

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

SENSIBILIDAD DE *Rhizoctonia solani* A *Trichoderma* spp *in vitro*
TESIS DE GRADO

CARLOS JOSÉ DOMINGO PEREZ ORELLANA
CARNET 22522-09

GUATEMALA DE LA ASUNCIÓN, JUNIO DE 2018
CAMPUS CENTRAL

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

SENSIBILIDAD DE *Rhizoctonia solani* A *Trichoderma* spp *in vitro*
TESIS DE GRADO

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

POR
CARLOS JOSÉ DOMINGO PEREZ ORELLANA

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 2018
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

DECANA: 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. JOSÉ MANUEL BENAVENTE MEJÍA

MGTR. LUIS MOISES PEÑATE MUNGUÍA

MGTR. VICTOR MANUEL VENTURA PERDOMO

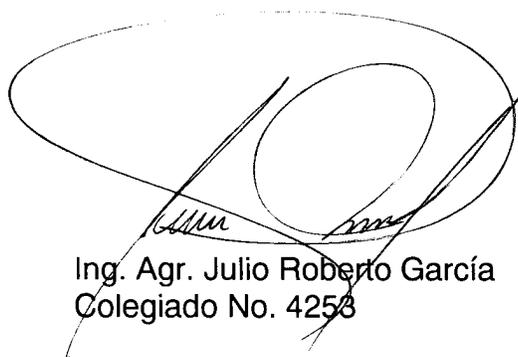
Guatemala, junio 2018.

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 Carlos José Pérez Orellana, que se identifica con carné 2252209, titulado: "**Sensibilidad de *Rhizoctonia solani* a *Trichoderma spp in vitro***", 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,



Ing. Agr. Julio Roberto García
Colegiado No. 4253



Orden de Impresión

De acuerdo a la aprobación de la Evaluación del Trabajo de Graduación en la variante Tesis de Grado del estudiante CARLOS JOSÉ DOMINGO PEREZ ORELLANA, Carnet 22522-09 en la carrera LICENCIATURA EN CIENCIAS AGRÍCOLAS CON ÉNFASIS EN GERENCIA AGRÍCOLA, del Campus Central, que consta en el Acta No. 062-2016 de fecha 1 de febrero de 2016, se autoriza la impresión digital del trabajo titulado:

*SENSIBILIDAD DE *Rhizoctonia solani* A *Trichoderma* spp in vitro*

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, al día 1 del mes de junio del año 2018.

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



AGRADECIMIENTOS

A:

A Dios por darme la vida y jamás abandonarme en los momentos difíciles a lo largo de mi carrera, y así hacer crecer mi fe para seguir adelante.

A mi esposa Ana Elizabeth Hernández de Perez por siempre darme su apoyo incondicional y mostrarme su amor y confianza en todo lo que emprendía.

A mi padre José Domingo Perez por mostrarme sus actos de amor hacia mis esfuerzos, dedicación y su apoyo incondicional.

A mi familia por su apoyo incondicional y siempre tener fe que un día lo lograría

DEDICATORIA

Dios

Quien siempre me brindo la sabiduría necesaria para tomar mis decisiones y siempre me dio la suficiente fortaleza para seguir adelante.

Mi esposa

Ana Elizabeth Hernández de Perez por su inmenso amor y apoyo incondicional y sus consejos oportunos a lo largo de mi carrera.

Mi familia

A mis padres y mis hermanos por siempre estar a mi lado y darme siempre el aliento de fuerza para seguir adelante en todos lo retos que enfrentaba a lo largo de mi carrera.

Mis amigos

Por su apoyo, compañía a lo largo de mi carrera y que formaron parte de mi desarrollo integral, con mucho cariño.

ÍNDICE

I. INTRODUCCIÓN	1
II. MARCO TEÓRICO	3
2.1 <i>Rhizoctonia solani</i>	3
2.1.1 Descripción	3
2.1.2 Taxonomía	3
2.1.3 Ciclo de vida	4
2.1.4 Morfología	5
2.1.5 Importancia Económica.....	6
2.2 <i>Trichoderma</i> spp	7
2.2.1 Descripción	7
2.2.2 Taxonomía	7
2.2.3 Ciclo de vida	8
2.2.4 Morfología	9
2.2.5 Usos como control Biológico.....	10
2.3 Sensibilidad.....	11
2.3.1 Descripción	11
2.3.2 Pruebas de sensibilidad aplicadas a la agricultura.....	12
2.4 PROMOT PLUS	14
2.4.1 Descripción	14
2.4.2 Análisis del producto.....	14
III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	15
3.1 Definición del problema y justificación del trabajo	15
IV. OBJETIVOS.....	17
4.1 Objetivo general	17
4.2 Objetivos específicos	17
V. HIPÓTESIS.....	18
5.1 Hipótesis alterna.....	18
VI. METODOLOGÍA	19
6.1 LOCALIZACIÓN DEL TRABAJO.....	19
6.2 MATERIAL EXPERIMENTAL.....	19

6.3 FACTOR A ESTUDIAR	19
6.4 DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS	19
6.5 DISEÑO EXPERIMENTAL	20
6.6 UNIDAD EXPERIMENTAL	20
6.7 MANEJO DEL EXPERIMENTO	20
6.7.1. Preparación de medio de cultivo	20
6.7.2. Siembra de <i>Trichoderma</i> spp	20
6.7.3. Siembra de <i>Rhizoctonia solani</i>	21
6.8 VARIABLES DE RESPUESTA.....	22
6.9 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN	22
VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	23
7.1 Sensibilidad de <i>R. solani</i> a <i>trichoderma</i> spp	23
7.2 Crecimiento de <i>R. solani</i> en presencia y sin presencia de <i>trichoderma</i> spp en relación al tiempo	24
7.3 Comparación de desarrollo de <i>R. solani</i> en función del tiempo	26
VIII. CONCLUSIONES	28
IX. RECOMENDACIONES	29
X. BIBLIOGRAFÍA	30
XI. CRONOGRAMA DE TRABAJO	35
XII. ANEXOS	36

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Ciclo de vida de <i>Rhizoctonia solani</i> (Chávez, 2014).....	5
Figura 2. <i>Rhizoctonia solani</i> al microscopio (Chávez, 2014).	6
Figura 3. Características macroscópicas de <i>Thichoderma</i> spp. (Howell, 2003).	9

Figura 4 Características microscópicas de <i>Trichoderma</i> spp (Universidad de Adelaide, 2006).	10
Figura 5 Técnicas de Bloques de agar para <i>C. Echenulatum</i> frente a <i>Trichoderma</i> spp (Sharvelle, 2000).	13
Figura 6. Crecimiento de <i>R. solani</i> en presencia y sin presencia de <i>Trichoderma</i> spp.	24
Figura 7. Cajas petri con <i>R. solani</i> en presencia de <i>Trichoderma</i> spp con un 100% de sensibilidad a la izquierda y a la derecha <i>R. solani</i> sin presencia de <i>Trichoderma</i> spp.	25
Figura 8. Resultados de sensibilidad de <i>R. solani</i> a <i>Trichoderma</i> spp.	23
Figura 9. Comparación de desarrollo de <i>R. solani</i> en función del tiempo.....	26

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos	20
---	----

SENSIBILIDAD DE *Rhizoctonia solani* A *Trichoderma* spp *in vitro*

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue evaluar la sensibilidad de *Rhizoctonia solani* a *Trichoderma* spp en condiciones de laboratorio. Se utilizó un diseño completamente al azar con 2 tratamientos y 30 repeticiones. La unidad experimental consistió en una caja petri con medio PDA. Los tratamientos evaluados fueron, siembra en medio de cultivo PDA con *R. solani* y siembra en medio de cultivo PDA con *R. solani* y *Trichoderma* spp. Se evaluó el crecimiento micelial de *R. solani*, la sensibilidad (prevalencia y nivel) de *R. solani* a *Trichoderma* spp y tiempo de desarrollo de *R. solani* dentro de las cajas petri con medio PDA. Se determinó que no existieron diferencias estadísticas entre los tratamientos para las variables crecimiento micelial y tiempo de desarrollo. Se obtuvo un nivel de sensibilidad del 100% y se consiguió un nivel de 77.9% de prevalencia de sensibilidad promedio en las cajas Petri con *R. solani* en presencia de *Trichoderma* spp . Se recomienda evaluar esta cepa de *Trichoderma* spp en campo (*in situ*) para corroborar si existe una eficacia biológica en el control de *R. solani*.

