

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR
FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN GERENCIA AGRÍCOLA

PROSPECCIÓN DE *Trichoderma* Y *Fusarium* EN EL DEPARTAMENTO DE CHIQUIMULA
TESIS DE GRADO

LUIS FERNANDO RECINOS HERNÁNDEZ
CARNET 11559-12

GUATEMALA DE LA ASUNCIÓN, JUNIO DE 2017
CAMPUS CENTRAL

UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS

LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN GERENCIA AGRÍCOLA

PROSPECCIÓN DE *Trichoderma* Y *Fusarium* EN EL DEPARTAMENTO DE CHIQUIMULA

TESIS DE GRADO

TRABAJO PRESENTADO AL CONSEJO DE LA FACULTAD DE
CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS

POR

LUIS FERNANDO RECINOS HERNÁNDEZ

PREVIO A CONFERÍRSELE

EL TÍTULO DE INGENIERO AGRÓNOMO CON ÉNFASIS EN GERENCIA AGRÍCOLA EN EL GRADO
ACADÉMICO DE LICENCIADO

GUATEMALA DE LA ASUNCIÓN, JUNIO DE 2017

CAMPUS CENTRAL

AUTORIDADES DE LA UNIVERSIDAD RAFAEL LANDÍVAR

RECTOR: P. MARCO TULIO MARTINEZ SALAZAR, S. J.
VICERRECTORA ACADÉMICA: DRA. MARTA LUCRECIA MÉNDEZ GONZÁLEZ DE PENEDO
VICERRECTOR DE INVESTIGACIÓN Y PROYECCIÓN: ING. JOSÉ JUVENTINO GÁLVEZ RUANO
VICERRECTOR DE INTEGRACIÓN UNIVERSITARIA: P. JULIO ENRIQUE MOREIRA CHAVARRÍA, S. J.
VICERRECTOR ADMINISTRATIVO: LIC. ARIEL RIVERA IRÍAS
SECRETARIA GENERAL: LIC. FABIOLA DE LA LUZ PADILLA BELTRANENA DE LORENZANA

AUTORIDADES DE LA FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS

DECANO: DR. ADOLFO OTTONIEL MONTERROSO RIVAS
VICEDECANA: LIC. ANNA CRISTINA BAILEY HERNÁNDEZ
SECRETARIO: MGTR. LUIS MOISES PEÑATE MUNGUÍA
DIRECTOR DE CARRERA: MGTR. JULIO ROBERTO GARCÍA MORÁN

NOMBRE DEL ASESOR DE TRABAJO DE GRADUACIÓN

MGTR. JULIO ROBERTO GARCÍA MORÁN

TERNA QUE PRACTICÓ LA EVALUACIÓN

MGTR. LUIS MOISES PEÑATE MUNGUÍA
ING. LUIS ROBERTO AGUIRRE RUANO
ING. SERGIO ALEJANDRO MANSILLA JIMÉNEZ

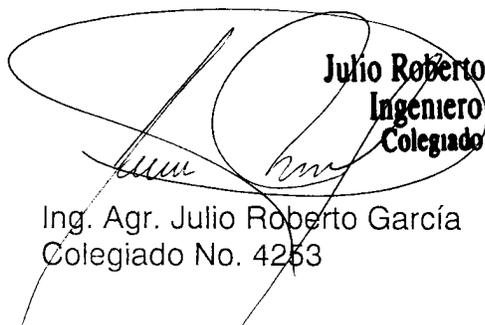
Guatemala, 26 de junio de 2017.

Honorable Consejo de
La Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas
Presente.

Distinguidos Miembros del Consejo:

Por este medio hago constar que he procedido a revisar el Informe Final de Tesis del estudiante **Luis Fernando Recinos Hernández**, que se identifica con carné **1155912**, titulado: "**Prospección de *Trichoderma* y *Fusarium* en el departamento de Chiquimula**", el cual considero que cumple con los requisitos establecidos por la Facultad para ser aprobado, por lo que solicito sea revisado por la terna que designe el Honorable Consejo de la Facultad, previo a su autorización de impresión.

Atentamente,



Julio Roberto Garcia Morán
Ingeniero Agrónomo
Colegiado No. 4253

Ing. Agr. Julio Roberto García
Colegiado No. 4253



Universidad
Rafael Landívar
Tradición Jesuita en Guatemala

FACULTAD DE CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
No. 06738-2017

Orden de Impresión

De acuerdo a la aprobación de la Evaluación del Trabajo de Graduación en la variante Tesis de Grado del estudiante LUIS FERNANDO RECINOS HERNÁNDEZ, Carnet 11559-12 en la carrera LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN GERENCIA AGRÍCOLA, del Campus Central, que consta en el Acta No. 0691-2017 de fecha 6 de junio de 2017, se autoriza la impresión digital del trabajo titulado:

PROSPECCIÓN DE *Trichoderma* Y *Fusarium* EN EL DEPARTAMENTO DE CHIQUIMULA

Previo a conferírsele el título de INGENIERO AGRÓNOMO CON ÉNFASIS EN GERENCIA AGRÍCOLA en el grado académico de LICENCIADO.

Dado en la ciudad de Guatemala de la Asunción, a los 21 días del mes de junio del año 2017.



**MGTR. LUIS MOISES PEÑATE MUNGUÍA, SECRETARIO
CIENCIAS AMBIENTALES Y AGRÍCOLAS
Universidad Rafael Landívar**

AGRADECIMIENTOS

A:

Dios que está sentado en el trono, y al Cordero, sea la bendición, la honra, la gloria y el imperio, por los siglos de los siglos (Apocalipsis 5:13). Porque de Él, y por El, y para El, son todas las cosas... Amén. (Romanos 11:36).

La Iglesia de Dios que está en la ciudad de Esquipulas y Guatemala, por sus oraciones y su pastoreo todos estos años de mi carrera universitaria.

Mis padres Carlos Roberto Recinos e Isabel Hernández, por su amor y su apoyo en todos los años de mi carrera.

Ing. Julio García Morán, por su apoyo en cada paso del proceso de mi trabajo de graduación.

DEDICATORIA

A:

Mis padres: Carlos Roberto Recinos e Isabel María Hernández, por su amor y apoyo todos los días de mi vida en cada aspecto de ella.

Mis hermanas: Fernanda Recinos, María Elena Recinos, Alejandra Recinos, por su amor y por siempre estar a mi lado en cada paso de mi vida.

Mis abuelos: Adolfo Hernández e Isabel Duarte, por instruirme en la vida y apoyarme en todo lo que realizo.

INDICE

| | |
|---|----|
| RESUMEN..... | i |
| SUMINARY..... | ii |
| 1. INTRODUCCIÓN..... | 1 |
| 2. MARCO TEÓRICO | 2 |
| 2.1 Evolución divergente | 2 |
| 2.2 Departamento de Chiquimula..... | 2 |
| 2.1.1 Aspectos geográficos | 3 |
| A. Localización | 3 |
| B. Distribución de altitudes y pendiente..... | 3 |
| 2.1.2 Clima | 3 |
| 2.1.3 Agricultura | 3 |
| 2.3 Tipos de suelos | 4 |
| 2.3.1 Suelos sobre materiales volcánicos..... | 4 |
| 2.3.2 Suelos sobre materiales sedimentarios y metamórficos | 5 |
| 2.3.3 Suelos pocos profundos sobre esquisto | 5 |
| 2.3.4 Suelos poco profundos sobre esquisto arcilloso y caliza | 5 |
| 2.4 Cultivos de importancia en el departamento | 6 |
| 2.4.1 Tomate..... | 6 |
| 2.4.2 Chile Pimiento..... | 7 |
| 2.4.3 Frijol | 7 |
| 2.4.4 Café..... | 8 |

| | | |
|-------|---|----|
| 2.5 | <i>Fusarium spp.</i> | 9 |
| 2.5.1 | Distribución | 9 |
| 2.5.2 | Condiciones favorables para su desarrollo | 9 |
| 2.5.3 | Sintomatología de plantas | 10 |
| 2.5.4 | Métodos de control | 10 |
| A. | Biofumigación..... | 10 |
| B. | Solarización..... | 10 |
| C. | Fungicidas químicos | 11 |
| – | Bromuro de metilo | 11 |
| 2.6 | Control biológico | 11 |
| 2.7 | <i>Trichoderma spp.</i> | 11 |
| 2.7.1 | Taxonomía..... | 12 |
| 2.7.2 | Mecanismos de acción | 12 |
| A. | Antibiosis..... | 13 |
| B. | Micoparasitismo | 13 |
| C. | Competencia..... | 13 |
| 2.7.3 | Uso en la agricultura | 14 |
| 2.7.4 | Beneficios de <i>Trichoderma spp.</i> | 14 |
| 3. | PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO..... | 16 |
| 4. | OBJETIVOS | 17 |
| 4.1 | Objetivo general | 17 |
| 4.2 | Objetivos específicos | 17 |
| 5. | METODOLOGÍA..... | 18 |
| 5.1 | Ambiente o lugar de trabajo | 18 |

| | | |
|--------|---|----|
| 5.2 | Unidades de análisis | 18 |
| 5.3 | Tipo de Investigación | 18 |
| 5.4 | Instrumento | 19 |
| 5.5 | Procedimiento | 19 |
| 5.5.1. | Fase de campo | 19 |
| A) | Muestreo | 19 |
| 5.5.2. | Fase de laboratorio | 20 |
| A) | Aislamiento de <i>Trichoderma</i> y <i>Fusarium</i> | 20 |
| B) | Caracterización morfológica | 22 |
| C) | Almacenamiento de los aislamientos | 22 |
| 1.6. | Análisis de la información..... | 22 |
| 6. | RESULTADOS Y DISCUSION | 23 |
| 6.1 | Aislamiento de cepas de <i>Fusarium</i> y <i>Trichoderma</i> | 23 |
| 6.2 | Cultivos <i>in vitro</i> de <i>Fusarium</i> y <i>Trichoderma</i> | 25 |
| 6.3 | Caracterización morfológica de <i>Fusarium</i> y <i>Trichoderma</i> a partir de cepas aisladas..... | 26 |
| 6.3.1 | Caracterización de las colonias de <i>Fusarium</i> | 26 |
| 6.3.2 | Caracterización de las colonias de <i>Trichoderma</i> | 28 |
| 6.3.3 | Crecimiento micelial de <i>Fusarium</i> y <i>Trichoderma</i> | 30 |
| 6.4 | Conservación de cultivos <i>in vitro</i> | 31 |
| 7. | CONCLUSIONES..... | 33 |
| 8. | RECOMENDACIONES..... | 34 |
| 9. | BIBLIOGRAFÍA..... | 35 |
| 10. | ANEXOS..... | 42 |

INDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Colonias de <i>Fusarium</i> en tomate a partir de tejido vegetal en el municipio Ipala | 25 |
| Figura 2. Colonias de <i>Trichoderma</i> en tomate a partir de suelo en el municipio de Ipala | 25 |
| Figura 3. Caracterización 3 a. Características macroscópicas frontales de <i>Fusarium</i> C1 3b. Características macroscópicas al envés de <i>Fusarium</i> C1 3c. Características microscópicas de <i>Fusarium</i> C1 | 26 |
| Figura 4. 4 a. Características macroscópicas frontales de <i>Fusarium</i> C2 4b. Características macroscópicas al envés de <i>Fusarium</i> C2 4c. Características microscópicas de <i>Fusarium</i> C2 | 27 |
| Figura 5. 5 a. Características macroscópicas frontales de <i>Fusarium</i> C3 5b. Características macroscópicas al envés de <i>Fusarium</i> C3 5c. Características microscópicas de <i>Fusarium</i> C3 | 28 |
| Figura 6. 6 a. Características macroscópicas frontales de <i>Tichoderma</i> C1 6b. Características microscópicas de <i>Trichoderma</i> C1 | 29 |
| Figura 7. 7 a. Características macroscópicas frontales de <i>Trichoderma</i> C2 7b. Características microscópicas de <i>Trichoderma</i> C2 | 29 |
| Figura 8. Gráfica comparativa del crecimiento micelial de las cepas aisladas | 30 |

INDICE DE CUADROS

| | |
|--|----|
| Cuadro 1. Producción nacional de los cultivos | 6 |
| Cuadro 2. Aislamientos de <i>Fusarium</i> y <i>Trichoderma</i> obtenidos en muestreo de cultivos de interés en el departamento de Chiquimula | 23 |
| Cuadro 3. Conservación de las cepas de <i>Fusarium</i> en tomate | 31 |
| Cuadro 4. Conservación de las cepas de <i>Trichoderma</i> en tomate | 32 |
| Cuadro 5. Área bajo la curva del desarrollo micelial de las cepas aisladas | 30 |

PROSPECCIÓN DE *Trichoderma* Y *Fusarium* EN EL DEPARTAMENTO DE GUATEMALA, GUATEMALA

RESUMEN

Guatemala debido a que es un país biodiverso y con variedad de microclimas y suelos, permite un excelente desarrollo de la agricultura, pero al mismo tiempo se encuentran problemas respecto a las plagas y enfermedades, en este caso se consideró que *Fusarium* es una de las enfermedades que más afecta a cuatro cultivos de importancia económica en el Departamento de Chiquimula, y que el principal método de control para esta enfermedad es el uso de plaguicidas, los cuales han y pueden causar serios daños secundarios al ser humano y al medio ambiente, por lo que se considera necesaria la búsqueda de alternativas de control como lo es el uso de microorganismos antagónicos especialmente hongos del género *Trichoderma* que son conocidos por su alto potencial como agente de control biológico. Por lo que el objeto de este estudio fue realizar una prospección de *Fusarium* y *Trichoderma* para caracterizar morfológicamente cada cepa aislada de ambos géneros y para mostrar el potencial de *Trichoderma* para controlar *Fusarium* a través del crecimiento micelial de cada cepa en un medio de cultivo PDA.

PROSPECTION OF *Trichoderma* AND *Fusarium* IN THE DEPARTMENT OF CHIQUIMULA, GUATEMALA

SUMINARY

Guatemala is a country with biodiversity and a variety of microclimates and soils, favoring an excellent agriculture development, but there are also problems related with pests and diseases. In this case, it was considered that *Fusarium* is one of the diseases that mainly affects four economically important crops in the Department of Chiquimula, and the main control method for this disease is the use of pesticides, causing serious secondary harm to humans and the environment. For that reason, it is deemed necessary to search control alternatives like the usage of antagonistic microorganisms, particularly the *Trichoderma* fungi gender, which are known for their high potential as biological control agent. Thus, the objective of this study was to carry out a prospection of *Fusarium* and *Trichoderma* to morphologically characterize each isolated strain of both genders and to demonstrate the potential of *Trichoderma* to control *Fusarium* through the mycelial growth of each strain in a PDA crop means.

1. INTRODUCCIÓN

Fusarium ha sido uno de los géneros de hongos fitopatógenos más incidentes y devastadores de cultivos en la agricultura en los últimos años, y es uno de los principales factores que causan pérdidas y bajos rendimientos en la producción de diversos cultivos de importancia económica y alimenticia como la palma africana, hule, banano, café, tomate, pimiento, melón, entre otros.

Debido a la seriedad de los daños causados por este hongo, se ha buscado por mucho tiempo el mejor control para disminuir su incidencia siendo el más utilizado el control químico, sin embargo, existe la problemática del uso excesivo de los fungicidas como el bromuro de metilo, el cual es un producto extremadamente tóxico, clasificado por la Organización Mundial de la Salud en la categoría 1A. Es importante mencionar que el bromuro de metilo además de ser utilizado como un fungicida también es considerado como un biocida fumigante.

Todos estos esfuerzos para reducir y eliminar la utilización y producción del bromuro de metilo y de otros plaguicidas han impulsado la búsqueda de otros métodos para combatir este patógeno, como por ejemplo el uso de microorganismos antagónicos, en especial especies del género *Trichoderma* las cuales han sido catalogadas por su aplicación en la agricultura específicamente para el control biológico de otros organismos patógenos que atacan a los cultivos.

Según el contexto anteriormente planteado el objeto de este estudio consistió en recolectar información de las diferentes especies de *Trichoderma* que prevalecen en los suelos de Guatemala específicamente en el departamento de Chiquimula para el control de hongos fitopatógenos, principalmente *Fusarium*.

2. MARCO TEÓRICO

2.1 Evolución divergente

Este término se remota a los trabajos de Lack (1947), Dozhansky (1951) y, especialmente, Simpson (1953), los cuales llevaron a la formulación de lo que se conoce como Teoría Ecológica de la Radiación Adaptativa, que ha sido recientemente actualizada por Schluter (2000), que la define como el resultado de procesos de selección natural divergente, causada por diferencias ambientales y competencia por los recursos, que dan lugar a la rápida diversificación de un linaje (Bueno, 2013).

La radiación adaptativa explica la diversificación de ciertos taxa, ejemplos clásicos de esto son los pájaros drepanípidos de Hawai y los peces cíclidos de los lagos africanos. Más recientemente, varios investigadores han propuesto otros ejemplos, en donde los cambios morfológicos asociados a la ecología de los organismos han evolucionado varias veces bajo las mismas condiciones, incluyendo los pinzones de las islas Galápagos, los mosqueros del nuevo mundo, los pericos y tucanes del amazonas y las lagartijas del género *Anolis* de las islas del Caribe (Ornelas, 1996).

2.2 Departamento de Chiquimula

Se ha determinado de importancia presentar información y estadísticas del Departamento de Chiquimula, debido a que esta región es el objeto de nuestra investigación. Región en la cual se va a delimitar sitios de interés, donde se realizará una prospección de especies del género de *Fusarium* y de *Trichoderma*.

Su extensión territorial está dividida en los siguientes municipios:

1. Chiquimula
2. Camotán
3. Concepción Las Minas
4. Esquipulas
5. Ipala
6. Jocotán
7. Olopa
8. Quetzaltepeque
9. San José La Arada
10. San Juan Ermita
11. San Jacinto

2.1.1 Aspectos geográficos

A. Localización

El departamento de Chiquimula se encuentra localizado en el sureste de Guatemala, sobre la Vertiente Continental, con las siguientes coordenadas: 14° 47'05'' Latitud 89° 32'48'' Longitud.

Es de forma irregular y se encuentra rodeado al norte, por el Departamento de Zacapa; al este, por la República de Honduras; al sur, por la República de El Salvador y el Departamento de Jutiapa; y al oeste, por el Departamento de Jalapa. Es el treceavo departamento en tamaño, con 2,376 Km² de extensión, o sea el 2.18 por ciento del área de la república (Simmons, *et al* 1959).

B. Distribución de altitudes y pendiente

Se define al tipo de relieve de Chiquimula como quebrado, con un macizo montañoso irregular y presenta alturas que van de los 435 a los 1,350 msnm, lo que incide en que los climas en el departamento vayan desde templado hasta frío en las áreas de montaña. Aunado a ello, el 36% del territorio del departamento tiene pendientes mayores al 32%, lo que lo hace muy susceptible a la erosión. Aunque el relieve de la mayor parte del territorio es montañoso, se pueden identificar, al menos, tres grandes valles ubicados uno en Chiquimula, otro en Ipala y el tercero en Esquipulas (SEGEPLAN, 2013).

2.1.2 Clima

A pesar de la fuerte presencia de ríos, el departamento se caracteriza porque la mayor parte de su territorio es bastante seco y de hecho, presenta una precipitación promedio anual de 1,800 mm, considerada como baja (SEGEPLAN, 2003).

2.1.3 Agricultura

En Chiquimula se considera que sólo un 2.3% de la tierra es de vocación agrícola sin limitaciones localizada principalmente en los municipios de Chiquimula y Esquipulas. Sin embargo, la mayor parte del territorio de estos municipios se destina a agricultura

limpia, lo que significa que esos suelos están siendo sobre utilizados (SEGEPLAN, 2003).

2.3 Tipos de suelos

2.3.1 Suelos sobre materiales volcánicos

Los suelos sobre materiales volcánicos comprenden alrededor de tres cuartas partes del área del departamento. La mayor parte del material sobre el cual se han desarrollado fue depositado durante el tiempo en que gran parte de Guatemala central fue cubierta de ceniza volcánica, toba o lahar, pero la esquina noroeste representa una formación más antigua donde están mezclados el granito, el gneis y otras rocas. Gran parte del área esta seccionada y se caracteriza por pendientes empinadas, existiendo varios valles o bolsones entre las montañas. Estos suelos, en su mayor parte, son poco profundos y los afloramientos rocosos son comunes (Simmons, *et al* 1959).

Suelos profundos sobre materiales de color claro, están los suelos **Altombrán, Atulapa, Chuctal y Tahuainí**. Los suelos Altombrán se encuentran en la parte oeste del departamento en asociación con los suelos Zacapa y Atulapa; los Chuctal y Tahuainí están en la parte sureste en asociación con los suelos Jalapa. Todos están completamente seccionados y las pendientes escarpadas son comunes. Están mejor adaptados a los pastos y a los bosques, ya que solo algunas partes anchas y planas son adaptables a ciertos cultivos limpios (Simmons, *et al* 1959).

Suelos poco profundos sobre materiales de color claro, están incluidos los suelos **Jalapa, Jigua, Oquén, Pinula y Zacapa**. Todos ocupan relieve escarpado y los afloramientos del material madre son comunes. Se diferencian principalmente en la clase de material madre, con variaciones menores en la profundidad del suelo. Ninguno es adaptable a los cultivos, pero pueden usarse para pastos y bosques. Juntos contribuyen 32.3 por ciento del área del departamento (Simmons, *et al* 1959).

Suelos sobre materiales mixtos o de color oscuro, en relieve escarpado, están los suelos **Jilotepeque y Mongoy**. Gran parte del área está bajo bosques o con pastos. Una porción considerable de los suelos Jilotepeque está en la producción del maíz y frijol (Simmons, *et al* 1959).

Suelos sobre materiales mixtos o de color oscuro, en relieve suavemente inclinado, están los **Culma** y los **Güija**. Estos son demasiado pedregosos para el cultivo mecanizado (Simmons, *et al* 1959).

