptico estereoscópico se contaron las colonias por cuadrante de cada caja de Petri. Se calcularon las unidades formadoras de colonia de bacterias y hongos según la siguiente fórmula:  $UFC/ml = (NC) (1/FD) (1/V)$

Para la prueba de antagonismo se utilizó la metodología modificada de Gabor *et al.* (1990), Ivors *et al.* (2008) y Michel-Aceves *et al.* (2013) para realizar el bioensayo. En condiciones de invernadero se evaluaron *T. viride* y *T. harzianum* contra *P. cinnamomi*. De los 138 individuos vegetales, 23 plantas se destinaron para cada uno de los seis tratamientos. El diseño experimental fue completamente al azar con 6 tratamientos y 23 repeticiones. La unidad experimental consistió en una planta de aguacate variedad Hass.

La severidad de la enfermedad por *P. cinnamomi* en la parte aérea fue evaluada por inspección visual de cada planta de aguacate variedad Hass de acuerdo a una escala de 0 a 5 (modificada de Ivors, *et al.*, 2008) Cuadro 1. Para la severidad en la raíz se evaluó la raíz completa de 5 plantas seleccionadas al azar por tratamiento, asignando un índice de acuerdo a la escala del Cuadro 2 (escala modificada de Ivors, *et al.* 2008).

**Cuadro 1. Escala<sup>1</sup> para la evaluación de la parte aérea de la severidad por efecto de *Phytophthora cinnamomi* en plantas de aguacate variedad Hass en condiciones de invernadero en los seis tratamientos.**

<b>Escala</b>	<b>Descripción</b>	<b>Observaciones</b>
0	Planta Sana	Color Foliar Normal
1	Enfermedad Leve	Clorosis Ligera
2	Enfermedad Moderada	Clorosis Moderada
3	Enfermedad Severa	Clorosis Severa
4	Enfermedad Muy Severa	Clorosis Severa y Necrosis
5	Planta Muerta	Clorosis Severa, Necrosis y/o Defoliación Completa

<sup>1</sup>Escala modificada de Ivors *et al.* (2008).

Los aislamientos de *T. harzianum*, *T. viride* y *P. cinnamomi*, fueron purificados e incrementados y después se realizó producción masiva en sustrato de arroz para tener inóculo suficiente para el ensayo. La producción masiva de *P. cinnamomi* se realizó por el método modificado según Benson y Parker (2015), Frampton y Benson (2012), Holmes y Benson (1994), e Ivors *et al.* (2008).

**Cuadro 2. Escala<sup>1</sup> para la evaluación del sistema radical de la severidad por efecto de *Phytophthora cinnamomi* en plantas de aguacate variedad Hass en condiciones de invernadero en los seis tratamientos.**

Escala	Descripción	Observaciones
0	Planta Sana	Raíz Normal
1	10% de raíz afectada	Necrosis Radicular hasta 10%
2	25% de raíz afectada	Necrosis Radicular hasta 25%
3	50% de raíz afectada	Necrosis Radicular hasta 50%
4	75% de raíz afectada	Necrosis Radicular hasta 75%
5	Hasta 100%raíz afectada o Muerta	Necrosis de 75 a 100% de la raíz

<sup>1</sup> Escala modificada de Ivors *et al.* (2008).

La producción masiva de *T. harzianum* y *T. viride* se realizó según el método modificado de Benites y Marroquín (2013) y Michel-Aceves *et al.* (2013). Posteriormente se determinó la concentración de UFC's por gramo de arroz pulverizado según el método modificado de Agamez *et al.* (2008) y Cañedo y Ames (2004). En el caso de *T. harzianum* y *T. viride* de conidios y en el caso de *P. cinnamomi* de unidades infectivas por gramo de medio seco de arroz inoculado pulverizado. La concentración en el producto final se determinó mediante el recuento de esporas o propágulos en cámara de conteo Neubauer. Para *P. cinnamomi* se realizó el conteo de la

dilución  $10^{-2}$ , en el caso de *T. harzianum* y *T. viride* la dilución utilizada fue  $10^{-3}$ . Se determinó el número de propágulos por ml utilizando la fórmula:  $UI/ml = (SPTC) (50,000) (FD)$