I. INTRODUCCIÓN

La Rhizoctoniasis es una enfermedad causada por el hongo *R. solani*, que forma un micelio estéril, hialino cuando joven que se torna café claro cuando madura; produce esclerocios que se hospedan dentro y fuera del suelo, y a su vez causa canchales y estrangulamiento del tallo, pudrición de semillas y caídas de plantas post-emergentes en un expansivo rango de cultivos Guatemaltecos (García, 2008). Es un hongo que está presente en todas las zonas productoras de cultivos perennes y anuales del mundo.

R. solani posee un amplio rango de hospederos. Las especies de plantas afectadas por este patógeno pertenecen a 32 familias, 20 especies de hierbas de 11 familias. En Estados Unidos existen aproximadamente registrados 550 géneros de hospederos del patógeno. Los hospederos primarios son: *Oryza sativa* (Arroz), *solanum tuberosum* (Papa), *Beta vulgaris* (Remolacha), *Fabaceae* (Leguminosas), *Solanaceae*, *Brassicaceae* (Crucíferas), *cucurbitaceae* (Cucurbitáceas), *Poaceae* (Cereales), *Arachis hypogaea* (Maní), *Brassica oleracea var botrytis* (Coliflor), *Brassica Rapa* (Nabo), *Capsicum annum* (Chile pimiento), *Cucumis sativus* (Pepino), *Daucus carota subsp sativus* (Zanahoria), *Clycine max* (Soya), *Hordeum vulgare* (Cebada), *Lactuca sativa* (Lechuga), *Lupinus* (Lupino), *Solanum Lycopersicum* (Tomate), *Medicago sativa* (Alfalfa), *Phaseolus vulgaris* (Frijol), *Raphanus sativus* (Rábano), *Solanum Melonngena* (Berenjena), *Sorghum alepense* (Sorgo común), *Trifolium* (Tréboles), *Triticum* (Trigo), *Tulipa spp* (Tulipan), *Zea mays* (Maíz), *Brassica oleraceae var capitata* (Repollo) (CPC, 2003).

Trichoderma spp es usado para biocontrol de enfermedades fúngicas que se hospedan en el suelo, ocupando un lugar importante en manejo de enfermedades de las plantas. *Trichoderma spp* en la actualidad es importante como hiperparásito competitivo que produce metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas. En 1990 en el país de Cuba se hicieron aislamientos de *Trichoderma* y se logró determinar que poseen una elevada capacidad hiperparasita cuando se utiliza para combatir *Phytophthora sp* en condiciones de campo, *Rhizoctonia solani* siendo así también una enfermedad perteneciente al suelo

se realizaron evaluaciones in vitro de la sensibilidad de este patógeno a *Trichoderma* spp (Agrios, 2004).

El hongo *Trichoderma* spp es un controlador biológico que está siendo utilizado en la actualidad como agente de biocontrol debido a su habilidad para colonizar sustratos rápidamente, inducir resistencia sistémica adquirida en plantas, promover el crecimiento vegetal y poseer actividad antagonista contra un amplio rango de hongos patógenos, por antecedentes el género *Trichoderma* se ha visto que tiene control sobre enfermedades del suelo, pero específicamente se estableció la sensibilidad de la especie *T. harzianum* y *T. koningi* sobre el crecimiento y desarrollo de *Rhizoctonia solani*.

La utilización extensiva de compuestos químicos para el control de enfermedades, la emergencia de patógenos resistentes a fungicidas, y el deterioro en la salud de productores y consumidores, han promovido la búsqueda de alternativas viables que garanticen una mayor sostenibilidad en la producción agrícola, minimizando el impacto sobre el medio ambiente

En la actualidad no existe una línea base de información de pruebas de sensibilidad de *R. solani* a *Trichoderma* spp, para poder ser usado por los agricultores de Guatemala en sus diferentes cultivos, es por ello que la siguiente investigación tuvo como finalidad realizar pruebas de sensibilidad para determinar y demostrar el efecto de inhibición de crecimiento de *R. solani* ante la presencia de *Trichoderma* spp (Agrios, 2004).

II. MARCO TEÓRICO

2.1 *Rhizoctonia solani*

2.1.1 Descripción

El hongo *R. solani* fue descrito por Julius Kuhn en 1858, pertenece a la clase Basidiomycete y únicamente en condiciones especiales produce esporas sexuales (basidiospora). En la naturaleza *R. solani* se produce asexualmente y existe como micelio vegetativo, el cual forma estructuras de resistencia o esclerosios, que son masas de hifas estrechamente entrelazadas con superficies duras y resistentes. El estado sexual se conoce como *Thanatephorus cucumeris* (Prado, 2011).

Este fitopatógeno está presente en casi todos los suelos debido a que tiene una amplia gama de hospedantes: allí sobrevive en los residuos de plantas y como esclerosios. En las plantas de papa *R. solani* ocasiona la enfermedad denominada rhizoctoniasis o cáncer de raíces o tallos, y costra negra cuando se presenta como esclerocios en la superficie de los tubérculos. Se desarrolla a temperaturas muy diversas en zonas cálidas y templadas frías, ocasionando daño considerable en los brotes emergentes del tubérculo; la enfermedad es común en todas las regiones donde se cultiva papa, encontrándose tanto superficialmente como en estratos profundos del suelo (Prado, 2011).

2.1.2 Taxonomía

La clasificación taxonómica según el catálogo de la vida (2015) es:

Reino: Fungi

Filo: Basidiomycota

Clase: Hiphomycetes

Orden: Agonomycetales

Género: *Rhizoctonia*

Especie: *R. solani*

Dentro de las características que permiten clasificar taxonómicamente aislamientos de *R. solani* son: Tendencia de pigmentación hifal café, ramificación próxima al septo distal de células en hifas vegetativas jóvenes, estrechamiento de hifa y formación de septo a una distancia corta del punto de origen a la ramificación hifal, septo dolípora y células multinucleadas en hifa vegetativa joven (Parmeter, 1970)

2.1.3 Ciclo de vida

Inicialmente los esclerocios presentes en el suelo son estimulados por exudados producidos por la actividad de crecimiento celular de las plantas por descomposición de residuos orgánicos. A partir de los esclerocios se forma el micelio, que al entrar en contacto con la planta ataca la superficie externa; que al entrar en contacto con la planta ataca la superficie externa; el proceso de infección es promovido por la producción de diferentes enzimas extracelulares que degradan varios componentes de la pared celular de las plantas, como la celulosa, la cutina y la pectina. Después de este primer ataque, el hongo continúa su desarrollo en la superficie externa de la planta, causando enfermedad por la formación de apresorios que penetran las células vegetales tomando nutrientes de ésta para continuar su crecimiento y desarrollo (Agrios, 2004)

R. solani se encuentra establecido en el suelo en forma de esclerocios, en esta estructura el hongo puede permanecer latente en el suelo por tiempo indefinido. Las condiciones óptimas para su desarrollo son: suelo con temperaturas de 15 a 18°C y moderadamente húmedos, aunque algunas razas incrementan su actividad a temperaturas mayores que 35 °C (Agrios, 2004).

R. solani se desarrolla bien en suelos húmedos, ácidos y con temperaturas bajas. Tiene gran capacidad saprofítica, logrando sobrevivir en forma de esclerocios por largos periodos de tiempo en condiciones desfavorables; estas estructuras son la principal fuente de inóculo para el inicio de la enfermedad, y la forma más común de propagar el hongo en la siembra de tubérculos con esclerocios. La lluvia, el riego y las operaciones de labranza aumentan la distribución del patógeno en el terreno. La formación de

esclerocios sobre la superficie de los nuevos tubérculos ocurre en condiciones de buena humedad y temperatura óptima de 18°C; no obstante, el máximo desarrollo de esclerocios se produce cuando los tubérculos que se encuentran listos para ser cosechados se mantienen en el campo por un tiempo prolongado

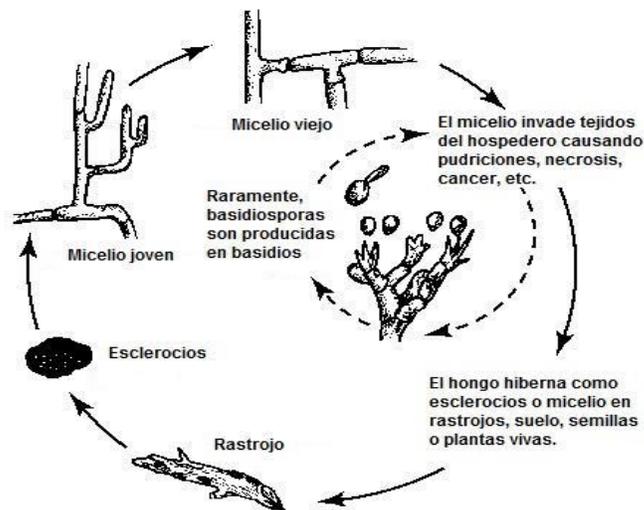


Figura 1. Ciclo de vida de *R. solani* (Chávez, 2014).