Suelos mal drenados, están incluidos los suelos **Ansaj, Chicaj y Mita**. Ocupan relieves casi planos y en la mayoría de los lugares están situados en los valles o bolsones amplios entre las montañas. Partes de estos suelos son cultivados provechosamente, pero en la mayoría de los lugares las condiciones del suelo son tales que no se pueden cultivar con los aperos de labranza comunes. Con la excepción de los suelos Ansaj, son muy productivos, cuando se usa maquinaria agrícola especial (Simmons, *et al* 1959).

2.3.2 Suelos sobre materiales sedimentarios y metamórficos

Los suelos en este grupo comprenden alrededor de una cuarta parte del área del departamento de Chiquimula. Son poco profundos y ocupan pendientes escarpadas que generalmente no son adaptables a los cultivos limpios. Deben dedicarse a los pastos, los bosques o los cultivos permanentes. Estos suelos han sido divididos en dos sub-grupos, basándose en la clase de material madre. Estos grupos son:

2.3.3 Suelos pocos profundos sobre esquisto

Están solamente los suelos **Chol**. Estos ocupan una pequeña extensión en el departamento de Chiquimula, aunque son suelos extensos en los departamentos del norte.

2.3.4 Suelos poco profundos sobre esquisto arcilloso y caliza

Están los suelos **Subinal** y **Talquesal**. Casi toda el área está bajo bosques o en pastos, más se cultiva algún maíz y otras cosechas. Ocupan relieves escarpados a muy escarpados y están severamente erosionados en muchos lugares. Los suelos Subinal se encuentran en la parte noroeste del departamento, siendo de los más extensos en Chiquimula. Los suelos Talquesal se encuentran en la parte oeste del departamento (Simmons, *et al* 1959).

2.4 Cultivos de importancia en el departamento

La siguiente tabla muestra los cultivos de mayor importancia en el departamento de Chiquimula y su aportación en porcentaje a la producción nacional, los datos fueron obtenidos el informe del MAGA Agro en cifras del año 2014.

Cuadro 1. Producción nacional de los cultivos

| Cultivo | Aporte a la producción Nacional |
|---|--|
| Café (<i>Coffea Arábica</i>) | 8% |
| Frijol (<i>Phaseolus Vulgaris</i>) | 10% |
| Pimiento (<i>Capsicum Annun</i>) | 11% |
| Tomate (<i>Solanum Lycopersicum</i>) | 11% |

Fuente: MAGA, 2014.

2.4.1 Tomate

A. Importancia

Según el informe del MAGA Agro en cifras del año 2014, el área cosechada de tomate en el Departamento de Chiquimula es de 802.29 hectáreas, el cual representa el 8.9 % de la superficie total cosechada, y la producción total es de 783,607 quintales, la cual representa el 11% de la producción nacional total.

El tomate cultivado (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es considerado como una de las hortalizas de mayor importancia en muchos países del mundo, por el gran número de productos que se obtienen. Mundialmente ocupa el segundo lugar en importancia entre las hortalizas debido a su nivel de producción, la cual es superada solamente por el cultivo de la papa (SAGARPA, 2005).

B. Susceptibilidad a *Fusarium* spp

La marchitez vascular producida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen es la principal enfermedad que causa problemas en el cultivo,

disminuye en un 60% el rendimiento y afecta la calidad del producto. Esta enfermedad, la cual se ha reportado en por lo menos 32 países (Jones *et al.*, 1991), prospera en una diversidad de condiciones ambientales desde trópicos secos hasta climas templados (Cai *et al.*, 2003).

2.4.2 Chile Pimiento

A. Importancia

Según el informe del MAGA Agro en cifras del año 2014, el área cosechada de Pimiento en el Departamento de Chiquimula es de 237.59 hectáreas, el cual representa el 11 % de la superficie total cosechada, y la producción total es de 133,276 quintales, la cual representa el 11% de la producción nacional total.

B. Susceptibilidad a *Fusarium spp*

La producción de chile se ve afectada por patógenos en todas sus etapas fenológicas, ocasionando pérdidas en el rendimiento que pueden llegar al 100%. Entre los grupos plaga más importantes están los hongos, bacterias, virus, nematodos e insectos.

Entre los hongos y oomicetos reportados se incluyen los siguientes: marchitez (*Fusarium sp.*), damping-off (*Pythium sp.*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium sp.*), antracnosis en tallos y frutos (*Colletotrichum capsici*, *C. acutatum*), manchas foliares (*Cercospora capsici*, *C. melongenae*), pudrición de frutos (*Alternaria alternata*, *C. capsici*, *C. coccodes*, *C. gloesporoides*), y manchas foliares ocasionadas por *Alternaria sp.*, *Septoria melongenae* y *Cercospora sp* (Seminis, 2006).

2.4.3 Frijol

A. Importancia

Según el informe del MAGA Agro en cifras del año 2014, el área cosechada de Frijol en el Departamento de Chiquimula es de 21031.78 hectáreas, el cual representa el 8.4 % de la superficie total cosechada, y la producción total es de 518,150 quintales, la cual representa el 10% de la producción nacional total.

B. Susceptibilidad a *Fusarium spp*

Los síntomas iniciales de la pudrición de raíces por *Fusarium solani* f. sp. *phaseoli* son la presencia de estrías longitudinales rojizas en el hipocótilo y en la raíz primaria de las plántulas. Conforme progresa la infección todo el sistema radical puede cubrirse de lesiones café rojizas superficiales, en ocasiones se presentan fisuras y la raíz se hace hueca. Si la raíz primaria muere la planta se observa marchita, achaparrada y con defoliación prematura (Abawi, 1989). Los síntomas de pudriciones radicales por *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* pueden confundirse con los de una deficiencia de fósforo, hay amarillamiento y marchitez de las hojas inferiores. Las raíces muestran una coloración café rojiza que puede extenderse al tallo (Abawi, 1989).

2.4.4 Café

A. Importancia

Según el informe (El impacto de la Roya del café en Guatemala) del MAGA, el cultivo del café representa para Guatemala una indiscutible importancia socio-económica como generadora de empleo y divisas, donde 90,000 productores y más de 500,000 trabajadores, y sus familias, dependen directamente de esta actividad, con un efecto multiplicador en la economía de todas las regiones productoras.

Según este mismo informe, la región VII clasificada así por Anacafé (Asociación Nacional del Café en Guatemala) tiene un promedio de 37.8 quintales oro/ha de la cual forma parte el departamento de Chiquimula, esta región presenta el rendimiento más alto de las regiones en el país (MAGA, 2014).

A. Susceptibilidad a *Fusarium spp*

Al momento de sembrar el almacigo de café pueda suceder que tallos enterrados en hoyos muy profundos, terminan en un ambiente que no es favorable para la fisiología de su epidermis, lo que hace que los tejidos se afecten y se conviertan en una vía de entrada para microorganismos del suelo, que al invadir el interior obstruyen el movimiento de agua, nutrientes y hormonas entre la parte aérea y la raíz, ocasionando

la muerte de la planta. Las hojas se parecían con clorosis y epinastia (curvatura hacia abajo), y al extraer la planta del suelo se observa un anillamiento por encima del cuello de la raíz. En su interior, el tronco presenta pudrición, y en algunos casos coloraciones purpuras, indicativo de las infecciones por los hongos del género *Fusarium* (Alvaro L, Gaitan B, Clemencia Villegas G, Carlos A. Rivillas O, Édgar hincapié G, Jaime Arcilla P, 2011).

2.5 *Fusarium* spp.

Fusarium es un hongo filamentoso aislado de plantas y suelo. Se encuentra como microbiota normal en arroz, frijol, soya y otros cultivos. Además de ser un contaminante común y Fitopatógeno. Este género contiene más de 20 especies de las cuales las más comúnmente aisladas son *F. solani*, *F. oxysporum* y *F. moniliforme* (Tangerife, 2011).

Poseen 2 tipos de conidia: macroconidias y microconidias, que varían en forma y número según la especie:

- Macroconidias fusiformes, con septos transversales, producidas por sucesión basipétala en los monofialides y acumuladas en pequeñas masas en la punta de la fialide.
- Microconidias elipsoidales, ovales, subesféricas, piriformes o en forma de clava, producidas por sucesión basipétala en mono y polifialides y acumuladas formando falsas cabezas o en cadenas (Tangerife, 2011).

2.5.1 Distribución

Esta enfermedad se encuentra distribuida en todo el mundo causando grandes pérdidas en el cultivo de tomate, pimiento, melón, entre otros. El hongo sobrevive en restos de cultivo de una temporada a otra y posee estructuras de resistencia que le permiten perdurar en el suelo por espacio de 6 años. Es favorecido por temperaturas cálidas (20°C) asociada a alta humedad relativa (Gonzáles, 2006).

2.5.2 Condiciones favorables para su desarrollo

Es un hongo de temperatura cálidas el desarrollo óptimo se presenta a 20 °C el rango va de 12 a 28°C. Esta temperatura acompañada de alta humedad relativa, días cortos

de baja intensidad lumínica favorecen el desarrollo de la enfermedad. Otros factores son los suelos ácidos, arenosos, con bajo pH, pobres en nitrógeno y alto suministro de potasio.

Las heridas ocasionadas a las raíces por maquinaria o nematodos como es el caso de *Meloidogyne* incógnita aumentan la susceptibilidad al marchitamiento y favorece el desarrollo del hongo (González, 2006).

2.5.3 Sintomatología de plantas

Lo primero que se observa a campo es un amarillamiento en las hojas basales posteriormente se marchitan se secan, pero permanecen adheridas a la planta. Esta sintomatología va progresando hacia la parte superior de la planta a veces sólo toma un sector de la misma. Al comienzo las plantas muestran marchites en las horas más calurosas del día recuperándose al final del mismo, pero finalmente se marchitan y mueren. Las raíces principales y la base del tallo presentan necrosis vascular. Cuando se corta el tallo se observa el sistema vascular de color marrón (González, 2006).

2.5.4 Métodos de control

A. Biofumigación

Se define la Biofumigación como "la acción de las sustancias volátiles producidas en la biodegradación de la materia orgánica en el control de los patógenos de las plantas" (Bello et al. 2000).

La Biofumigación utiliza los gases y otros productos resultantes de la biodegradación de las enmiendas orgánicas y residuos agroindustriales como fumigantes para el control de los organismos patógenos de vegetales (Bello et al. 1999b).

B. Solarización

Constituye una medida erradicativa de los patógenos del suelo. Este procedimiento consiste en cubrir el suelo, previamente regado, con láminas de plástico transparente durante el período en que la radiación solar y las temperaturas son más elevadas. Mediante esta técnica han sido efectivamente controlados patógenos como *Verticillium*

spp, *Rhizoctonia solani*, *P. terrestris*, *Fusarium spp*. Y el nematodo *Pratylenchus thornei*, en diferentes cultivos (Katan et al., 1980).

C. Fungicidas químicos

Los fungicidas son productos químicos utilizados para eliminar o evitar el desarrollo de los hongos que atacan a los cultivos; son empleados ampliamente en la agricultura (Hamlen y Power, 1998; Mora, 2009).

– Bromuro de metilo

El bromuro de metilo, un biocida fumigante de muchos utilizados en la agricultura, es un producto ampliamente utilizado, específicamente para la desinfección del suelo; es un gas inodoro e incoloro se utiliza para fumigar el suelo y sustratos, además para tratamientos post-cosecha, también puede ser utilizado para fumigar estructuras de almacenamiento, invernaderos y equipo de transporte de vegetales (Figueroa, 2016).