La concentración de *P. cinnamomi* en sustrato fue de  $6.6 \times 10^7$  UI/ml.; la de *T. harzianum* de  $6.25 \times 10^8$  UI/ml; y la de *T. viride* de  $7.83 \times 10^8$  UI/ml. De *T. harzianum* y *T. viride* se inocularon 24 g de sustrato y 16 g de *P. cinnamomi*. El inóculo se colocó en tres orificios alrededor del borde del sistema radical a 4 cm de profundidad en cada planta de aguacate. Primero se inoculó *P. cinnamomi* y tres días después *T. harzianum* y *T. viride*, los orificios se colocaron uno frente a otro adyacentes a la raíz de la planta.

Para determinar la severidad de la enfermedad en los tratamientos se realizaron 10 evaluaciones de la parte aérea de las plantas de cada tratamiento, uno previo a la inoculación (preinoculación) y 9 posteriores (posinoculación) cada quince días, por escala visual de la parte aérea de las plantas (escala modificada de Ivors, *et al.*, 2008). Posteriormente se calculó el porcentaje de severidad mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943).

$$P = [\sum(nt)/5N](100)$$

Para la evaluación de la raíz se realizó muestreo destructivo de 5 plantas de cada tratamiento tomadas al azar. Se tomaron muestras de raíces para recuperación de los microorganismos y se midieron las raíces (largo y ancho) de cada planta. Posteriormente con los datos de la evaluación de la raíz se calculó el porcentaje de severidad mediante la fórmula de Townsend y Heuberger (1943).

En el laboratorio 3 trozos de las raíces de cada planta se colocaron en cinco cajas Petri con 10 ml de medio de cultivo Agar Dextrosa Sabouraud (ADS) y antibiótico (500 mg de Estreptomicina en 1 L de ADS), y se incubaron a 27 °C y 80% de humedad relativa, para determinar la presencia o no de *T. harzianum*, *T. viride* y *P. cinnamomi* según el tratamiento

correspondiente. Después se hicieron preparaciones de las colonias que se desarrollaron a partir de las raíces y se observaron en microscopio óptico de luz con cámara lúcida (Leica DM750) utilizando el programa Leica Application Suite, LAS EZ versión 3.0.0. Las imágenes se tomaron con el objetivo 40X con la finalidad de obtener campos de observación amplios y representativos de cada preparación. Los agentes recuperados se identificaron según las características del crecimiento de las colonias en las cajas de Petri y estructuras microscópicas características de cada microorganismo. Se midieron los conidios presentes para reconocer y sustentar la presencia de ambas especies de *Trichoderma*. Se segmentaron las imágenes para definir los conidios presentes con el editor de imágenes GIMP2.8.2 y medirlos con el programa ImageJ versión 1.51c.

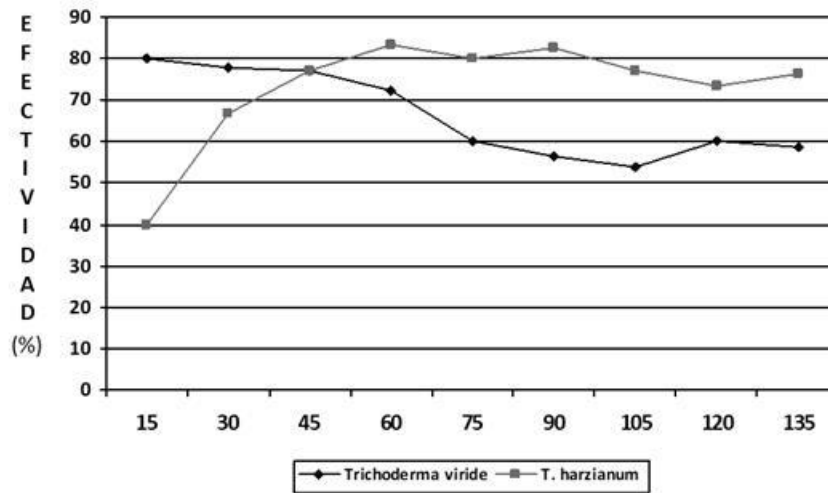
Para corregir la falta de normalidad, los porcentajes de severidad de la enfermedad, se transformaron para su análisis estadístico a la función arcoseno de la raíz cuadrada del porcentaje/100. La variable transformada, se sometió a un análisis de varianza (ANOVA,  $\alpha = 0.05$ ). En caso positivo, a los datos se les realizó una prueba de comparación múltiple de medias para ordenar la efectividad biológica de los tratamientos bajo estudio (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ) mediante el paquete de análisis estadístico SAS<sup>®</sup>. Además, se calculó el porcentaje de eficacia biológica sobre la tristeza del aguacatero (*P. cinnamomi*) de los tratamientos inoculados después con *T. harziamun* y *T. viride*, por medio de la ecuación de Abbott (1925): % Eficacia = [(A-B)/A] 100