2.1.4 Morfología

Según Agrios citado por García (2008) *R. solani* se caracteriza por formar un micelio con células alargadas y ramificadas formando un ángulo recto con respecto a la hifa principal. Las hifas tienen formas septadas y diversos núcleos. *R. solani* a lo largo de su ciclo de vida presenta dos distintos colores en su micelio. En su etapa juvenil es incoloro y se torna de color amarillo a café en el transcurso de su maduración. *R. solani* produce tres tipos de micelio: las hifas pigmentadas que se diseminan a lo largo del tejido vegetal, luego de desarrollar las hifas de apresorios y por último de la unión de las hifas pigmentas y los apresorios se forman las células monilioides o esclerocios.

R. solani en su etapa juvenil forma micelio estéril. Los únicos medios disponibles para la identificación de este hongo son las características de las ramificaciones, el hongo

produce ramilletes de células cortas, anchas, de forma oval según figura 1, dichos ramilletes se desarrollan en pequeños esclerocios de color café a negro. *R. solani* rara vez se produce en estado perfecto de basidiomiceto conocido como pinzularia filamentosa o *Thanatephorus cucumeris*. Para lograr esta fase se requiere de bastante humedad, en seguida aparece un micelio fino blanco encima de los suelos, hojas, tallos y todo lo que se encuentre por encima de la superficie del suelo (Agrios 2004).

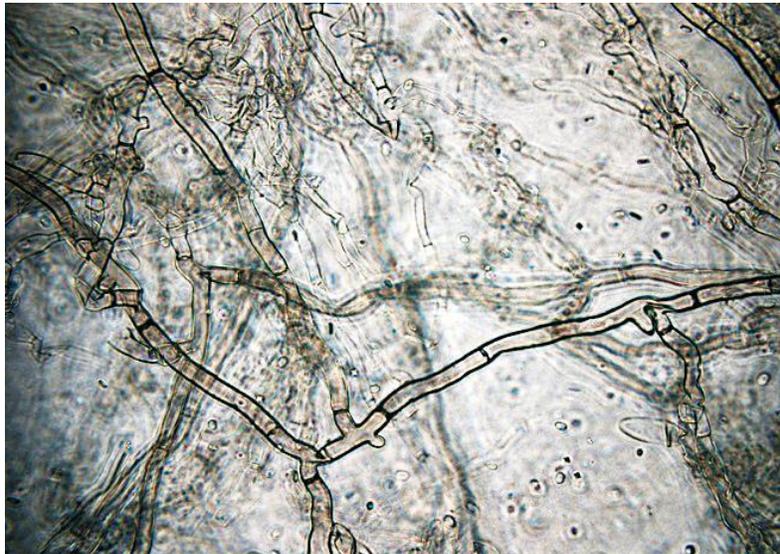


Figura 2. *R. solani* al microscopio (Chávez, 2014).

2.1.5 Importancia Económica

La especie fitopatógena *R. solani* ocasiona pérdidas en cultivos como ornamentales, hortalizas, cultivos perennes incluyendo casi todos los productos agrícolas que se encuentran dentro y sobre el suelo. Para el año 2013 el café generó un total de divisas de 752,600 millones de dólares para Guatemala, *R. solani* representa el 65% de pérdidas en plantillas establecidas en semillero lo que nos representa un total de 489,160 de pérdida en divisas totales para el país sin controlar la enfermedad (ANACAFE, 2014), por otro lado podemos decir que la producción de papa representada en hectáreas de papa es de 15,000 hectáreas, *R. solani* puede representar un 50% de pérdidas de producción lo que se ve reflejado en 7,500 hectáreas de papa de pérdida. Entre las enfermedades más comunes causadas por este fitopatógeno está el *damping-off* o caída

de las plántulas, como consecuencia del estrangulamiento del tallo y necrosis del tallo. Produce una reducción significativa del vigor de las plantas y de la producción de tubérculos en cultivos de papa (Agrios, 2004).

2.2 *Trichoderma* spp

2.2.1 Descripción

Trichoderma spp, son hongos cosmopolitas de gran importancia económica como controladores biológicos, *Trichoderma* spp también se ha demostrado gran agresividad sobre diversos hongos cultivados principalmente champiñones y hongos setas. La mayoría de las especies de *Trichoderma* spp se han descrito de Norteamérica y de Europa. (Samuels, 1996).

Mediante el uso de hongos y bacterias antagonistas se han podido conocer estrategias con mayor potencial para el control de enfermedades ocasionadas por patógenos del suelo. Muchas especies como *Trichoderma harzianum* son antagonistas de varios patógenos y organismos plagas incluyendo malezas e insectos (Cook, 1983) (Gonzales, 1998).

Las especies de *Trichoderma* han sido investigadas como agentes de control biológico de enfermedades causadas por hongos. El éxito de las cepas de *Trichoderma* es que son altamente reproductivas, tienen habilidades para sobrevivir bajo condiciones extremas, eficiencia en la utilización de nutrientes, capacidad para modificar la rizosfera y eficiencia en promoción de crecimiento en plantas e inducción de mecanismos de defensa (Hjeljord, 1998) (Benitez, 2004).

Las diferentes especies de *Trichoderma* se caracterizan por tener un crecimiento micelial rápido y una abundante producción de esporas que ayuda a la colonización de diversos sustratos del suelo. A su vez se pueden producir enzimas extracelulares y antibióticos antifúngicos (Zimand, 1996).

2.2.2 Taxonomía

La clasificación taxonómica según el catálogo de la vida (2015) es:

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Trichoderma*

Especie: *Trichoderma* spp

2.2.3 Ciclo de vida

El ciclo de vida de *Trichoderma* inicia cuando el organismo crece y se ramifica como una hifa fúngica típica que mide de 5-10 μ de diámetro. La esporulación asexual ocurre cuando las esporas de 3-5 μ de diámetro son liberadas en un gran número. También se forman clamidiosporas intercaladas, de forma individual, aunque algunas veces dos o más clamidiosporas se pueden fusionar (Agrios, 2004).

Trichoderma de este modo tiene un ciclo de vida asexual, las conidiosporas son la dominante etapa de multiplicación. El tubo germinativo desarrolla un micelio, que consta de hifas irregularmente ramificadas. Luego de las conidiosporas se forman en enteroblasticas fialidicas células conidiogenas, dispuestas en conidioforos. Su crecimiento es restrictivo por diversas condiciones, como la deficiencia de nutrientes o sequia esto se torna más difícil para las clamidiosporas de pared gruesa de las hifas. Las hifas colonizan la rizosfera y tienen la capacidad de denominar alrededor de hongos parásitos de la planta. El parasitismo comienza con la formación de estructuras o apresorios similares (Agrios, 2004).

2.2.4 Morfología

Este género agrupa a 33 especies, el hongo se identifica como una mota de color verde que habita en el suelo. Visto en el microscopio parece un árbol pequeño, que produce esporas o conidias asexuales, las cuales son similares a semillas, que aseguran la sobrevivencia del hongo en su próxima generación y llamado micelio compuesto por hifas. *Trichoderma* spp. Produce en el micelio clamidiosporas, las cuales son bastante tolerantes a condiciones ambientales adversas y son consideradas estructuras de sobrevivencia, ya que pueden perdurar a través de tiempo (Knudsen, 1990).

- Características macroscópicas

Las colonias se reconocen fácilmente por su crecimiento rápido y su coloración, Blancas, verdes y amarillo-verdosas, las áreas con conidios se presentan con anillos concéntricos (Arango et al, 1988).

El revés de las colonias es usualmente no coloreado, amarillo, ambar o amarillo-verde, y muchas especies producen grandes cantidades de clamidiosporas en cultivos sumergidos (Howell, 2003).