2.6 Control biológico

Una medida alternativa para el control de *Fusarium spp* es el control biológico, que se define como la manipulación directa o indirecta por parte del hombre de los agentes vivos que de forma natural tienen la capacidad de control (Nigam y Mukerji, 1988).

Uno de los agentes de control biológico más estudiado y evaluado es el hongo *Trichoderma*, debido a su ubicuidad, facilidad de aislamiento y cultivo, rápido crecimiento en muchos sustratos, control de amplio rango de patógenos, acción como microparásito y alta competencia por alimento y espacio (Wells, 1988).

Los hongos de este género ocupan actualmente un lugar importante dentro de las prácticas de manejo de enfermedades, principalmente para combatir los géneros: *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pytium*, *Phytophthora*, *Fusarium*, entre otros (Stefanova, Leiva, Larrinaga, Coronado, 1999).

2.7 *Trichoderma spp*.

Las especies pertenecientes al género *Trichoderma* se caracterizan por ser hongos saprófitos, que sobreviven en suelos con diferentes cantidades de materia orgánica, los cuales son capaces de descomponerla y en determinadas condiciones pueden ser

anaerobios facultativos, lo que les permite mostrar una mayor plasticidad ecológica. Las especies de *Trichoderma* se encuentran presentes en todas las latitudes, desde las zonas polares hasta la ecuatorial. Esta distribución tan amplia y su plasticidad ecológica están estrechamente relacionadas con la alta capacidad enzimática que poseen para degradar sustratos, un metabolismo versátil y resistencia a inhibidores microbianos. No obstante, se han realizado pocos estudios acerca de la sobrevivencia, establecimiento y proliferación (Infante, Martínez, González, Reyes, 2009).

2.7.1 Taxonomía

El género *Trichoderma* es un excelente modelo para ser estudiado debido a su fácil aislamiento y cultivo, rápido desarrollo en varios sustratos y por su condición de controlador biológico de una amplia gama de fitopatógenos. *Trichoderma* se ubica taxonómicamente en:

Reino: Fungi.

Filo: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Trichoderma*.

Fuente: Kirk, 2017

2.7.2 Mecanismos de acción

En la acción biocontroladora de *Trichoderma* se han descrito diferentes mecanismos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos. Entre estos, los principales son la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis, los que tienen una acción directa frente al hongo Fitopatógenos (Lorenzo, 2001).

Estos mecanismos se ven favorecidos por la habilidad de los aislamientos de *Trichoderma* para colonizar la rizosfera de las plantas. Otros autores han sugerido distintos mecanismos responsables de su actividad biocontroladora, que incluyen, además de los mencionados, la secreción de enzimas y la producción de compuestos inhibidores (Infante, *et al* 2009).

A. Antibiosis

La antibiosis es la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos. Algunos autores opinan que la antibiosis no debe ser el principal mecanismo de acción de un antagonista, ya que existe el riesgo de aparición de cepas del patógeno resistente al antibiótico (Infante, et al 2009).

Sin establecer contacto físico alguno *Trichoderma* puede inhibir el crecimiento de otros hongos mediante la producción de varios metabolitos secundarios volátiles y no volátiles como gliotoxina, viridina y gliovirina.

B. Micoparasitismo

El micoparasitismo es definido como una simbiosis antagónica entre organismos, en el que generalmente están implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, y que se corresponden con la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados (Infante, et al 2009).

Existen cuatro estados de parasitismo en la relación antagónica de *Trichoderma* con otros hongos (HANNAN, 2001):

1. Crecimiento quimiotrófico: El estímulo químico proviene del hongo objeto de control.
2. Reconocimiento específico: Probablemente mediado por lecitinas sobre la superficie celular, tanto del hongo antagónico como del patógeno.
3. Unión y crecimiento de las hifas alrededor del patógeno.
4. Secreción de enzimas líticas que degradan las paredes celulares del hongo Fitopatógeno.

C. Competencia

La competencia constituye un mecanismo de antagonismo muy importante. Se define como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando la utilización de este por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente control biológico como

plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, y por otro lado por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros (Infante, et al 2009).

Si el crecimiento del antagonista provoca la reducción de la población del patógeno, la competencia entre estos puede resultar en control de la enfermedad.

2.7.3 Uso en la agricultura

Trichoderma tiene diversas ventajas como agente de control biológico, pues posee un rápido crecimiento y desarrollo, también produce una gran cantidad de enzimas, inducibles con la presencia de hongos fitopatógenos (Agosin, 1997).

No se conoce que sea patógeno de ninguna planta; sin embargo, es capaz de parasitar, controlar y destruir muchos hongos, nematodos y otros fitopatógenos, que atacan y destruyen muchos cultivos; debido a ello, muchos investigadores le llaman el hongo hiperparásito. Ello convierte al *Trichoderma* en un microorganismo de imprescindible presencia en los suelos y cultivos, y de un incalculable valor agrícola (Agosin, 1997).

2.7.4 Beneficios de *Trichoderma* spp

- Tiene un marcado efecto preventivo de enfermedades de la raíz y el follaje.
- Protege las semillas agrícolas y botánicas de Fitopatógenos.
- Controla patógenos de la raíz (*Pythium*, *Fusarium*, *Rhizoctonia*) Disminuye o elimina la dependencia de fumigantes químicos.
- Promueve el crecimiento de raíces y pelos absorbentes, moviliza nutrientes en el suelo para las plantas, mejorando la nutrición y la absorción de agua.
- Es compatible con Micorrizas, Azotobacter, otros biofertilizantes y con bioagentes controladores de plagas y enfermedades.
- Acelera la descomposición de la materia orgánica.
- Estimula el crecimiento de los cultivos al producir metabolitos que promueven los procesos de desarrollo en las plantas.
- Favorece la proliferación de organismos benéficos en el suelo, como otros hongos antagónicos.

- No necesita plazo de seguridad para recolección de la cosecha (Agosin, 1997).

3. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

El área de producción agrícola en el departamento de Chiquimula según SEGEPLAN es del 2.3% y se ubica principalmente en los municipios de Esquipulas, Ipala y Olopa. Y según el informe que realiza el Ministerio de Agricultura, Ganadería y Alimentación (2014) Agro en cifras 2014 los cultivos más relevantes del departamento para la producción nacional son el cultivo del tomate, chile pimiento, café y frijol.

Las enfermedades en suelo son una de las principales causas de los bajos rendimientos en las producciones de los cultivos mencionados, siendo *Fusarium* uno de los principales hongos que causan dichas pérdidas. *Fusarium* es un hongo cosmopolita que actúa como parásito al desarrollarse sobre plantas vivas, produciendo una marchitez general en las hojas de las plantas debido a que en las raíces principales y en la base del tallo produce necrosis vascular y en ocasiones produce la muerte de la planta (Gonzales, 2006).

Hoy en día la agricultura utiliza diversos métodos para el manejo de *Fusarium*, siendo el más importante el método de control con químicos sintéticos los cuales tienen un alto costo, no son totalmente eficaces y además causan un impacto negativo en el medio ambiente y a la salud humana. Los diversos problemas que ocasionan estos químicos sintéticos han impulsado la búsqueda de otros métodos de control para *Fusarium* como lo es el control biológico haciendo uso de microorganismos antagónicos como *Trichoderma*. Se conoce de la existencia de especies *Trichoderma* que tiene influencia sobre las poblaciones de *Fusarium* spp debido a su eficaz control, capacidad reproductiva, plasticidad ecológica, efecto estimulante sobre los cultivos y recientemente se detectó su acción como inductor de resistencia sistémica en la planta a diferentes patógenos incluyendo a *Fusarium*.

Con la puesta en marcha de la presente propuesta se exploró la existencia de *Trichoderma* y *Fusarium* en el Departamento de Chiquimula en los cultivos de importancia económica y a la vez se aislaron, purificaron y caracterizaron a nivel de laboratorio las cepas encontradas tanto de *Trichoderma* como de *Fusarium* a fin de presentar una base para futuras evaluaciones de dichas cepas.

4. OBJETIVOS

4.1 Objetivo general

- Realizar una prospección de *Trichoderma* y *Fusarium* en cultivos de importancia económica del Departamento de Chiquimula, Guatemala.

4.2 Objetivos específicos

- Aislar *Trichoderma* y *Fusarium* de suelo y plantas obtenidas en el Departamento de Chiquimula, Guatemala.
- Clasificar los aislamientos por características cualitativas del cultivo *in vitro*.
- Caracterizar morfológicamente las cepas de *Fusarium* y *Trichoderma* encontradas en los sitios de interés en el Departamento de Chiquimula.

5. METODOLOGÍA

5.1 Ambiente o lugar de trabajo

La investigación se realizó en áreas productivas de distintos municipios del Departamento de Chiquimula. Los municipios se definieron con base al informe Agro en cifras 2014 que presentó el MAGA. Este informe indica cuáles son los cultivos que más aportan a la producción nacional en el Departamento de Chiquimula, por lo que se estableció los principales municipios productores de estos cultivos.

En el municipio de Esquipulas y Olopa se muestreó el cultivo de café ya que estos dos son los principales productores en el departamento.

Y en el municipio de Ipala se muestreó el cultivo de tomate, chile pimiento y frijol, siendo este municipio el principal productor de granos básicos y hortalizas en el departamento.

Es importante mencionar que según SEGEPLAN el área de vocación agrícola en el departamento es únicamente del 2.3 % y está ubicada en su mayoría en los tres municipios anteriormente mencionados.

5.2 Unidades de análisis

Las unidades de análisis para el caso de *Trichoderma* fueron las muestras de suelo y para el caso de *Fusarium* fueron las plantas sintomáticas en los sitios de interés.

Una vez que se realizó el aislamiento de los hongos a partir de las muestras, las unidades de análisis fueron las cepas de *Trichoderma* y *Fusarium* cultivadas *in vitro* obtenidas de las muestras de suelo y tejido.

5.3 Tipo de Investigación

Se realizó un estudio exploratorio con un enfoque mixto (cualitativo y cuantitativo) en la prospección de *Trichoderma* y *Fusarium* en el departamento de Chiquimula, Guatemala (Hernández, Fernández, Baptista, 2003).

5.4 Instrumento

Se utilizó una boleta para la recolección de información en la toma de muestra de suelo, la cual se muestra a continuación:

| Boleta de muestro de suelo de <i>Fusarium sp.</i> Y <i>Trichoderma sp.</i> | | | | | | | | |
|--|-----------------------|--------------------|----------------------------------|---------|---------|------------|----------|-----------------------------------|
| Tomada por: _____ Fecha de toma de muestra: _____ | | | | | | | | |
| Ubicación de la muestra: _____ | | | | | | | | |
| Lote de muestra | Edad de la plantación | No. De submuestras | Características georeferenciales | | | Cobertura | | Características físicas del suelo |
| | | | Longitud | Latitud | Altitud | Con sombra | Expuesto | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |
| | | | | | | | | |

5.5 Procedimiento

5.5.1. Fase de campo

A) Muestreo

El método de muestreo que se utilizó en los sitios de interés de cada cultivo fue el de muestreo dirigido. Cada sitio de interés se definió con base en los cultivos de mayor importancia económica de cada municipio. Además, cada cultivo que se muestreó presentaba alguna susceptibilidad al patógeno de interés.