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El suelo de las plantas se describe como franco arenoso con un porcentaje de arena de 74.2%, de limo de 21.3% y de arcilla de 4.5%. Tiene un pH de 7.94, una conductividad eléctrica de 52 dSm<sup>-1</sup> y 2.89% de materia orgánica. Además tiene una densidad aparente de 1.34 g cm<sup>-3</sup> y presenta 22.8% de nitrógeno inorgánico.

Con respecto a los resultados del trampeo, se presentó crecimiento correspondiente a bacterias y crecimiento algodonoso correspondiente a desarrollo micelial. La morfología macroscópica y microscópica de las colonias desarrolladas correspondió a *Fusarium* spp. y *Aspergillus* spp. Por medio de las diluciones seriadas las colonias desarrolladas correspondieron a *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Isaria* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp., y *Rhizopus* spp.

Antes de la inoculación de los tratamientos, no se detectaron síntomas de la enfermedad en ninguna planta, observándose color del follaje homogéneo en el lote de plantas utilizadas. A los quince días de la inoculación de las plantas, segunda evaluación, se detectaron síntomas de la enfermedad en los tratamientos inoculados con *P. cinnamomi*, y en los tratamiento del Oomycete con *T. harzianum* y *T. viride*, detectándose diferencias significativas entre estos tratamientos y el testigo absoluto (Cuadro 3) (Tukey,  $\alpha= 0.05$ ). En la tercera evaluación, 60 días de la inoculación, se detectó un mayor efecto antagónico de *T. viride* hacia *P. cinnamomi*. De la cuarta a la novena evaluación (45-120 días), la severidad de la enfermedad tuvo un incremento significativo (Figura 4), observándose en todas las evaluaciones mencionadas diferencias significativas (Cuadro 3) entre todos los tratamientos. Respecto a la décima evaluación realizada a los 135 días de la inoculación, la severidad de la enfermedad se incrementa, manteniéndose las diferencias significativas detectadas en las evaluaciones anteriores. En cuanto a la efectividad biológica calculada mediante la fórmula de Abbott, en la Figura 5 se muestra el incremento de la efectividad en el control o la severidad de la enfermedad de la tristeza del aguacatero por *T. harzianum* o *viride*, alcanzando un 76.47 % de efectividad para *T. harzianum*.



**Figura 4. Porcentaje de severidad de la parte aérea en nueve evaluaciones de la efectividad biológica de *T. harzianum* y *T. viride* para el control de la tristeza del aguacatero producida por *P. cinnamomi*. Las evaluaciones se realizaron cada 15 días.**

El resultado del análisis estadístico de datos del porcentaje de severidad de la raíz de plantas de aguacate se presenta en el Cuadro 4, donde se observan diferencias significativas entre el tratamiento con *P. cinnamomi* y los demás tratamientos evaluados; además, se detectaron diferencias entre los tratamientos con *P. cinnamomi* más *T. harzianum* o *T. viride* respecto a los tratamientos inoculados con *T. harzianum* o *T. viride* y el testigo absoluto (Tukey,  $\alpha= 0.05$ ).