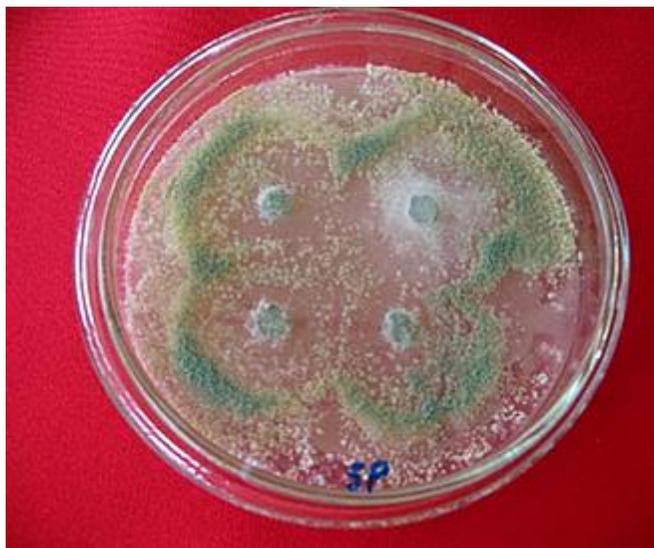


Figura 3. Características macroscópicas de *Trichoderma* spp. (Howell, 2003).

- Características Microscópicas

Los conidioforos son erectos, hialinos, en su mayoría ramificados, no verticilados, los cuales pueden ser solitarios o en grupos. La fialides son en forma de botella, únicas o en grupos, hinchadas en la región central pero delgadas hacia el ápice; son hialinas y en ángulo recto con respecto a los conidioforos. (Arango, 1988).



Figura 4 Características microscópicas de *Trichoderma* spp (Barnett, 2008).

2.2.5 Usos como control Biológico

El biocontrol por parte de *Trichoderma* en el manejo integrado de plagas ha sido demostrado en su capacidad antagónica frente a agentes causales de pudriciones radiculares y marchitamientos.

Así mismo Ochoa en 1996 determinó en condiciones de invernadero que la utilización individual de *T. hamantus* y *P. fluorescens* ofrecía un alto nivel de protección en claveles contra *Fusarium oxysporum*.

Liu y Baker en 1987 demostraron que especies de *Trichoderma harzianum* y *T. hamatum* son especialmente eficientes en el control de patógenos que radican en el suelo.

Varios aislamientos de *Trichoderma harzianum* se han utilizado exitosamente en el control de algunas enfermedades ocasionadas como: el damping-off en tomate, pudriciones radiculares en plantas de frijol, Podredumbre negra en la raíz de la fresa, pudrición de tallo en clavel (Chang, 1986).

Salmando en 1996 reportó que la técnica de pre germinación controlada de semillas de Tomate en presencia de *T. koningii*, es una alternativa para contrarrestar el efecto de *R. solani* en condiciones de semillero, mostrando porcentajes de protección hasta del 70%, y en cuanto al tratamiento que consistía de semillas no pre germinadas y tratadas con *T. koningii* presentó sólo un 15% de protección

Además, se han encontrado que algunas especies de *Trichoderma* especialmente *Trichoderma harzianum* tienen el potencial de aumentar el vigor, crecimiento y desarrollo de la planta, este efecto se supone ser a la disminución de patógenos menores y a la producción de factores que estimulan el crecimiento de la planta y favorecen el consumo de nutrientes (Widham, 1986) (Chang, 1986).

2.3 SENSIBILIDAD

2.3.1 Descripción

El estudio de la sensibilidad de los microorganismos a los antimicrobianos es una de las funciones más importantes de los laboratorios de microbiología. Su realización consta del desarrollo de pruebas de sensibilidad o antibiograma y su principal objetivo es evaluar en laboratorio la respuesta de un microorganismo a uno o más antimicrobianos. El antibiograma define la actividad *in vitro* de un antibiótico frente a un microorganismo determinado y refleja su capacidad para inhibir el crecimiento de una bacteria o población bacteriana (Picaso, 2000).

El antibiograma disco-placa se recomienda para la determinación de la sensibilidad bacteriana a los antimicrobianos. El antibiograma disco-placa consiste en depositar, en la superficie de agar de una placa de Petri previamente inoculada con el microorganismo discos de papel secante impregnados con los diferentes antibióticos. Tan pronto el disco

impregnado de antibiótico se pone en contacto con la superficie húmeda del agar, el filtro absorbe agua y el antibiótico difunde al agar. El antibiótico difunde radialmente a través del espesor del agar a partir del disco formándose un gradiente de concentración. Transcurridas 18-25 horas de incubación los discos aparecen rodeados por una zona de inhibición (Picaso, 2000).

- Indicaciones y limitaciones

El antibiograma está indicado cuando se aísla una bacteria responsable de un proceso infeccioso y no puede predecirse su sensibilidad, especialmente si se sabe que este tipo de bacteria puede presentar resistencia a los antimicrobianos más habituales. Estas pruebas de sensibilidad también son útiles en estudios epidemiológicos ya que el resultado del antibiograma puede ser considerado como el primer marcador epidemiológico de que se dispone (Picaso, 2000).

- Interpretación de resultados

Comparando los diámetros del halo de inhibición y estableciendo las correspondientes rectas de regresión se fijan criterios para clasificar las cepas que se estudian. De esta forma se fijan tres categorías: sensible (S), Intermedia (I) y resistentes (R) (Picaso, 2000).

2.3.2 Pruebas de sensibilidad aplicadas a la agricultura

Según Sharvelle en (2006) en Colombia se realizaron pruebas de sensibilidad *in vitro* de fungicidas para determinar los tratamientos óptimos de los fungicidas evaluados (Mancozeb, Prochloraz, Carbendazim y *Trichoderma* spp) para el control de los hongos fitopatógenos de mayor importancia en bancos de enraizamiento en clavel; estimados en la inhibición de los microorganismos patógenos. Se utilizó la técnica de antibiograma y sensidiscos.

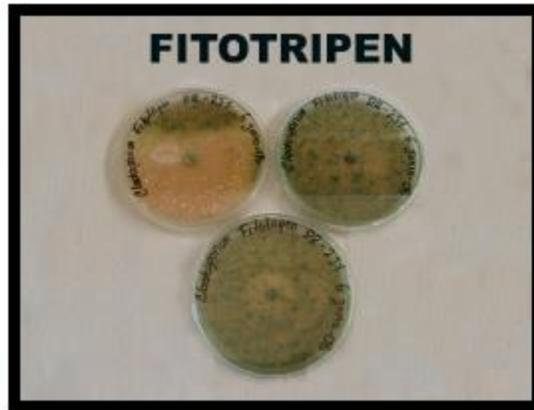


Figura 5 Técnicas de Bloques de agar para *C. Echenulatum* frente a *Trichoderma* spp (Sharvelle, 2000).

Uno de los factores limitantes en la producción de tomate y chile en Sinaloa, Mexico, ha sido la presencia de la mancha bacteriana ocasionada por *Xanthomonas campestris* pv. *vesicatoria*, la cual provoca pérdidas económicas importantes. Los aislamientos bacterianos se sometieron a los bioensayos para determinar su sensibilidad a varias formulaciones de cobre y combinaciones de cobre-mancozeb, cobre-antibióticos, tanto en condiciones de laboratorio y campo. Del total de las 39 cepas colectadas, 17 tuvieron un alto nivel de tolerancia o insensibilidad a las formulaciones de cobre bajo condiciones *in vitro* (Carrillo et al, 2001)

2.4 PROMOT PLUS

2.4.1 Descripción

Es un promovedor natural para las plantas producido por la fermentación de microorganismos seleccionados de *Trichoderma* spp. este contiene microorganismos vivos, enzimas complejas y nutrientes el cual son beneficiarios para el crecimiento de las plantas.

Este producto tiene la capacidad tanto como tratamiento microbial para semillas para permitir microorganismos en el producto se multipliquen en el suelo. Estos microorganismos crecen factores el cual estimulan la germinación de semillas, crecimiento de las plantas y floración. Los factores de crecimiento producidos por los microorganismos también incrementaran el vigor y salud de las plantas. Como resultado las plantas son más resistentes a enfermedades causadas por hongos patógenos tales como *Pythium* spp., *Sclerotia rolfsii* entre otros. Estos hongos patógenos causan putrefacciones de raíz, semillas, vástagos y frutas.