Para *Trichoderma* las muestras fueron el suelo rizosférico, suelo que se obtuvo de la zona rizosférica de cada planta haciendo uso de una pala recta en un rango de 15-20 cm de profundidad, cubriendo una periferia de 15 cm circundante al tallo de la planta recolectando 1 kg de muestra (Luna, 2012).

Para el caso de *Fusarium* las muestras fueron las plantas sintomáticas.

Junto con la muestra se tomaron datos de las variables medioambientales del área de producción.

De cada sitio de muestreo, se colectaron 2 muestras compuestas de cinco submuestras de un 1kg de suelo cada una, las cuales se mezclaron y se homogenizaron, tomándose un 1kg de la mezcla final como muestra representativa del sitio (Arzate-Vega et al., 2006). Cada submuestra se tomó de los primeros 20 centímetros de profundidad, eliminando la materia orgánica superficial (Aceves, Sánchez, Flores, Barrios, Alarcón, 2013).

Las muestras obtenidas se transportaron en bolsas de plástico al laboratorio de la FCAA. Las muestras se conservaron a temperatura ambiente hasta su utilización.

5.5.2. Fase de laboratorio

A) Aislamiento de *Trichoderma* y *Fusarium*

En el laboratorio, los aislamientos se realizaron directamente del suelo por el método de dilución en placa (Nelson et al., 1983) en el laboratorio de fitopatología de la Facultad de Ciencias Ambientales y Agrícolas de la Universidad Rafael Landívar.

Este método consistió en la preparación de una serie de diluciones de una muestra de suelo en un diluyente, esparciendo una alícuota de una dilución sobre la superficie de un medio de cultivo sólido e incubando las placas a 25°C, 12 h luz/oscuridad y 40% de humedad relativa por siete días (Aceves et al., 2013). Este método se fundamenta en que cualquier célula viable inoculada en un medio de cultivo se multiplica y produce datos de fácil identificación, como la formación de colonias en placas de agar (Ramírez, Luna, Mejía, Velazques, Tsuki, Vierna y Muggenburg, 1992).

Procedimiento para *Trichoderma*:

- 1) En condiciones estériles (trabajar en campana de flujo laminar), se adicionó 1 g del suelo a una botella de dilución o matraz con tapa de rosca con 99 ml de agua destilada. Se dispersó el suelo y homogenizó con un agitador magnético.

2) Se tomó 1 ml y se transfirió a un tubo con 9 ml de solución salina estéril. De ahí se hizo una dilución sucesiva para completar un total de tres diluciones, se utilizó una jeringa o pipeta estéril diferente en cada paso. Los tubos se agitaban de forma constante en cada paso.

3) Se tomó 0.1 ml de la dilución seleccionada colocándola en el centro de la superficie del medio de cultivo seleccionado para el crecimiento. Realizándose esto por triplicado y con tres diluciones próximas para asegurar la cuenta.

4) Se extendió la alícuota en la superficie de la placa con una varilla de vidrio previamente esterilizada (inmersa en alcohol y pasándola por la flama del mechero permitiendo su enfriamiento). Para asegurar una distribución homogénea por toda la superficie del medio. El medio a utilizar tanto para *Fusarium* como para *Trichoderma* fue un medio PDA (Kubicek, C y Harman, G; 2002).

5) las cajas Petri se incubaron a 25°C en ausencia de luz.

Procedimiento para *Fusarium*:

El método más común para aislar a los patógenos de las hojas infectadas y de otros órganos de la planta y que fue el que se utilizó es aquel en el que se seleccionan varios cortes pequeños de 5mm a 10mm a partir del borde de la lesión infectada, a fin de que contenga tejidos enfermos y tejidos al parecer sanos. Esos cortes se colocan en un erlen meyer para eliminar todos los contaminantes de superficie utilizando alcohol al 70% y cloro al 1% para su desinfección, primero se les agrega agua estéril para una primera limpieza, luego se les agrega alcohol durante 1 minuto y medio, luego nuevamente una limpieza con agua estéril, después se les agrega el cloro durante 3 minutos y por último se lavan con agua estéril por última vez. Posteriormente los cortes se secan con trozos limpios de papel estéril durante 2 horas, y por último se colocan sobre el medio nutritivo (PDA) y por lo común se utilizan de 3 a 5 por caja de Petri.

Los cortes esterilizados en su superficie durante menos tiempo generalmente contienen al patógeno y a varios contaminantes, mientras que los que se han esterilizado durante más tiempo no permiten el desarrollo de cualquier tipo de microorganismos debido a

que han sido destruidos por el esterilizante de superficie. Sin embargo, algunos de los cortes depositados en los esterilizante de superficie durante periodos intermedios permitirán que sólo el patógeno se desarrolle y forme colonias puras en el cultivo, ya que se ha permitido que los esterilizantes actúen el tiempo suficiente para destruir a todos los contaminantes de superficie, pero no el tiempo necesario para destruir al patógeno, el cual se ha propagado desde el tejido enfermo hasta el tejido sano. Posteriormente, las colonias del patógeno, se purifican asépticamente para su posterior estudio (Agrios, 1996).

B) Caracterización morfológica

Al tener los cultivos se realizó una caracterización morfológica, donde se describió a detalle las principales características de los cultivos, como lo son crecimiento micelial y el color, textura y pigmento de las colonias. Además, empleando un microscopio, se describieron las estructuras principales de estos hongos (conidios, conidióforos, hifas, fialides, micronidias, macronidias, entre otras). También se midió el crecimiento micelial y se contabilizaron las colonias formadas.

C) Almacenamiento de los aislamientos

Los aislamientos caracterizados se colocaron a 25°C en tubos inclinados con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) hasta su uso (Aceves *et al.*, 2013).

1.6. Análisis de la información

Para la investigación se realizó una descripción de las características cualitativas, tanto macroscópicas como microscópicas de cada una de las cepas aisladas y purificadas de *Fusarium* y de *Trichoderma*.

6. RESULTADOS Y DISCUSION

6.1 Aislamiento de cepas de *Fusarium* y *Trichoderma*

En el siguiente cuadro se muestran los aislamientos de *Fusarium* y *Trichoderma* en determinados sitios de interés dentro del departamento de Chiquimula, Guatemala.

Cuadro 2. Aislamientos de *Fusarium* y *Trichoderma* obtenidos en muestreo de cultivos de interés en el departamento de Chiquimula

| No. Muestra | Localidad | Geo referencia | Fecha | Cultivo | Muestreo en suelo | Muestreo en tejido vegetal | <i>Trichoderma</i> | <i>Fusarium</i> |
|-------------|----------------------------|-------------------------------|------------|--|-------------------|----------------------------|--------------------|-----------------|
| 1 | El Municipio de Ipala | WO 89 32 37.9 | 23/07/2016 | Tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) | ✓ | ✓ | X | X |
| 2 | El Municipio de Ipala | WO 89 36 22.6 N14 32 37.9 | 23/07/2016 | Chile pimiento (<i>Capsicum annum</i>) | ✓ | X | X | X |
| 3 | El Municipio de Esquipulas | WO 89 21 07 N14 33 23.3 | 24/07/2016 | Café (<i>Coffea arábica</i>) | ✓ | X | X | X |
| 4 | El Municipio de Ipala | WO 89 36 20 N 14 32 18 | 23/07/2016 | Frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>) | ✓ | X | X | X |
| 5 | El Municipio de Ipala | WO 89 32 37.9 N 14 32 37.4 | 17/10/2016 | Tomate | ✓ | ✓ | ✓ | ✓ |
| 6 | El Municipio de Ipala | WO 89 36 22.6 N14 32 37.9 | 17/10/2016 | Chile pimiento | ✓ | X | X | X |
| 7 | El Municipio de Esquipulas | WO 89 21 07 N14 33 23.3 | 17/10/2016 | Café | ✓ | X | X | X |
| 8 | El Municipio de Ipala | WO 89 36 20 N 14 32 18 | 17/10/2016 | Frijol | ✓ | X | X | X |

Todas las muestras de los cultivos de tomate, chile pimiento y frijol se tomaron en el municipio de Ipala ya que estos son los principales productores en el Departamento, en cuanto al cultivo de café se tomaron en el municipio de Esquipulas ya que este también es el principal productor de dicho cultivo en el Departamento. Se eligieron estos dos

municipios ya que estos son los cultivos de mayor importancia económica tanto para los municipios como para el departamento de Chiquimula. La principal razón por la que hace años se cultiva tomate, chile pimiento y frijol en el municipio de Ipala es que este cumple con los requerimientos edafoclimáticos necesarios para el óptimo desarrollo de estos cultivos. De igual manera el municipio de Esquipulas posee los mejores suelos y clima dentro del departamento para el desarrollo de los cafetos.

Según se puede observar en el cuadro 1 en la primera fecha de muestreo se tomaron muestras de suelo de todos los cultivos para determinar la presencia de *Trichoderma* y únicamente se tomó una muestra de tejido vegetal en el cultivo de tomate para determinar la presencia de *Fusarium* debido a que es el único cultivo que presentó síntomas característicos de esta enfermedad los cuales fueron: clorosis en las hojas, marchitez, necrosis en los haces vasculares y nódulos de raíz.

Una de las principales razones por las cuales no se observaron síntomas de *Fusarium* en los cultivos de chile pimiento, café y frijol fue la falta de humedad en el suelo ya que este factor es crucial para el desarrollo de la mayoría de hongos Fitopatógenos y de *Fusarium*.

En el primer muestreo no se obtuvo aislamiento de *Fusarium* en tomate que fue el único cultivo enfermo, asimismo para *Trichoderma* no se obtuvo ningún aislamiento de suelo. La razón por la cual no se pudo aislar ninguno de los hongos fue la presencia de una bacteria (*Ralstonia solanacearum*), que dada la sintomatología hasta que se analizó en laboratorio se pudo confirmar. Por este motivo se realizó un ajuste en la metodología del aislamiento en suelo y en tejido y por consiguiente se realizó un segundo muestreo.

En la segunda fecha de muestreo al igual que en la primera se tomaron muestras de suelo de todos los cultivos para determinar la presencia de *Trichoderma* y únicamente se tomó una muestra de tejido vegetal en el cultivo de tomate para determinar la presencia de *Fusarium* por la misma razón que fue el único cultivo que presentó síntomas de esta enfermedad.

En este segundo muestreo si se realizó exitosamente el aislamiento de *Fusarium* a partir de tejido vegetal del cultivo de tomate. En cuanto a *Trichoderma* resultó positivo

únicamente en el cultivo de tomate en la misma finca donde se encontró *Fusarium*, en lo que respecta a los otros cultivos dieron negativo para *Trichoderma*.

6.2 Cultivos *in vitro* de *Fusarium* y *Trichoderma*

Para corroborar que los hongos aislados correspondieran a *Fusarium* se procedió a realizar varios montajes donde se observaron las estructuras del hongo, principalmente macroconidias, las que sin duda confirmaron la presencia del género *Fusarium*. Además de confirmar la presencia del hongo se clasificaron los aislamientos en tres cepas de cultivo distintas por el hecho de ser tres diferentes tipos de colonia según sus características tales como color, forma y crecimiento.