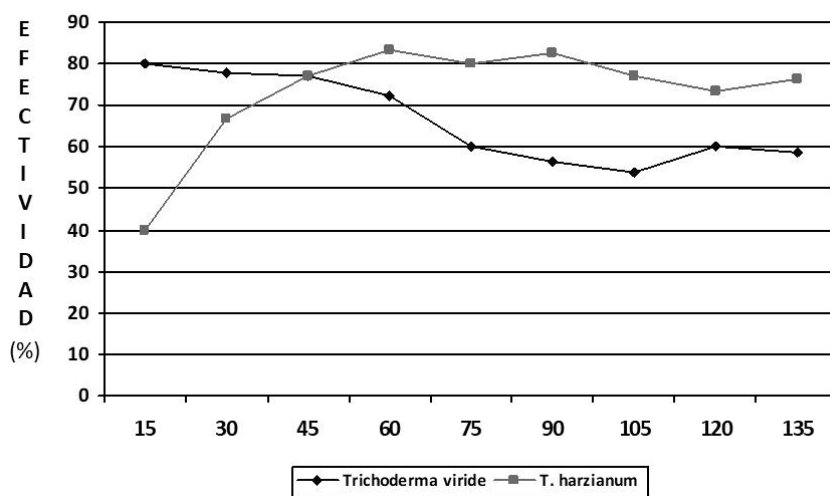
Se logró recuperar de las raíces del muestreo destructivo *T. harzianum*, *T. viride* y *P. cinnamomi*, además se desarrollaron colonias características de *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., *Isaria* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp., y *Rhizopus* spp.



**Cuadro 3. Resumen del análisis estadístico de la separación de medias del porcentaje de severidad de la parte aérea en la evaluación de efectividad biológica de *T. harzianum* y *T. viride* para el control de la tristeza del aguacatero *P. cinnamomi* en el cultivo del aguacate.**

<b>Tratamiento</b>	<b>Promedio severidad (%)</b>		<b>Efectividad biológica (%)</b>
<b>Primer muestreo (previo)</b>			
Testigo Absoluto	0.00	a	---
<i>P. cinnamomi</i> , <i>T. harzianum</i>	0.00	a	---
<i>P. cinnamomi</i> , <i>T. viride</i>	0.00	a	---
<i>P. cinnamomi</i>	0.00	a	---
<b>Segundo muestreo</b>			
Testigo Absoluto	0.00	b	---
<i>P. cinnamomi</i> , <i>T. harzianum</i>	2.60	a b	40.00
<i>P. cinnamomi</i> , <i>T. viride</i>	0.86	a b	80.00
<i>P. cinnamomi</i>	4.34	a	---
<b>Tercer muestreo</b>			
Testigo Absoluto	0.00	b	---
<i>P. cinnamomi</i> , <i>T. harzianum</i>	2.60	a b	66.67
<i>P. cinnamomi</i> , <i>T. viride</i>	1.73	b	77.78
<i>P. cinnamomi</i>	7.82	a	---
<b>Décimo muestreo</b>			
Testigo Absoluto	0.86	c	---
<i>P. cinnamomi</i> , <i>T. harzianum</i>	6.95	b c	76.47
<i>P. cinnamomi</i> , <i>T. viride</i>	12.17	b	58.82
<i>P. cinnamomi</i>	29.56	a	---

Los valores por columna que muestran la misma letra, no son significativamente diferentes entre sí (Tukey,  $\alpha=0.05$ ). Porcentaje de eficacia biológica sobre *P. cinnamomi* de los tratamientos inoculados con *Trichoderma* spp.



**Figura 5.** Porcentaje de la efectividad biológica respecto a la severidad en la parte aérea de *T. harzianum* y *T. viride* para el control de la tristeza del aguacatero *P. cinnamomi*. Las evaluaciones se realizaron cada 15 días.

**Cuadro 4.** Resumen del análisis estadístico de la separación de medias del porcentaje de severidad en la raíz en la evaluación de efectividad biológica de *T. harzianum* y *T. viride* para el control de la tristeza del aguacatero *P. cinnamomi* en el cultivo del aguacate.