2.4.2 Análisis del producto

contenido	Concentración
<i>Trichoderma koningii</i>	2×10^7
<i>Trichodera harzianum</i>	3×10^7

III. PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

3.1 DEFINICIÓN DEL PROBLEMA Y JUSTIFICACIÓN DEL TRABAJO

R. solani es un patógeno que causa pérdidas severas en diversos cultivos debido a su amplio rango de hospederos (CPC,2003), es un hongo que vive de forma natural en el suelo, la rhizoctoniasis enfermedad causada por *R. solani* presenta diferente sintomatología, que puede variar según el tipo de cultivo e incluso, en una misma planta hospedante y dependiendo de la etapa de crecimiento, los dos síntomas más comunes de la rhizoctoniasis es el ahogamiento de las plantas y pudrición de raíz (Agrios, 2004).

En Guatemala se siembran aproximadamente 15,000 ha de papa por pequeños y medianos productores de la cual el 95% es destinada para el mercado local y el 5% para exportación hacia el mercado centroamericano (INE, 2004), según comunicado personal del Ing. Agr. Rolando estrada *R. solani* causa pérdidas de hasta 50% del total de la producción de papa en Guatemala (Estrada, 2006).

En países como Venezuela se han realizado estudios de Distribución e incidencia de *R. solani* y se han encontrado que en el Estado de Mérida en 5 municipios en donde se realizaron muestreos de suelo; presencia de *R. solani* con una incidencia del 5% hasta el 60% (Garnica, 2002).

Para el año 2013 se contaba con un total de 772,442 manzanas de superficie cultivadas de café que generaron un total de 4,100,000 quintales de café oro, que representaron durante el periodo 2013 un total de 752,600 millones de dólares en divisas (INE 2014). *R. solani* que conforma una de las principales plagas del café (Mal del talluelo) produce perdidas hasta del 65% de plantitas de un semillero, lo que posteriormente se traduce en pérdidas en vivero y plantaciones en campo (ANACAFE, 2014).

Según Barnett citado por Montoya en (2008) *Trichoderma* spp es un hongo que está presente en casi todos los suelos y hábitats diversos, especialmente aquellos que

contienen materia orgánica o desechos vegetales en descomposición. En el suelo son los hongos más frecuentes, por la presencia de altos niveles pueden colonizar rápidamente las raíces de la planta, además se ha demostrado que *Trichoderma* ataca, parasita, gana nutrientes de otros hongos e inactiva enzimas del patógeno.

Las especies de *Trichoderma* tienen una gran actividad antagonista sobre patógenos como: *Sclerotium rolfsii*, *Pythium ulimum* y *Fusarium oxysporum*, causantes de enfermedades importantes en cultivos de rábano, clavel, crisantemo, frijol, café, haba, tomate y cítricos entre otros.

Como se detalló con anterioridad *Trichoderma* spp. siendo un hongo capaz de alimentarse de los nutrientes indispensables para otros hongos presentes en el suelo, capaz de parasitar y atacar; el presente trabajo tuvo como finalidad realizar pruebas in vitro de sensibilidad para lograr demostrar si *R. solani* es sensible a *Trichoderma* spp, y así generar información para todas aquellas áreas y agricultores con problemas de *R. solani*, a su vez incluir una herramienta para el control fitosanitario de sus diferentes cultivos hacia *R. solani*.

En la actualidad existen productos comerciales a base de *Trichoderma* spp los cuales no cuentan con una recomendación específica para el control de *R. solani* en un cultivo en específico por lo que esta investigación buscó comprobar a su vez la sensibilidad de *R. solani* a las cepas aisladas de un producto comercial para establecer una línea base de investigación que permita posteriormente llevar a una evaluación en campo con bases científicas.

IV. OBJETIVOS

4.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la sensibilidad de *R. solani* a *Trichoderma* spp en condiciones de laboratorio.

4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Establecer la sensibilidad de *R. solani* hacia *Trichoderma* spp en medio de cultivo sintético.
- Describir el crecimiento de *R. solani* con y sin presencia de *Trichoderma* spp en medios de cultivo.
- Comparar el tiempo de desarrollo de *R. solani* con y sin la presencia de *Trichoderma* spp.

V. HIPÓTESIS

5.1 HIPÓTESIS ALTERNA

- El crecimiento micelial de *R. solani* sin presencia de *Trichoderma* spp es estadísticamente diferente al crecimiento en presencia de este hongo.
- Existe sensibilidad de *R. solani* a *Trichoderma* spp por antagonismo biológico.
- El tiempo de desarrollo de *R. solani* sin presencia de *Trichoderma* spp es estadísticamente diferente al tiempo en presencia de este hongo.

VI. METODOLOGÍA

6.1 LOCALIZACIÓN DEL TRABAJO

La presente investigación se llevó a cabo en el laboratorio de Fitopatología (A-11) de la Universidad Rafael Landívar, Campus Central, ubicada en Vista Hermosa III, Ciudad de Guatemala, Guatemala.

6.2 MATERIAL EXPERIMENTAL

Microorganismos utilizados:

- Cultivo de *R. solani*: Cepa obtenida de aislamientos en plantas de Crisantemos ubicados en el municipio de San Juan Sacatepéquez del departamento de Guatemala.
- *Trichoderma* spp: este hongo se obtuvo del producto comercial Promot plus que contiene dos especies *T. harzianum* y *T. koningii* utilizando una concentración

6.3 FACTOR A ESTUDIAR

El factor a estudiar fue la presencia *Trichoderma* spp en el medio de cultivo sobre el desarrollo de *R. solani*

6.4 DESCRIPCIÓN DE LOS TRATAMIENTOS

El cuadro 1 muestra los dos tratamientos que se evaluaron:

Cuadro 1. Descripción de los tratamientos

Tratamiento	Descripción del Tratamiento
Rs	Medio de cultivo sin <i>Trichoderma</i> spp
RsTh	Medio de cultivo con desarrollo de <i>Trichoderma</i> spp

6.5 DISEÑO EXPERIMENTAL

Para esta evaluación se utilizó un diseño experimental completamente al azar con 2 tratamientos y 30 repeticiones donde se comparó posteriormente con una prueba T de Student..

6.6 UNIDAD EXPERIMENTAL

Se utilizaron 30 cajas petri por tratamiento donde cada caja consistió en una unidad experimental de donde se obtuvieron las medias para la comparación estadística.

6.7 MANEJO DEL EXPERIMENTO

6.7.1. Preparación de medio de cultivo

Para la elaboración del medio se utilizó medio PDA, se midió 1 litro de agua luego se pesaron 39g de medio en polvo, para luego agregarlo al litro de agua, luego se llevó a calentar a 95°C hasta que la mezcla se mostró homogénea. Posteriormente se esterilizó en autoclave durante 20 minutos a 121°C y 1 AT de presión.

Se dejó enfriar el medio a 55-45°C después de esterilizar y con ayuda de una pipeta estéril se colocaron 15ml de medio en una caja Petri de 80mm de diámetro y se dejó solidificar.

6.7.2. Siembra de *Trichoderma* spp

La siembra se llevó a cabo adentro de una campana, para dar inicio se desinfectó la campana con alcohol al 70% y papel mayordomo, luego se le aplicaron alcohol en la parte externa a 30 cajas Petri para su desinfección, posteriormente se desinfectaron cinco cajas Petri el cual contenían colonias de *Trichoderma* spp en donde luego fueron ingresadas a la campana, para proceder a la siembra en las cajas Petri se utilizó un bisturí el cual se flameo y desinfecto con alcohol al 70% cada vez que se fuera a realizar siembra en cada caja Petri, Se cortaron pequeños cuadros de medio con *Trichoderma* spp tomando como medida de los lados la distancia que el bisturí hacia al ser incrustado (aproximadamente un cuadro de 1 x 1 cm), en donde luego fueron colocados utilizando orientación cardinal (Norte, Sur, Este y Oeste) a una distancia aproximada de 2 cm del extremo de la caja Petri con medio PDA. Por último se sellaron las cajas Petri con parafilm y se colocaron en una incubadora a 26°C durante 10 días.