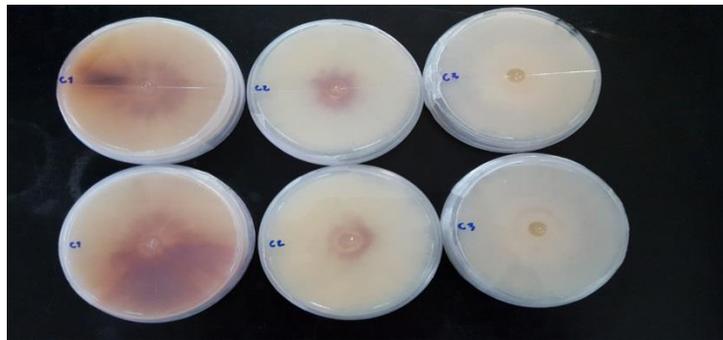


Figura 1. Colonias de *Fusarium* en tomate a partir de tejido vegetal en el municipio Ipala

De igual forma para *Trichoderma* se procedió a realizar varios montajes donde se observaron las estructuras del hongo, las cuales demostraron ser características de este género. También se clasificaron por las características cualitativas de la colonia, al final se clasificaron en dos tipos de colonia según sus características tales como color, forma y crecimiento.



Figura 2. Colonias de *Trichoderma* en tomate a partir de suelo en el municipio de Ipala

6.3 Caracterización morfológica de *Fusarium* y *Trichoderma* a partir de cepas aisladas

Una vez que se aislaron y purificaron las colonias de ambos hongos se procedió a realizar una caracterización detallada a nivel macroscópico y microscópico.

6.3.1 Caracterización de las colonias de *Fusarium*

Una vez que se aislaron y purificaron las colonias de *Fusarium* se procedió a realizar una caracterización tomándose en cuenta principalmente las siguientes características macroscópicas: color, pigmento, forma, textura y el crecimiento micelial de la colonia. Y en cuanto a las características microscópicas se tomó a consideración las siguientes: tipos de hifas, conidióforos, conidios, macroconidios, microconidios y tipo de micelio.

- **Colonia 1 de *Fusarium***

Esta colonia crece dando un color blanco, produciendo un pigmento color corinto, el micelio crece uniformemente y presenta un color blanco algodonoso. A nivel del microscopio se observa que el micelio está formado por hifas septadas y los conidióforos presentan racimos de macroconidias. Se observan también abundantes microconidias.

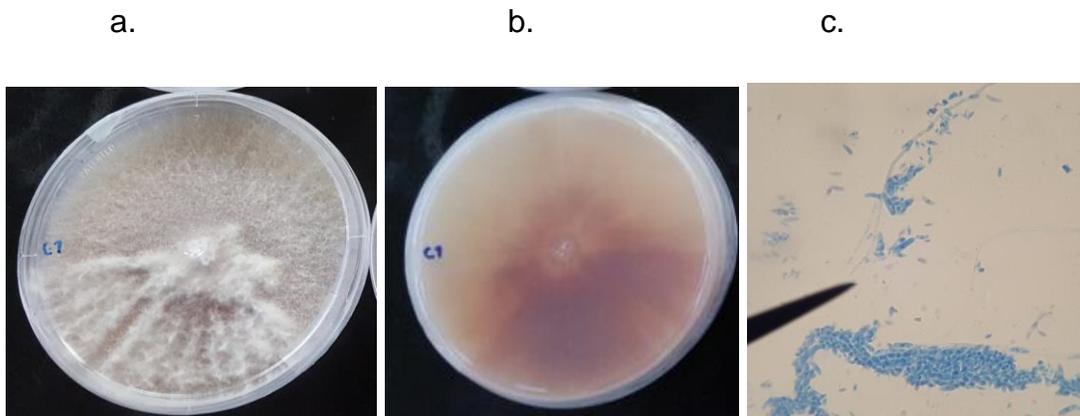


Figura 3. Caracterización **3 a.** Características macroscópicas frontales de *Fusarium* C1 **3b.** Características macroscópicas al envés de *Fusarium* C1 **3c.** Características microscópicas de *Fusarium* C1

- **Colonia 2 de *Fusarium***

Esta colonia crece dando un color blanco, produciendo un ligero pigmento color fucsia en el centro de la caja petri, el micelio crece uniformemente y presenta un color blanco algodonoso. A nivel del microscopio se observa micelio que está formado por hifas septadas, muchas macroconidias septadas en forma de bananitos y abundantes microconidias.

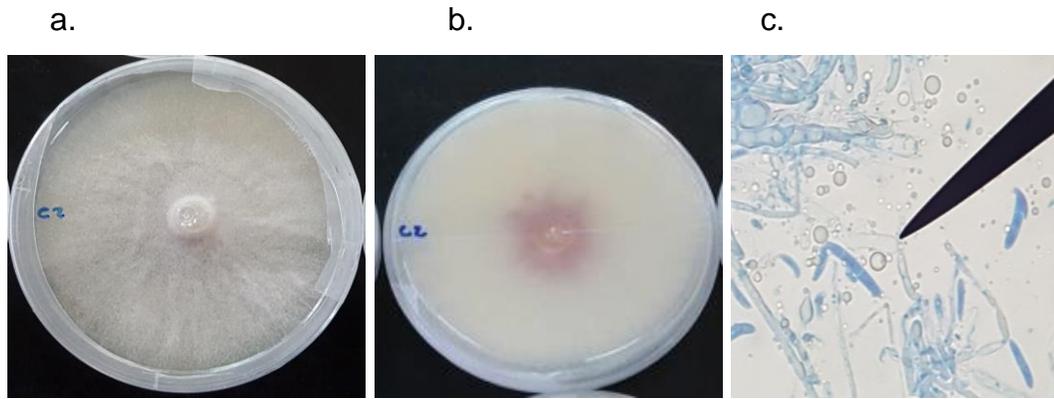


Figura 4.4 a. Características macroscópicas frontales de *Fusarium* C2 **4b.** Características macroscópicas al envés de *Fusarium* C2 **4c.** Características microscópicas de *Fusarium* C2

- **Colonia 3 de *Fusarium***

Esta colonia crece dando un color blanco, no produce ningún tipo de pigmento en su crecimiento micelial en la caja petri, el micelio crece uniformemente y presenta un color blanco algodonoso. A nivel del microscopio se observan el muchas macroconidias septadas en forma de bananitos y abundantes microconidias.

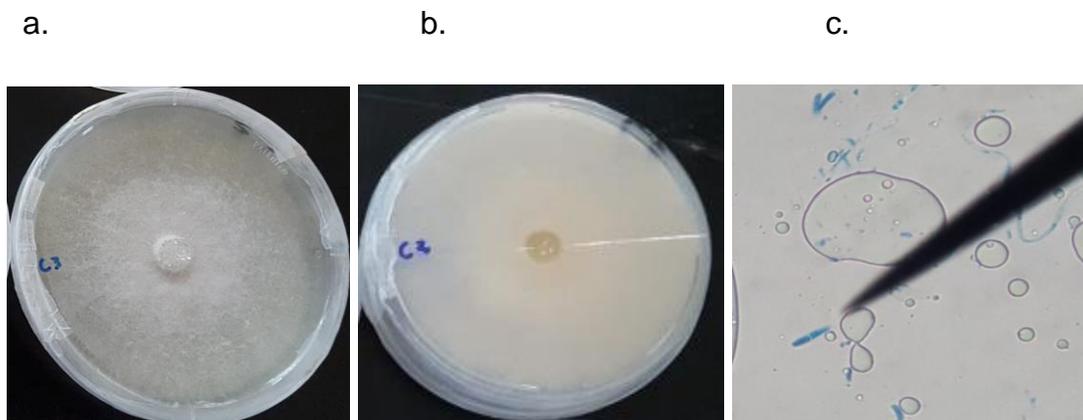


Figura 5.5 a. Características macroscópicas frontales de *Fusarium* C3 **5b.** Características macroscópicas al envés de *Fusarium* C3 **5c.** Características microscópicas de *Fusarium* C3

6.3.2 Caracterización de las colonias de *Trichoderma*

Para la caracterización de las colonias *Trichoderma* se tomó en cuenta las siguientes características macroscópicas: color, pigmento, forma, textura y el crecimiento micelial de la colonia. Para las microscópicas se consideraron las siguientes: tipo de micelio, hifas, conidióforos, fialides, conidios.

- **Colonia 1 de *Trichoderma***

Esta colonia al principio crece dando un color blanco y se torna a un color verde amarillento, el micelio crece rápido, de forma circular y presenta una textura algodonosa, al llenar la caja petri se observan un micelio de color amarillo y blanco al centro. A nivel microscópico se observa micelio hialino, conidióforos hialinos ramificados, fialides simples, abuntandes conidios ovalados colores verde amarillento y unicelulares. *Trichoderma* se caracteriza por crecer y ramificarse desarrollando típicas hifas, de 5 a 10 μm de ancho (Martínez, et al 2013).

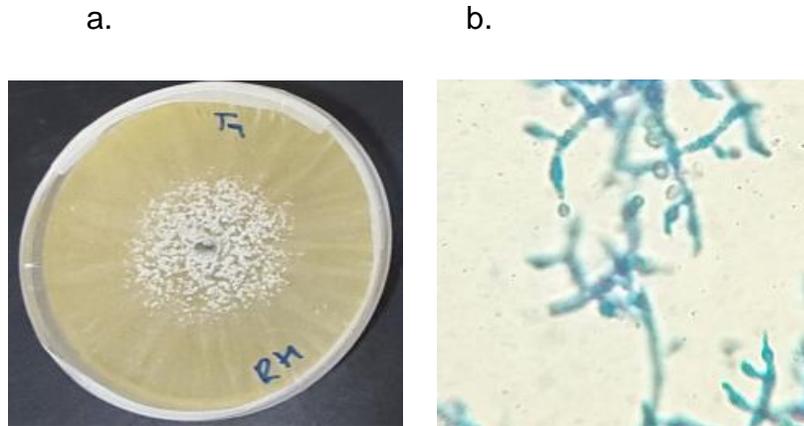


Figura 6. 6 a. Características macroscópicas frontales de *Trichoderma* C1 **6b.** Características microscópicas de *Trichoderma* C1

- **Colonia 2 de *Trichoderma***

Esta colonia al principio crece dando un color blanco y se torna a un color verde oscuro, el micelio crece rápido, de forma circular y presenta una textura algodonosa, al llenar la caja petri se observan anillos concéntricos de color verde y blanco. A nivel microscópico se observa micelio hialino, conidióforos hialinos ramificados, fialides compuestas, abundantes conidios colores verdes oscuros y unicelulares. Al crecer también desarrolla y ramifica hifas, de 5 a 10 μm de ancho (Martínez, et al 2013).