Tratamiento	Promedio severidad (%)		Efectividad biológica (%)
Testigo Absoluto	0.00	c	---
<i>Trichoderma harzianum</i>	4.00	c	---
<i>Trichoderma viride</i>	8.00	c	---
<i>Phytophthora cinnamomi</i> , <i>Trichoderma harzianum</i>	52.00	b	45.83
<i>Phytophthora cinnamomi</i> , <i>Trichoderma viride</i>	72.00	b	25.00
<i>Phytophthora. cinnamomi</i>	96.00	a	---

Los valores que muestran la misma letra, no son significativamente diferentes entre sí (Tukey,  $\alpha=0.05$ ). Porcentaje de eficacia biológica sobre *P. cinnamomi* de los tratamientos inoculados con *Trichoderma* spp.

Los resultados obtenidos mostraron que *T. harzianum* y *T. viride* tienen efecto sobre *P. cinnamomi*, lo que concuerda con los obtenidos por Lara-Chávez *et al.* (2011), que reportaron que el tratamiento con cepas de *Trichoderma* spp. en árboles con la enfermedad producida por *P. cinnamomi* redujo los daños ocasionados por éste Oomycete. Leal *et al.* (2014) en su investigación sobre el manejo de la enfermedad causada por *P. cinnamomi* en aguacate encontraron que *T. harzianum* es un microorganismo celulolítico que, al degradarse la celulosa, puede tener un efecto adverso contra *P. cinnamomi*, cuya pared celular está compuesta de celulosa y glucanos. López –Herrera *et al.* (1999) en su investigación en aguacate, reportaron que en presencia de *Trichoderma* la densidad de inóculo de *P. cinnamomi* se redujo entre un 86 y 91% y su porcentaje de aislamiento en las raíces de las plantas inoculadas fue entre un 40 y 60%.

Otros autores también concuerdan con los resultados de este trabajo con respecto al uso de hongos antagónicos del género *Trichoderma* en el manejo de *Phytophthora* spp. y otros fitopatógenos como Ezziyyani *et al.* (2004) que usó *T. harzianum* y redujo hasta un 65% la “tristeza” causada por *P. capsici* en pimiento. Así mismo González-Cárdenas *et al.* (2015), usaron *Trichoderma* spp. contra *Fusarium oxysporum* en papaya permitiendo que las plantas siguieran creciendo. Jiang *et al.* (2016) reportaron que *Trichoderma* spp. fue capaz de colapsar a *P. capsici*. Sánchez *et al.* (2017) y Tello *et al.* (2016) también reportaron que cepas de *Trichoderma* expresaron capacidad antagónica alta contra hongos fitopatógenos en raíz de frijol, lo que sugiere efecto de antibiosis y diferentes tipos de interacción hifal. Por otro lado Téliz y Mora (2007), Tamayo (2007), Vidales-Fernández y Alcantar-Rocillo (1999) mencionan que favorecer el desarrollo de hongos antagonistas en la rizosfera del aguacate en el manejo integral de esta enfermedad, presenta limitaciones al desarrollo de *P. cinnamomi*.

Entre los mecanismos de control referenciados para *Trichoderma* spp. está la competencia por nutrientes o espacio, el micoparasitismo y la antibiosis (Benites y Marroquín, 2013;

Fernández-Larrea, 2001). El micoparasitismo incluye una gran variedad de interacciones que generan daños morfológicos tales como, cobertura de las hifas del hongo patógeno, penetración y parasitismo directo por la producción de haustorios y lisis de una hifa por otra (Gómez, *et al.*, 2013).

La efectividad biológica de los dos *Trichoderma* evaluados en esta investigación fue de 58.82 a 76.47% sobre *P. cinnamomi*. Siendo *T. harzianum* el que obtuvo el mayor rango sobre el Oomycete. Esto puede explicarse por las características propias del género *Trichoderma*, los metabolitos secundarios y enzimas producidos por estos hongos antagonistas los convierte en una opción amigable con el medio ambiente para ser usados como una herramienta óptima y ser incorporada en el manejo integral de la tristeza del aguacatero producido por *P. cinnamomi*. Chiriboga *et al.* (2015) corroboran el hecho de que su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas, les permiten ser un eficiente bioagente de control. De igual forma, puede sobrevivir en medios con contenidos significativos de agrodefensivos y otros químicos, bajo diferentes sistemas de producción y cultivo.