6.7.3. Siembra de *Rhizoctonia solani*

Para la siembra de *R. solani* se utilizaron un bisturí, un mechero y alcohol al 70%, se tomaron las 60 cajas Petri y se le aplicaron en la parte externa alcohol al 70%, luego fueron ingresadas a la campana, se desinfectó la caja petri que contiene el hongo *R. solani*, para cortar el hongo se utilizó el bisturí el cual para empezar se flameo luego se enfrió en la caja Petri que se seleccionó la cual contenía el PDA y luego verticalmente se incrustó en el medio que contiene *R. solani* hasta formar un cuadro; tomando como medida de los lados la distancia que el bisturí hizo cuando este fue incrustado (aproximadamente un cuadro de 1 x 1 cm), el cuadro se colocó en el centro de la caja Petri que se seleccionó, por último este mismo proceso se hizo con las 60 cajas Petri y se sellaron con parafilm. Al estar inoculadas las cajas se colocaron en una incubadora a 26°C durante 10 días.

6.8 VARIABLES DE RESPUESTA

Se evaluaron las siguientes variables:

- Crecimiento micelial de *R. solani*: Se midió el radio de crecimiento de *R. solani* en el medio de cultivo con ayuda de una regla. La variable se midió en milímetros.
- Sensibilidad de *R. solani* a *Trichoderma* spp: Se cuantificó el número de cajas totales donde el micelio detuvo el crecimiento y/o hubo repulsión al desarrollo del mismo por la presencia de *Trichoderma* spp. Se consignó la información como tabla binaria donde 0=sin sensibilidad y 1=con sensibilidad
- Tiempo de desarrollo de *R. solani*: Se tomaron las horas en que tardó en cubrir la superficie del medio de cultivo este hongo.

6.9 ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

Para el análisis se tabularon los datos de cada tratamiento y se realizó una prueba T Student para muestras independientes utilizando un nivel de confianza del 95% y del 99% en donde se determinó si en cada variable existió diferencias significativas con respecto a los tratamientos.

VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

7.1 SENSIBILIDAD DE *R. solani* A *trichoderma* SPP

A continuación se presenta el grafico 7.2 que nos presenta las graficas de prevalencia de sensibilidad y nivel de sensibilidad en ambas graficas respectivamente.

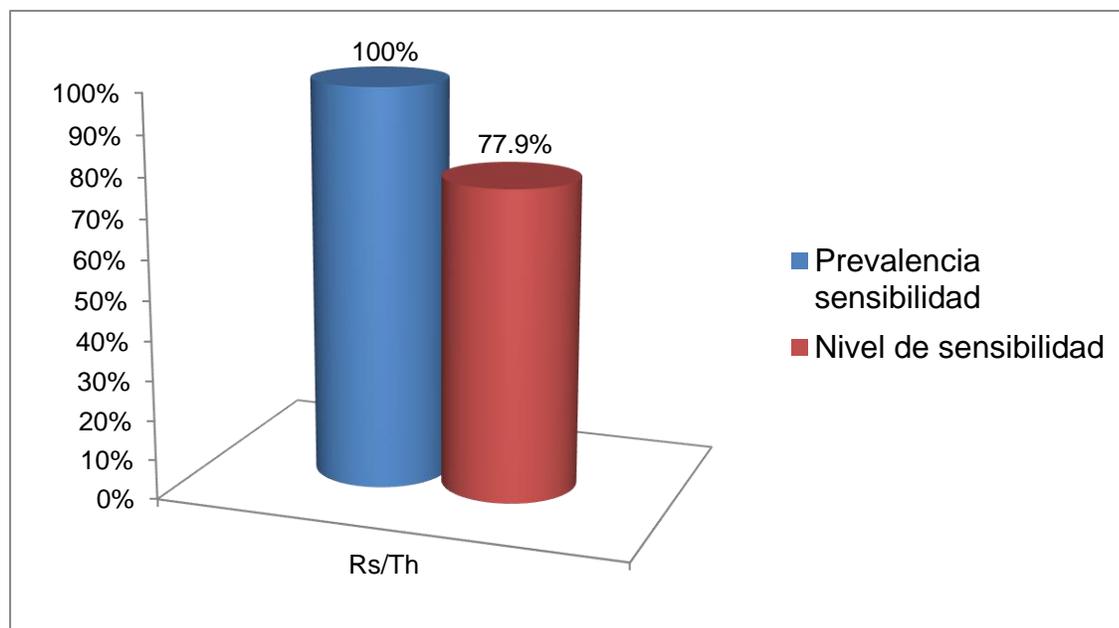


Figura 6. Resultados de sensibilidad de *R. solani* a *Trichoderma* spp.

Como se puede observar en la figura 8. La prevalencia de sensibilidad fue del 100%, esto nos detalla que en todas las cajas Petri se mostró sensibilidad de *R. Solani* a *Trichoderma* spp., y el nivel de sensibilidad fue del 77.9% promedio; dado el nivel de sensibilidad promedio que fue obtenido tomando de cada colonia de *Trichoderma* spp con un valor del 25% representando un total del 100% por cada unidad experiemetal, el valor de nivel de sensibilidad se debió al excesivo crecimiento de *R. solani* lo cual no permitió a que algunas colonias de *Trichoderma* spp produjeran suficiente micelio y liberara metabolitos antifungicos en las cajas Petri, este nivel de sensibilidad se le puede atribuir a que la toma de este dato se hizo basado cuando las cajas Petri mostraban inhibición del crecimiento micelial de *R. Solani* cuando este se encontraba ante la presencia de *Trichoderma* spp. Mas sin embargo algunas colonias de *Trichoderma* spp fueron irrumpidas por *R. Solani*

debido a su excesivo y acelerado crecimiento. A su vez esto se le puede atribuir también a que algunas razas de *R. solani* pueden encontrar sus condiciones óptimas acercándose a 35°C y por encima de esta temperatura (Agrios, 2004) y en la elaboración de las pruebas de sensibilidad las cajas se mantuvieron a temperatura promedio de 25°C.

Por lo tanto la inhibición de crecimiento de las colonias en donde *R. solani* no tuvo contacto a *Trichoderma* spp que representa el 77.9%, se le puede atribuir a que *Trichoderma* es un hongo capaz de ganar nutrientes en la rizosfera e inactivar enzimas de patógenos es por ello la inhibición de crecimiento de *R. solani* ante la presencia de este *Trichoderma* spp. (Barnett, 2008),

7.2 CRECIMIENTO DE *R. solani* EN PRESENCIA Y SIN PRESENCIA DE trichoderma SPP EN RELACIÓN AL TIEMPO

A continuación el grafico no 7.1 que nos presenta el crecimiento de *R. solani* con y sin presencia de *Trichoderma* spp en relación al tiempo, esta variable fue tomada en horas y el crecimiento e milímetros en ambas graficas respectivamente.

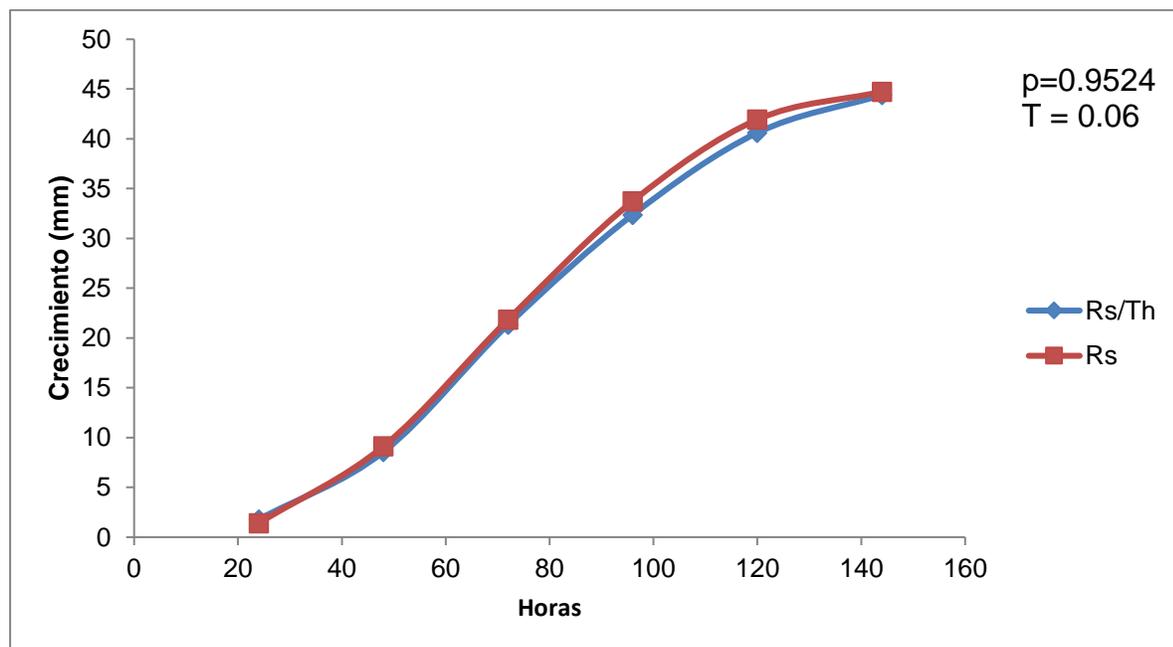


Figura 7. Crecimiento de *R. solani* en presencia y sin presencia de *Trichoderma* spp.