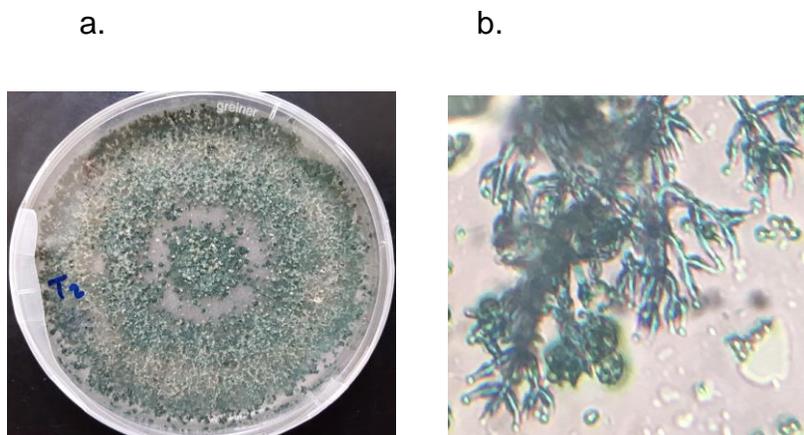


Figura 7. 7 a. Características macroscópicas frontales de *Trichoderma* C2 **7b.** Características microscópicas de *Trichoderma* C2

6.3.3 Crecimiento micelial de *Fusarium* y *Trichoderma*

Se realizó una prueba para observar el crecimiento micelial de las diferentes cepas que se aislaron en un plazo de diez días, la cual se observa en la siguiente figura 8.

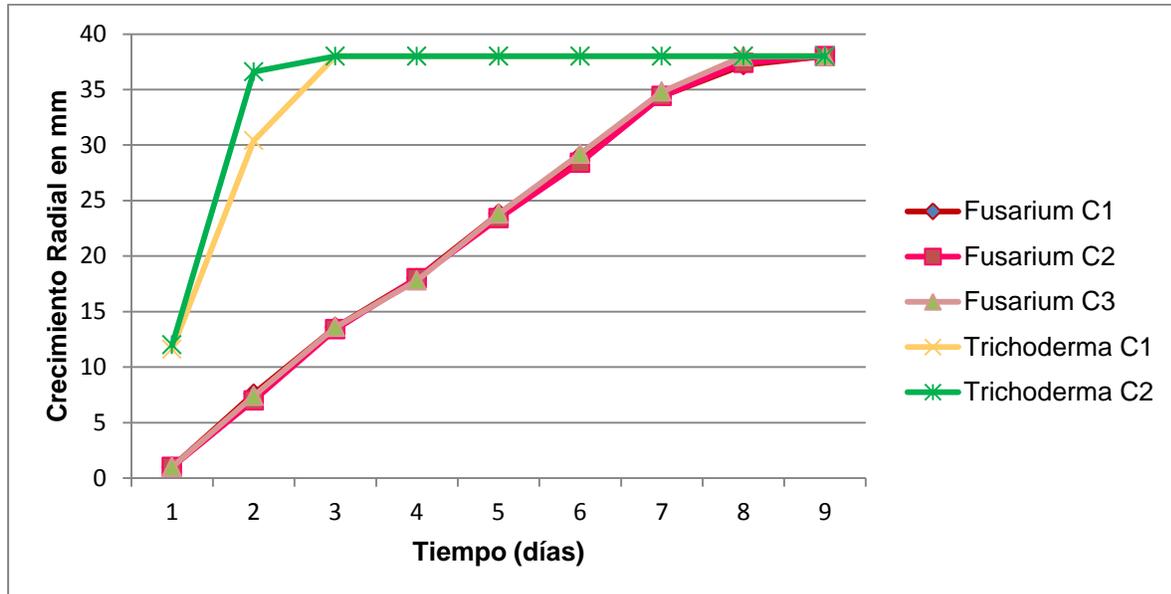


Figura 8. Comparación del crecimiento micelial de las cepas aisladas

Al realizar la prueba del crecimiento micelial de las cepas aisladas de cada género se determinó que el crecimiento micelial de *Trichoderma* es tres veces más rápido que el crecimiento micelial de *Fusarium* lo cual demuestra el potencial en cuanto al crecimiento y desarrollo del género *Trichoderma* en un medio rico en nutrientes o un medio viable para su reproducción.

Cuadro 3. Área bajo la curva del desarrollo micelial de las cepas aisladas

| Microorganismo | Número de Cepa | Método utilizado | Área bajo la curva |
|--------------------|----------------|------------------|--------------------|
| <i>Fusarium</i> | Cepa 1 | Trapezio | 32.857 |
| <i>Fusarium</i> | Cepa 2 | Trapezio | 27.429 |
| <i>Fusarium</i> | Cepa 3 | Trapezio | 33.236 |
| <i>Trichoderma</i> | Cepa 1 | Trapezio | 57.143 |
| <i>Trichoderma</i> | Cepa 2 | Trapezio | 61.857 |

El área bajo la curva es indicador integral de mucha utilidad, que en este caso nos da la posibilidad de cuantificar el crecimiento micelial de cada cepa y además conocer la diferencia en el crecimiento entre las cepas encontradas. Las cepas de *Fusarium* completaron el llenado de las cajas Petri en nueve días, sin embargo, solo se tomó en cuenta los datos de los primeros tres días de crecimiento micelial debido a que este fue el tiempo en que las cepas de *Trichoderma* llenaron las cajas, para así poder hacer una comparación exacta en el crecimiento micelial de ambos microorganismos.

El área bajo la curva en el crecimiento para las dos cepas de *Trichoderma* resultó ser similar y además 1.5 veces mayor al área de las cepas de *Fusarium* que también tenían un área similar entre ellas. Esto es algo positivo y que caracteriza a los organismos utilizados como agentes de control biológico como lo es en el caso de *Trichoderma*.

6.4 Conservación de cultivos *in vitro*

En los siguientes cuadros se puede observar los diferentes tipos de colonias y su respectiva ilustración de su almacenamiento en tubos viales.

Cuadro 4. Conservación de las cepas de *Fusarium* en tomate

| Colonia | Almacenamiento |
|-----------|--|
| Colonia 1 |  |
| Colonia 2 |  |

| | |
|-----------|--|
| Colonia 3 |  |
|-----------|--|

Cuadro 5. Conservación de las cepas de *Trichoderma* en tomate

| Colonia | Almacenamiento |
|-----------|---|
| Colonia 1 |  |
| Colonia 2 |  |

Para la conservación de las diferentes cepas de cultivo se trasladó el hongo de cajas Petri a viales con agua estéril y a viales con PDA, por medio de una siembra de micelio para un mejor y más prolongado tiempo almacenamiento. Las condiciones en las que se conservó son las siguientes: en placas invertidas, a temperatura ambiente y sin luz.

7. CONCLUSIONES

- Se realizó una prospección de *Trichoderma* y *Fusarium* en cultivos de importancia económica en el Departamento de Chiquimula, Guatemala.
- En el único sitio de muestreo en el que se obtuvieron aislamientos tanto de *Fusarium* como de *Trichoderma* fue en el municipio de Ipala en el cultivo de tomate. En total se obtuvieron tres aislamientos para *Fusarium* y dos para *Trichoderma*.
- De los aislamientos obtenidos se identificaron tres cepas distintas para *Fusarium* y dos cepas para *Trichoderma* por las características cualitativas de las colonias en medio de cultivo.
- Las características cualitativas microscópicas que se observaron en las cepas aisladas tales como el tipo micelio, conidióforos, macroconidias y microconidias para *Fusarium* y tipo de micelio, conidióforos, fialides, conidias e hifas para *Trichoderma* resultaron ser idénticas a las características pertenecientes a los géneros *Fusarium* y *Trichoderma* a nivel microscópico.
- Las cepas aisladas de *Trichoderma* mostraron tener un crecimiento micelial tres veces más rápido que las de *Fusarium* en el mismo medio nutritivo.

8. RECOMENDACIONES

Determinar especies de *Trichoderma* y *Fusarium* aisladas en el municipio de Chiquimula, a través de métodos modernos de laboratorio como lo es la biología molecular.

Evaluar el potencial de las cepas aisladas de *Trichoderma* como un organismo antagonista sobre las cepas aisladas de *Fusarium* y así determinar su potencial como agente de control biológico.

9. BIBLIOGRAFÍA

- ABAWI, G. S.; PASTOR, M. A.C. 1990. La podredumbre del frijol en América Latina y África: diagnóstico, metodologías de investigación y estrategias de manejo Cali, Colombia. Centro Internacional de Agricultura Tropical (CIAT).
- Agamez Elkin Yabid, Ramos R., I. Zapata Navarro, L. E. Oviedo Zumaqué, J. L., Barrera Violeth (2008) Evaluación de sustratos y procesos de fermentación sólida para la producción de esporas de *Trichoderma* sp. Vol. 10. Diciembre 2008.
- Agosin, E.; Volpe, D.; Muñoz, G.; San Martín, R.; Crawford, A. (1997). Efecto de las condiciones de cultivo y la vida útil de las esporas del biocontrolagente *Trichoderma harzianum*.
- Agrios, G. (1996). Fitopatología. Segunda Edición. Limusa, México. 838p.
- Alvaro, L; Gaitan, B; Clemencia Villegas, G; Carlos, A; Rivillas, O; Édgar hincapié, G; Jaime Arcilla, P. (2011). Almacigos de café: calidad fitosanitaria, manejo y siembra en el campo. Avances técnicos, cenicafé.
- Arzate–Vega, J., Michel–Aceves, A.C., Domínguez–Márquez, V.M. y Santos–Eméstica, O.A. 2006. Antagonismo de *Trichoderma* spp., sobre *Mycosphaerella fijiensis* Morelet, agente causal de la sigatoka negra del plátano (*Musa* sp.) in vitro e invernadero. *Revista Mexicana de Fitopatología* 24:98–104.
- Asero J. y M. Suquilanda (2007) Evaluación de *Trichoderma harzianum* y *Penicillium* sp. en el control de "oidio" (*Sphaeroteca pannosa*) en rosas (*Rosa* sp.) variedad AALSMER GOLD. ASCÁZUBI, PICHINCHA, ECUADOR - 2007*.
- Michel-Aceves, Alejandro Casimiro, Otero-Sánchez, Marco Antonio, Solano-Pascacio, Leticia Yuridia, Ariza-Flores, Rafael, Barrios-Ayala, Aristeo, & Rebolledo-Martínez, Andrés. (2009). Biocontrol in vitro con *Trichoderma* spp. de *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *F. oxysporum* Schlecht., Agentes Causales de la "Escoba de Bruja" del Mango (*Mangifera indica* L.). *Revista mexicana de fitopatología*, 27(1), 18-26.

Recuperado en 25 de marzo de 2017, de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092009000100003&lng=es&tlng=es.

Bello, A.; J.A. López-Pérez; L. Díaz-Viruliche; R.Sanz; M.Arias. 1999b. Biofumigación y recursos locales como alternativas al metilbromuro. Taller Internacional "Alternativas al Bromuro de Metilo para los Países del Sur de Europa" 7-10 Diciembre, Heraclion, Creta, Grecia, 17 p.

Bello, A.; J.A. López-Pérez; L. Díaz-Viruliche; R.Sanz. 2000c. Biofumigación, solarización y control de nematodos. XXV Simposio Internacional de Nematología, 2-7 de abril de 2000, Herzliya, Israel.

Bueno, R. (2013). Diferenciación de hábitats en las aquilegias ibéricas: implicaciones en la radiación adaptativa del género. (Tesis). Universidad de Jaén. Ciencias Experimentales, España.