Howell (2003) menciona que otro mecanismo para explicar la actividad biocontroladora de *T. harzianum* es la inducción de resistencia en la planta. Como mencionan Borges *et al.* (2010) la producción de un metabolito en específico puede ser significativamente alterada mediante la optimización de las condiciones del cultivo, como pueden ser los nutrientes, temperatura y pH. En forma personal, la autora opina que la evaluación en la raíz representó con mayor exactitud el efecto de los antagonistas sobre la severidad del Oomycete, ya que los microorganismos involucrados fueron inoculados próximos a ella y por ello los efectos de su interacción se presentaron mejor en la evaluación radical, y como dice Howell (2003), las respuestas de defensa de la planta inoculada con *Trichoderma* spp. parecen estar confinadas al sistema radical; lugar dónde se desarrolla *P. cinnamomi*.

Aunque la finalidad de este proyecto no fue mostrar los efectos benéficos de los *Trichoderma* en el desarrollo de las plantas de aguacate. Se inocularon *T. harzianum* y *T. viride* en dos de los seis tratamientos. Estadísticamente no presentaron diferencia significativa con el tratamiento control. Sin embargo las plantas en el tratamiento inoculado con *T. harzianum*, presentaron visualmente mejor desarrollo, además tres plantas de este tratamiento presentaron crecimiento de brotes florales, lo que no se observó en los demás tratamientos. Esto se puede explicar, según menciona Howell (2003), quien dice que las especies de *Trichoderma* ocasionan aumentos en el crecimiento de raíz y tallo de las plantas, así como resistencia al estrés biótico y abiótico y aumento en el estado nutricional general de la planta. Infante *et al.* (2009) mencionan que mientras mayor sea la probabilidad de que un aislamiento de *Trichoderma* manifieste varios modos de acción, más eficiente y duradero será el control sobre el patógeno.

Dennis y Webster (1971) y Sivila y Alvarez (2013) comentan que los metabolitos volátiles y no volátiles producidos por *Trichoderma* spp., son de tipo antibiótico como: viridín, trichodermin, glioviridin, gliotoxin y harzaniolide, y actúan en bajas concentraciones (menores a 10 ppm.). La más representativa es Trichodermin que actúa inhibiendo la actividad ribosomal de los patógenos, por lo tanto su reproducción, como en el caso de *P. cinnamomi*. Estos autores también hacen especial referencia a los numerosos estudios que señalan a *Trichoderma* spp. como promotor o estimulador del crecimiento de plantas, promoviendo el incremento de tamaño, aumento del área foliar y peso, además de un efecto positivo sobre la germinación de las semillas.

## CONCLUSIONES

Bajo las condiciones en que se realizó el presente estudio se concluye que la aplicación de *T. harzianum* y *T. viride* ejerció un control antagonista sobre el Oomycete *P. cinnamomi*. La severidad de la enfermedad en las plantas tratadas con *P. cinnamomi* fue menor en las plantas inoculadas con *T. harzianum* y *T. viride* que mostraron valores más bajos de severidad en la parte aérea y del sistema radical. De acuerdo con el análisis de los resultados, *T. harzianum* y *T. viride* favorecieron la tolerancia de las plantas de aguacate variedad Hass a la enfermedad inducida por *P. cinnamomi*, ya que en este bioensayo la efectividad biológica de *T. harzianum* fue de 76.47% y de *T. viride* de 58.82% sobre *P. cinnamomi*.

## LITERATURA CITADA

- Abbott, W. S. 1925. A method of computing the effectiveness of an Insecticide. J. Econ. Entomol. 18: 265 - 267.
- Agamez R., E., N. Zapata R., Z. Oviedo L., y V. Barrera J. 2008. Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma* spp. Rev. Colomb. Biotecnol. 10(2): 23 - 34.
- Allardyce J., A., J. Rookes E., and D. Cahill M. 2012. Defining plant resistance to *Phytophthora cinnamomi*: A standardized approach to assessment. J Phytopathol 160: 269 - 276.
- Almaraz-Sánchez A., D. Alvarado-Rosales, y L. Saavedra-Romero, I. 2013. Trampeo de *Phytophthora cinnamomi* en bosque de encino con dos especies ornamentales e inducción de su esporulación. Rev. Chapingo Ser. Cien. For. Amb. 19(1): 5 - 12.
- Benites B., C., y L. Marroquín C. 2015. Producción de *Trichoderma harzianum* en diferentes sustratos orgánicos. Rev. Portal Cien. 4: 68 - 74.