Como se observa en la figura 6. Las curvas de crecimiento no tienen diferencia estadística, como se muestra en el anexo 1. ($p=0.95$, $\alpha=0,05$). Por lo tanto no se rechaza la hipótesis nula, y se establece que las medias del crecimiento de *R. solani* en presencia de *Trichoderma* spp y sin presencia de este hongo son estadísticamente iguales.

Se puede determinar que el crecimiento dio resultados iguales debido a que las medidas tomadas en las cajas Petri fueron elaboradas desde el centro hasta la orilla de la caja como se muestra en la figura 7 sin tomar en cuenta el contacto de *R. solani* con *Trichoderma* spp, por lo tanto se puede determinar que *R. solani* no detiene su crecimiento al menos que entre en contacto con el espacio en donde se encuentren los metabolitos anti fúngicos, es importante mencionar también que *Trichoderma* spp no libero metabolitos anti fúngicos al medio de cultivo dado que no existieron diferencias de crecimiento de *R. solani* donde no existía presencia de *Trichoderma*, por lo tanto se puede determinar que los metabolitos antifungicos de *Trichoderma* spp fueron liberados alrededor de las colonias de *Trichoderma* spp.



Figura 8. Cajas petri con *R. solani* en presencia de *Trichoderma* spp con un 100% de sensibilidad a la izquierda y a la derecha *R. solani* sin presencia de *Trichoderma* spp.

7.3 COMPARACIÓN DE DESARROLLO DE *R. solani* EN FUNCIÓN DEL TIEMPO

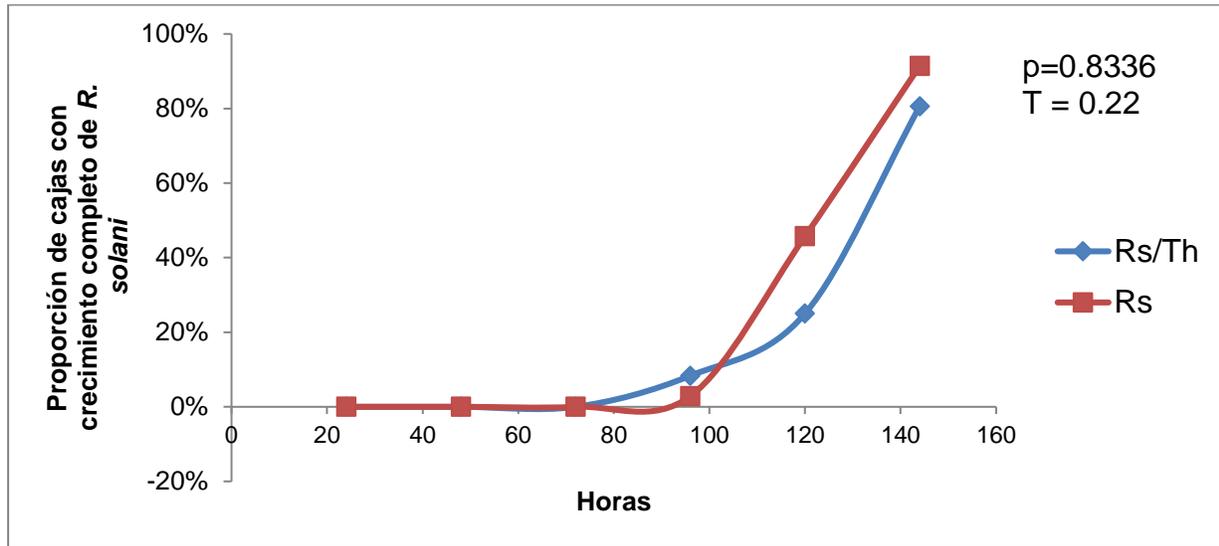


Figura 9. Comparación de desarrollo de *R. solani* en función del tiempo.

La figura 9 muestra curvas de desarrollo de *R. Solani* en función del tiempo y la proporción total de cajas donde se desarrolló en toda la superficie *R. solani*. Se puede observar que las cajas donde se inoculó con *Trichoderma* en comparación con las que no tenía son levemente diferentes, sin embargo la prueba t Student confirma que no existen diferencias significativas entre estos ($p=0.8336$, $\alpha=0.05$) como se observa en el anexo 2.

La Figura 9 muestra que a las 96 horas transcurridas después de la siembra de las cajas Petri con *R. solani* y *Trichoderma* spp (Rs/Th) el 8% del total de las cajas estaban llenas, y en las cajas con *R. solani* (Rs) transcurridas 96 horas el 3% del total de las cajas estaba llena, y a las 120 horas las cajas con *R. solani* y *Trichoderma* spp (Rs/Th) mostraban el 25% de cajas Petri llenas, y en las cajas Petri con *R. solani* (Rs) a las 120 horas un aumento del 21% en relación a (Rs/Th), y a las 144 horas (Rs/Th) presentaba el 81% de cajas llenas más sin embargo (Rs) presento un 10% más en relación a (Rs/Th).

Dado a que ambas graficas no muestran un diferencia significativa en la reducción del desarrollo de *R. solani* al tiempo, por lo que se esperaba una disminución de tiempo pero

sin embargo no existen diferencias, al menos que *R. solani* hubiera encontrado el halo en donde se encontraban los metabolitos antifúngicos de *Trichoderma* spp.

VIII. CONCLUSIONES

- Se estableció que *R. solani* tiene un 100% de sensibilidad a *Trichoderma* spp y que alcanzó un nivel de prevalencia de sensibilidad del 77.9%.
- Se determinó que no hubo diferencias estadísticas en el crecimiento de *R. solani* en el medio de cultivo con y sin presencia de *Trichoderma* spp.
- Se determinó que no existieron diferencias estadísticas en el desarrollo de *R. solani* con y sin presencia de *Trichoderma* spp en los medios de cultivo.
- Viendo la problemática principal en muchos cultivos que son afectados por *R. solani* en Guatemala según el CPC (2003), *Trichoderma* spp se puede proponer como una alternativa para el control fitosanitario después de las pruebas de sensibilidad realizadas, alcanzando prevalencia de sensibilidad del 100% en campo y permitiendo que sus cultivos muestren un nivel de control o inhibición de crecimiento de *R. solani* en la raíz del 77.9% *Trichoderma* spp siendo un hongo capaz de competir por nutrientes en la rizósfera de la raíz, estudios demuestran también que tiene como efecto una mejor nutrición para la planta en donde este hongo está establecido (Howell, 2003).

IX. RECOMENDACIONES

- Dados los resultados, que donde hubo desarrollo de las colonias de *Trichoderma* spp. no hubo desarrollo de *R. solani* se recomienda evaluar *Trichoderma* spp como forma preventiva protegiendo la raíz de cualquier cultivo, ya que *R. solani* no inhibe su crecimiento en un medio, pero si al entrar en contacto con la rizosfera de *Trichoderma* spp.
- Se recomienda continuar con evaluaciones de *Trichoderma* como forma preventiva sobre diferentes agentes causales de diferentes enfermedades de suelo en diferentes cultivos.

X. BIBLIOGRAFÍA

Agrios, G., (2004). Fitopatología. Editorial Limusa. Noriega. 838 pp.

Prado, A., Acosta, C., (2011). Biología y manejo de *Rhizoctonia solani*. Centro de Biotecnología y Bioindustria, Universidad de Colombia. Colombia. CORPOICA.

ANACAFÉ. (2014). Manejo de semilleros para minimizar daños por el mal del talluelo. (En línea). Consultado en 17 de Febrero del 2015. Disponible en: http://www.anacafe.org/glifos/index.php?title=Investigaciones_ManejoSemilleros.