Camacho, B., Pineda, J., & González, H. (2013). SOLARIZACIÓN Y ABONOS VERDES PARA EL CONTROL INTEGRADO DE *Pyrenochaeta terrestris* (HANSEN) EN CEBOLLA. *Bioagro*, 25(1), 65-70.

Cai, G., Gale, I.R., Scheider, R.W., Kistler, H.C., Davis, R.M., Elias, K.S., and Miyao, E.M. 2003. Origin of race 3 of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* at a single site in California. *Phytopathology* 93:1014–1022.

Charles S. Simmons, José Manuel Tárrano T., José Humberto Pinto Z. (1959). *Clasificación de Reconocimiento de los Suelos de la Republica de Guatemala*. Guatemala: JOSE DE PINEDA IBARRA.

Castellanos, G.; Jara, C.; Mosquera, G. (2011). Guía práctica 4: *Fusarium oxysporum* (en línea). CIAT. Colombia. No. 375. Consultado 4 de Abril del 2016. Disponible en: http://ciat.cgiar.org/wp-content/uploads/2013/04/guia_practica4.pdf#page=1

El Protocolo de Montreal relativo a las Sustancias que Agotan la Capa de Ozono. La Evolución del Protocolo de Montreal. Disponible en: Programa de las Naciones Unidas para el Medio Ambiente. Secretaría del Ozono. Consultado el 18 de febrero de 2016.

Figueroa, H. BUSQUEDAS DE ALTERNATIVAS AL BROMURO DE METILO GUATEMALA, C.A. (En línea). Secretaria nacional de ciencia y tecnología (SENACYT). Consultado el 22 de febrero de 2016. Disponible en: <http://glifos.concyt.gob.gt/digital/fodecyt/fodecyt%201997.39b.pdf>

Gonzales, P. (2006). Enfermedades del tomate (En línea). Facultad de agronomía. Montevideo, Uruguay. Universidad de la República de Uruguay. Consultado el 28 de Febrero de 2016. Disponible en: http://www.pv.fagro.edu.uy/fitopato/enfermedades/Fusarium_tom.html

González, I., Infante, D., Peteira, B., Martínez, B., Arias, Y., González, N., & Miranda, I. (2011). CARACTERIZACIÓN BIOQUÍMICA DE AISLAMIENTOS DE *Trichoderma* spp. PROMISORIOS COMO AGENTES DE CONTROL BIOLÓGICO. II. EXPRESIÓN DE ACTIVIDAD GLUCANASA. *Revista De Protección Vegetal*, 26(1), 23-29.

Hannan, G.E. 2001. *Trichoderma* sp., incluyendo *T. Harzianum*, *T. viride*, *T. Koningil*, *T. hamatum* y otros spp.

Hamlem, R. A. y Power, R. J. 1998. Distribución de las respuestas de sensibilidad a cymoxanil dentro de las poblaciones globales de *Phytophthora infestans*. *Ciencia de Plaguicidas*. 53, 101 - 103.

Harman, G.; Kubicek, C. (2002). *Trichoderma* and *Gliocladium* Basic biology, taxonomy and genetics Volume 1. Taylor & Francis, Estados Unidos, 278p.

Hernández, R., Fernández, C y Baptista P. (2006). Metodología de la investigación. (4ta. Edición) México: Editorial McGraw-Hil.

Instituto de Investigación Económicas y Sociales de la Universidad Rafael Landívar; ONUMUJERES. Estudio de potencial económico y propuesta de mercadeo territorial del departamento de Chiquimula. Guatemala, Guatemala: 2012. 110p. (Gráficos, Ilustraciones, Mapas)

Infante, Danay, Martínez, B, González, Noyma, & Reyes, Yusimy. (2009). MECANISMOS DE ACCIÓN DE *Trichoderma* FRENTE A HONGOS FITOPATÓGENOS. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14-21. Recuperado en 25 de marzo de 2017, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002&lng=es&tlng=es.

Katan, J., I. Roten, Y. Finkel y J. Daniel. 1980. Solares del control de la raíz rosada y otras enfermedades transmitidas por el suelo en cebollas. *Phytoparasitica* 8 (1): 39 - 50.

Kirk P.M. (2017). Especie Fungorum (versión enero 2016). En: Species 2000 & ITIS Catalog of Life, Lista de control anual 2016 (Roskov Y., Abucay L., Orrell T., Nicolson D., Flann C., Bailly N., Kirk P., Bourgoin T., DeWalt RE, Decock W., De Wever A., eds). Recursos digitales en www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2016. Especie 2000: Naturalis, Leiden, Países Bajos. ISSN 2405-884X. Lai, R. 1974. La temperatura del suelo, la humedad del suelo y el rendimiento de maíz de los suelos tropicales cubiertos y no embolsados. *Plantas y suelos* 40: 129 - 143.

Lorenzo N. Prospección de hongos antagonistas en la provincia de Cienfuegos. Efectividad y posibilidades de reproducción de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. Tesis en opción al título de Master en Protección Vegetal Universidad Agraria de La Habana. 2001

Luna, H. (2012). Densidad poblacional de los hongos micorrizicos arbusculares en suelos agrícolas aplicados con composta. Tesis Doc. Tlaxcala, Mexico. IPN. 113p.

- MAGA. (2015). Agro en Cifras 2014. (En línea). Consultado el 28 de Febrero de 2016. Disponible en: <http://web.maga.gob.gt/download/1agro-cifras2014.pdf>
- MAGA. (2014). El impacto de la Roya del café en Guatemala. (En línea). Consultado el 25 de Febrero de 2016. Disponible en: <http://web.maga.gob.gt/download/1agro-cifras2014.pdf>
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista De Proteccion Vegetal*, 28(1), 1-11.
- Martínez, B, Infante, Danay, & Reyes, Yusimy. (2013). Trichoderma spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1-11. Recuperado en 23 de febrero de 2017, de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522013000100001&lng=es&tlng=es
- Michel Aceves, A. C., Otero Sánchez, M. A., Castro, A. D., Martínez Rojero, R. D., Flores, R. A., & Ayala, A. B. (2013). Biocontrol de la "Escoba de Bruja" del Mango, con Trichoderma spp., en Condiciones de Campo. *Revista Mexicana De Fitopatología*, 31(1), 1-12.
- Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. A., Martínez-Rojero, R. D., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A., & Rebolledo-Martínez, A. (2008). Control biológico in vitro de enfermedades fungosas en tomate *Lycopersicum esculentum* Mill. *Avances En Investigacion Agropecuaria*, 12(3), 55-68.
- Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. A., Ariza-Flores, R., Barrios-Ayala, A., & Alarcón-Cruz, N. (2013). Eficiencia biológica de cepas nativas de Trichoderma spp., en el control de *Sclerotium rolfsii* Sacc., en cacahuate. *Avances En Investigacion Agropecuaria*, 17(3), 90-108.
- Mora, J. 2009. 38 exposición nacional de orquídeas. Asociación Costarricense de Orquideología. 1-12 pp.

- Navarrete-Maya, R., & Acosta-Gallegos, J. (2015). Reacción de variedades de frijol común a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* en el altiplano de México.. *Agronomía Mesoamericana*, 10(1), 37-46. Recuperado de <http://revistas.ucr.ac.cr/index.php/agromeso/article/view/17996/17912>
- NIGAM, N.; MUKERJI, K. G. 1988. Biological control. Concepts and practice. In: *Biocontrol of Plant Diseases*. Vol. 1. MUKERJI, K. G.; GARG, K. L. (Eds.). CRC Press Boca Ratón. EE.UU. pp. 1-13.
- ORNELAS, J. F. (1996). Origen y evolución de los colibríes. Banca en Línea. (En Red). Disponible en: <http://www.ejournal.unam.mx/cns/no42/CNS04207.pdf>
- Perniola, O. S., Staltari, S., Chorzempa, S. E., Astiz Gassó, M. M., & del Carmen Molina, M. (2014). Control biológico de *Fusarium graminearum*: utilización de *Trichoderma* spp. y biofumigación con parte aérea de *Brassica juncea*. *Revista De La Facultad De Ciencias Agrarias*, 46(2), 45-56.
- Peña, A. S., Hernández Mansilla, A. A., Díaz, J. A., & Pérez, A. C. (2007). Control in vitro con *Trichoderma* spp. de hongos fitopatógenos de vitroplantas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr. *Revista Centro Agrícola*, 34(4), 19-23.
- Ramirez, G.; Luna, M.; Mejía, Ch.; Velázquez, M.; Tsuzuki, R.; Vierna, G. Muggenburg, I. (1992). Manual de prácticas de microbiología general. Laboratorio de Microbiología experimental. Facultad de Química, UNAM.
- Sandoval-Chávez, R. A., Martínez-Peniche, R. Á., Hernández-Iturriaga, M., Fernández-Escartín, E., Arvizu-Medrano, S., & Soto-Muñoz, L. (2011). CONTROL BIOLÓGICO Y QUÍMICO CONTRA *Fusarium stilboides* EN PIMIENTO MORRÓN (*Capsicum annuum* L.) EN POSCOSECHA. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17(2), 161-172.
- SAGARPA. 2005., Análisis Agropecuario del Tomate. Boletín Informativo. Culiacán, Sinaloa, México. 9 p.

- Schluter D. (2000) La ecología de la radiación adaptativa. Oxford Series en Ecología y Evolución. Oxford University Press, Nueva York
- SEGEPLAN (2003). Estrategia para la Reducción de la Pobreza. Municipio de San Jacinto. Guatemala: SEGEPLAN.
- Seminis, 2006. Chile Pimiento, Guía de Enfermedades. CALIFORNIA. ESTADOS UNIDOS. 32 p.
- Stefanova, M.; A. Leiva, L. Larrinaga y M. F. CORONADO: "Actividad metabólica de cepas de *Tricho-derma* spp. Para el control de hongos fitopatógenos del suelo", Rev. Fac. Agronomía LUZ (16): 509-516, 1999.
- Tangerife, V. (2011). *Fusarium* spp. (En línea). Escuela de Microbiología. Universidad de Antioquia. Consultado el 04 de febrero del 2016. Disponible en: <http://aprendeonline.udea.edu.co/lms/moodle/mod/resource/view.php?inpopup=true&id=100813>
- WELLS, H.D.: "*Trichoderma* un agente de control biológico", en el control biológico de enfermedades en plantas. I. K.G Mukerji and kL Garg. Eds CRC: Press, Boca, Ratón, FL, 1988.

10. ANEXOS

Anexo 1. Cronograma de actividades

| NO | CRONOGRAMA DE ACTIVIDADES | Mes 1 | | | | Mes 2 | | | | Mes 3 | | | |
|----|---|-------|---|---|---|-------|---|---|---|-------|---|---|---|
| | | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 | 1 | 2 | 3 | 4 |
| | SEMANAS | | | | | | | | | | | | |
| 1 | Muestreo de suelo | X | X | | | | | | | | | | |
| 2 | Aislamiento de cepas | | X | X | | | | | | | | | |
| 3 | Purificación de cepas | | | X | X | | | | | | | | |
| 4 | Caracterización morfológica de cepas aisladas | | | | | | | X | X | | | | |
| 5 | Redacción de informe final | | | | | | | | | X | X | X | X |