- Benson, D. M., and K. Parker. 2015. Rice grain method for *Phytophthora* inoculum production. Laboratory protocols for *Phytophthora* species. Protocol 02-07.1 (November 2015). APS PRESS. pp: 1 - 2. Disponible en: <https://doi.org/10.1094/9780890544969.02.07.1>
- Borges D., A. Díaz O., A. San Juan N., y E. Gómez, 2010. Metabolitos secundarios producidos por hongos entomopatógenos. ICIDCA 44(3): 49 - 55. Disponible en: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=223120684008>
- Cañedo V., y T. Ames. 2004. Manual de laboratorio para el manejo de hongos entomopatógenos. Perú. 62p.
- Dennis, C., and J. Webster, 1971. Antagonistic properties of species – groups of *Trichoderma*. I. Production of nonvolatile antibiotics. Trans. Br. Mycol. Soc. 57: 25 - 39.
- Ezziyyani M., S. Pérez C., A. Sid A., M. Requena E., y M. Candela, E. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales Biol. 26: 35 - 45.
- Fernández-Larrea V., O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Avances en el fomento de productos fitosanitarios no-sintéticos. Manejo Int Plagas: 62: 96 - 100.
- Frampton, J., and D. M. Benson. 2012. Seedling resistance to *Phytophthora cinnamomi* in the genus *Abies*. Annals For. Sci. 69:805 - 812.
- Gabor, B.K., F. B. Guillement, and M. D. Coffey. 1990. Comparison of field resistance to *Phytophthora cinnamomi* in twelve avocado rootstock. Hort. Sci. 25(12): 1655 - 1656.
- Gómez R. H., R. Soberanis W., C. Tenorio, M., y D. Torres, E. 2013. Manual de producción y uso de hongos antagonistas. SCB – SENASA. Perú. 34 p.
- González-Cárdenas S.C., J. Maruri-García, y A. González-Acosta. 2005. Evaluación de diferentes concentraciones de *Trichoderma* spp. contra *Fusarium oxysporum* agente

- causal de la pudrición de plántulas de papaya (*Carica papaya* L.) en Tuxpan, Veracruz, México. Rev. UDO Agrícola 5 (1): 45 - 47.
- Holmes, K. A., and D. M. Benson. 1994. Evaluation of *Phytophthora parasitica* var. *nicotianae* for biocontrol of *Phytophthora parasitica* on *Catharanthus roseus*. Plant Dis. 78: 193 - 199.
- Howell, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. Plant. Dis. 87(1): 4 - 10.
- Infante D., B. Martínez, N. Gonzáles, y Y. Reyes. 2009. Mecanismo de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos, Rev. Protección Veg. 24 (1): 14 - 21.
- Ivors, K. L., Z. G., Abad, and D. M. Benson, 2008. Evaluating the pathogenicity of *Pythium vexans* isolates from Fraser fir in North Carolina. Online. Plant Health Progress. doi:10.1094/PHP-2008-1006-01-RS. (Consulta: julio, 2017).
- Jiang, H., L. Zhang, J. Zhang, M. R. Ojaghian, and K. D. Hyde. 2016. Antagonistic interaction between *Trichoderma asperellum* and *Phytophthora capsici* in vitro. Univ. Sci. B. 17(4): 271-281.
- Kaen R., C. Juri, M. Latorre M., y F. Seleme. 2015. Optimización de la técnica para la detección y el aislamiento de *Phytophthora* spp en Nogal. Editorial Científica Universitaria. Argentina. 5 p.
- Lara-Chávez M., B., J. Guerrero-Tejeda A., F. Barriga-Gozález S., T. Ávila-Val C., S. Aguirre-Paleos, y V. Coria-Avalos M. 2011. Recuperación de árboles de aguacate infectados con *Phytophthora cinnamomi* Rands bajo control biológico y químico. In: Actas del VII Congreso Mundial del Aguacate. 5-9 september. Australia. 5 p.
- Larralde C., C., M. Santiago R., R. Sifuentes A., L. Rodríguez I., P. Rodríguez M., K. Shirai, and Z. Narváez J. 2008. Biocontrol potential and polyphasic characterization of novel native