Arango, M., Ordoñez, N., Castañeda, E. y Retrepo, A. (1988). Manual hongos contaminantes del laboratorio. Instituto nacional de salud. Corporación para investigaciones biológicas. 127pp.

Barnett, H. (2008). Ilustración generada de hongos imperfectos. 3ra. Edición. Burgess publishing. Mineapoles, Minesota. 241 pp.

Benitez, T., Delgado, J., Rincon, A., Rey, M. (1996). Biofungicidas: Trichoderma como agente de control biológico contra hongos fitopatogeneticos. Trivandrum. 129-150pp.

Ceresini, P. (1999). *Rhizoctonia solani* (en línea). NC State University. Consultado el 22 de febrero de 2007. Disponible en: <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Rhizoctonia/Rhizoctonia.html>.

Carrillo, J., García, R., Allende. R., Márquez. I., Millán. S. y Gaxiola. G. (2001). Sensibilidad a cobre de cepas de *Xanthomonas campestris* pv, *vesicatoria* (Doidge) Dye, en Sinaloa, México. Facultad de Agronomía, Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México.

Catálogo de la vida, (2015). *Rhizoctonia solani*. (En línea). Consultado el 20 de mayo del 2015. Disponible en: <http://www.catalogueoflife.org/col/details/database/id/28>.

Catálogo de la vida, (2015). *Trichoderma harzianum*. (En línea). Consultado el 20 de mayo del 2015. Disponible en: <http://www.catalogueoflife.org/col/details/species/id/17437837>

Chang, Y., Baker, R., Kleifeld, O. (1986). Incremento del crecimiento de plantas en la presencia de agentes de control biológico *Trichoderma harzianum*. Enfermedades de plantas. 145-148 pp.

Chávez, A. (2014). Evaluación de flutalonil para el control de *Rhizoctonia solani* en semillero de Crisantemo (*Crysanthemum* spp); San Juan Sacatepéquez, Guatemala. Tesis Ing. Agr. Universidad Rafael Landívar. Guatemala, Guatemala. 53 p.

Chávez, M. (2006). Producción de *Trichoderma* sp y evaluación de su efecto en cultivo de Crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). Trabajo de grado. Microbiología industrial. Valencia, España.

Cook, R., Baker, R. (1983). La naturaleza y practica del control biológico de patógenos de plantas. Sociedad Americana fitopatológica. San Paul, Minnesota, Usa.

CPC. (2003). Compendio de protección de cultivos. CAB internacional. 2 discos compactos.

Estrada, R. (2006). Comunicación personal. Guatemala

García, J. (2008). Evaluación de tres métodos de aplicación del fungicida Flutalonil 50 WP para el control de Rhizoctoniasis (*Rhizoctonia solani*) en el cultivo de papa (*solanum tuberosum*) en Patzun, Chimaltenango. Tesis Ing. Agr. Guatemala, Guatemala. Universidad Rafael Landívar. 43p.

Garnica, C., García, A., García, R. (2002). Distribución, incidencia y alternativas de control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa en el Estado de Mérida, Venezuela: Revista latinoamericana de la papa. Venezuela: Venezuela.

Gonzales, C., (1998). Efecto de la aplicación de *Trichoderma harzianum* sobre la composición cuantitativa de bacterias, hongos y actinomicetos de la rizósfera de solanáceas y su influencia en el crecimiento vegetativo. Instituto de investigaciones agropecuarias. Cuba. 59-65.

Hjeljord, L., Trosno, A. (1998). *Trichoderma* y *Gliocladium* en biocontrol: una visión general. In C.P. 135-151 p.

Howell, C., (2003). Mecanismos empleados por *Trichoderma* spp en el control biológico de enfermedades de plantas. La historia y evolución de recientes conceptos. Enfermedades de plantas. 4-10.

INE. (2004). Censo Agropecuario. Guatemala: INE

INE. (2014). Censo agropecuario: Principales resultados de productos de origen vegetal. Guatemala: INE.

JH BIOTECH. (2016). PROMOT PLUS. (En línea). Consultado en 28 de enero de 2016. Disponible en: http://www.jhbiotech.com/info/promotPLUS_info.htm.

Knudsen, G., Bin, L., (1990). Efectos de temperatura en *Trichoderma* spp. Fitopatología. 724-727

- Liu, B., Baker, R. (1980). Mecanismo de control biológico en suelo sorpresivo a *Rhizoctonia solani*. *Fitopatología*. 404-412 pp.
- Montoya, R. (2008). Control biológico de la pudrición del tallo (*Rhizoctonia solani*) en el cultivo de Crisantemo (*Chrysanthemum* spp) en la Estancia de la Cruz, Zunil, Quetzaltenango. Tesis Ing. Agr. Universidad Rafael Landívar. Guatemala, Guatemala. 87 p.
- Ochoa, J. (1996). Control biológico de marchitamiento vascular del clavel ocasionado por *Fusarium oxisporum* mediante el uso de microorganismos potencialmente antagonistas *Pseudomonas fluorescens*, *Streptomyces coelicolor* y *Trichoderma hamatum*. Trabajo de Grado (Biólogo). Universidad javeriana facultad de ciencias. Depto de biología. Santafé Bogotá.
- Parmeter. W., (1970). Características que permiten clasificar taxonómicamente aislamientos de *R. solani*. Tesis, Universidad pontífice de valencia. Valencia, España.
- Picaso. J., (2000). Metodos básicos para el estudio de la sensibilidad a los antimicrobianos. Editorial Sociedad Española de enfermedades infecciosas. España, España.
- Rodríguez, V. (2002). Efecto antagónico y biocontrolador de algunos microorganismos saprofiticos contra *Rhizoctonia solani*, un fitopatonego causante del (damping off) en plántulas de tomate. Tesis, Universidad Mayor de San Marcos. Perú, Perú.
- Salmando, P. (1996). Pregerminación controlada de semillas de tomate variedad chonto en presencia de *T. koningii*. Valencia, España. 234 pp.
- Samuels. (1996). *Trichoderma*: Una revision biologica y sistematica de los generos. *Investigaciones micológicas*. 100: 923-935.

Sharvelle, E. (2006). La naturaleza y usos de modernos fungicidas. Editoria Burgess. Mineapolis. 308 pags.

Whag, H., (1999). Identificacion de *Rhizoctonia solani*. (En línea). Consultado en 25 de Febrero del 2015 Disponible en: www.nodo50.org/.../IDENTIFICACIÓN%20DE%20RHIZOCTONIA.pdf

Widham, M. (1986). Un mecanismo para incrementar el crecimiento de una planta inducido por *Trichoderma* spp. Fitopatologia. 521 pags.

Zimand , G., Elad, Y., Chet, I. (1996). Efecto de *Trichoderma harzianum* sobre *Botrytis cinérea*. Fitopatología. 1260 pp.

XI. CRONOGRAMA DE TRABAJO

Cuadro 2. Cronograma de actividades a realizar en el estudio.

Actividad	Semanas			
	1	2	3	4
Elaboración de Medio PDA				
Preparación de cajas Petri con PDA				
Siembra de <i>Trichoderma</i> spp en los medios				
Siembra de <i>R. solani</i> en los medios				
Observaciones de cajas Petri				
Toma de datos				
Redacción de informe				

XII. ANEXOS

Anexo 1. Prueba T para muestras independientes para crecimiento

Nueva tabla: 25/02/2015 - 10:46:48 a.m. - [Versión : 01/11/2014]

Prueba T para muestras Independientes

<u>Clasific</u>	<u>Variable</u>	<u>Dif Medias</u>	<u>pHomVar</u>	<u>T</u>	<u>p-valor</u>	<u>prueba</u>
Tratamiento	Crecimiento(mm)	0.62	0.9592	0.06	0.9524	Bilateral

Anexo 2. Prueba T para muestras independientes para % cajas llenas

Nueva tabla : 25/02/2015 - 10:44:42 a.m. - [Versión : 01/11/2014]

Prueba T para muestras Independientes

<u>Clasific</u>	<u>Variable</u>	<u>Dif Medias</u>	<u>pHomVar</u>	<u>T</u>	<u>p-valor</u>	<u>prueba</u>
Tratamiento	%cajasllenas	0.04	0.7034	0.22	0.8336	Bilateral

f