- Trichoderma* strains against *Macrophomina phaseolina* isolated from sorghum and common bean. *App. Microbiol. Biotechnol.* 80: 167 - 177.
- Leal J., M., J. Castaño, y M. Bolaños M. 2014. Manejo de la pudrición radical (*Phytophthora cinnamomi* Rands) del aguacate (*Persea americana* Linneo). *Rev. U.D.C.A Act. Div. Cient.* 17(1): 105 - 114.
- López-Herrera C., J., R. Pérez-Jiménez M., A. Llobel, E. Monte-Vázquez, y T. Zea-Bonilla. 1999. Estudio In vivo de *Trichoderma* como agente de biocontrol contra *Phytophthora cinnamomi* y *Rosellinia necatrix* en aguacate. *Rev. Chapingo Ser. Hort.* 5: 261 - 265.
- Michel-Aceves A., C., M. Otero-Sánchez A., R. Ariza-Flores, A. Barrios-Ayala, y N. Alarcón-Cruz. 2013. Eficiencia biológica de cepas nativas de *Trichoderma* spp., en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en cacahuete. *Av. Invest. Agropec. Universidad de Colima.* 17(3): 89 - 107.
- Ramírez, G.J., Castañeda, S.D. y Morales, O.J. (2014). Estudio etiológico de la marchitez del aguacate en Antioquia Colombia. *Rev Ceres, Vicosá*, 61(1), 50-61.
- Ristiano, J. B., and M. L. Gumpertz. 2000. New frontiers in the study of dispersal and spatial analysis of epidemics caused by species in the genus *Phytophthora*. *Annu. Rev. Phytopathol.* 38: 541 - 576.
- SAGARPA. (2017). Planeación Agrícola Nacional 2017-2030. Aguacate mexicano. México. Disponible en: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257067/Potencial-Aguacate.pdf>
- Samuels, G. J. 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. *Mycol. Res.* 100(8): 923 - 935.
- Sánchez-García B., M., E. Espinosa-Huerta, E. Villordo-Pineda, R. Rodríguez-Guerra, y M. Mota-Avilés A. 2017. Identificación molecular y evaluación antagónica in vitro de cepas

- nativas de *Trichoderma* spp. sobre hongos fitopatógenos de raíz en frijol (*Phaseolus vulgaris* l.) cv. Montcalm. *Agrociencia*. 51: 63 - 79.
- SE (Secretaría de Economía). 2012. Monografía del Sector Aguacate en México: Situación actual y oportunidades de mercado. Dirección General de Industrias Básicas. México. 21p.
- Sivila, N., y S. Alvarez. 2013. Producción artesanal y control de calidad del hongo antagonista *Trichoderma* spp. Universidad Nacional de Jujuy. Argentina. 47p.
- Tamayo M., P. 2007. Enfermedades del aguacate. Encuentro Nacional de la Cadena Productiva del Aguacate. Politecnica. (4): 51 - 70.
- Téliz O., D, A. Mora A., G. Mora A., y J. Etchever B. 2007. Tristeza del aguacate (*Phytophthora cinnamomi*). In: El aguacate y su manejo integrado. Téliz O., D., y A. Mora A. (eds). 2ª ed. Mundi-Prensa. México. pp: 192 - 202.
- Tello C., R., H. Ramírez L., G. González O., N. Laborde R., y A. Ramírez Y. 2016. Influencia de *Trichoderma*.spp. en el desarrollo y rendimiento de *Phaseolus vulgaris* l. variedad Cuba Cueto 25-9. *Rev. Granma Ciencia* 20(1): 1-8. ISSN 1027-975X
- Townsend, G. R. and J. W. Heuberger. 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. *Plant Dis Reporter* 27(17): 340 - 343.
- Vidales-Fernández J., A., y J. Alcantar-Rocillo J. 1999. Acción de la solarización y de la materia orgánica en el control de la tristeza *Phytophthora cinnamomi* Rands del aguacate *Persea americana* L. *Rev. Chapingo Ser. Hort.* 5: 255 - 259.