

Manejo Biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. y *Rhizoctonia solani* Kühn en Jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.)

Ernesto Fernández-Herrera, Marcelo Acosta-Ramos, Francisco Ponce-González y Victor Manuel-Pinto, Universidad Autónoma Chapingo, Depto. de Parasitología Agrícola, Programa en Protección Vegetal, km 38.5 Carr. México-Texcoco, Chapingo, Edo. de México, México CP 56230. Correspondencia: acostam_14@yahoo.com.mx; netofh@hotmail.com

(Recibido: Agosto 3, 2006 Aceptado: Noviembre 6, 2006)

Fernández-Herrera, E., Acosta-Ramos, M., Ponce-González, F. y Manuel-Pinto, V. 2007. Manejo biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. y *Rhizoctonia solani* Kühn en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista Mexicana de Fitopatología 25:35-42.

Resumen. Se evaluó la influencia de cuatro productos biológicos comerciales sobre la incidencia de los hongos fitopatógenos de la raíz *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*, así como su influencia en el crecimiento de plantas de jitomate var. Río Grande. Se inoculó *Phytophthora capsici* (5×10^4 zoosporas mL^{-1}), *Rhizoctonia solani* (2% de grano infectado, v:v; grano:suelo), *Fusarium oxysporum* (5×10^6 conidios mL^{-1}) y la mezcla de los tres hongos a la misma concentración. La incidencia de la enfermedad se evaluó 50 días después de la inoculación de los hongos, y la altura y biomasa seca total de las plántulas se cuantificó cuando éstas cumplieron 35 días de edad en las charolas germinadoras. Se usó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento, la unidad experimental estuvo constituida por cinco plántulas por repetición. Los productos evaluados no protegieron a las plantas de jitomate de la infección ocasionada por *P. capsici*, *F. oxysporum* y la inoculación conjunta de los tres fitopatógenos. Sin embargo, la infección por *Rhizoctonia solani* fue reducida de manera eficiente con estos productos: el tratamiento T22 (*Trichoderma harzianum*) protegió 100%, mientras que los tratamientos Bio, End y 343 protegieron 73.3% a las plántulas en un suelo infestado con inóculo de este patógeno. En los tratamientos Bio, Bio + End y End + 343 se incrementó la altura 162.7, 149.4 y 47%, respectivamente, mientras que la biomasa seca total aumentó 320.7, 314.6 y 57.3%, respectivamente, con relación al testigo.

Palabras clave adicionales: Patógenos de suelo, *Trichoderma harzianum*, hongos micorrícicos, *Bacillus subtilis*.

Abstract. The influence of four commercial biological products on incidence of the phytopathogenic root fungi

Phytophthora capsici, *Rhizoctonia solani*, and *Fusarium oxysporum* was evaluated, as well as their influence on growth of tomato plants cv. Río Grande. *P. capsici* (5×10^4 zoospores mL^{-1}), *R. solani* (2% infected grain, v:v; grain:soil), *F. oxysporum* (5×10^6 conidia mL^{-1}), and a mixture of the three fungi at the same concentration were used as inocula. Disease incidence was evaluated 50 days after inoculation, and seedling height and total dry biomass were quantified when they were 35 days old in the germination trays. A completely randomized design with three replications per treatment was used. The experimental unit consisted of five seedling per replication. The products evaluated did not protect tomato seedlings from infection by *P. capsici*, *F. oxysporum*, and the mixture of the three phytopathogens. However, infection by *R. solani* was reduced efficiently with these products: T22 (*Trichoderma harzianum*) which gave a 100% protection, while Bio, End, and 343 gave 73.3%. Plant height increased 162.7, 149.4, and 47% with Bio, Bio + End, and End + 343, respectively, while total dry biomass increased 320.7, 314.6, and 57.3%, respectively, in relation to the control.

Additional keywords: Soil pathogens, *Trichoderma harzianum*, mycorrhizae, *Bacillus subtilis*.

El oomiceto *Phytophthora capsici* Leo. y los hongos *Rhizoctonia solani* Kühn y *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. causan pudrición de raíz y cuello en plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.), ocasionando pérdidas severas que afectan la calidad y cantidad de la producción del cultivo de jitomate (Mendoza-Zamora, 1996). Tradicionalmente, la protección del cultivo de jitomate contra el ataque de hongos patógenos se ha realizado mediante el control químico (Lagunas-Lagunas *et al.*, 2001); sin embargo, aunque los agroquímicos han permitido obtener incrementos substanciales en la producción, el uso indiscriminado ha ocasionado problemas de contaminación ambiental que han impactado negativamente en la biodiversidad de los agroecosistemas, causando la inestabilidad de los mismos que se manifiesta, entre otros efectos nocivos, en una

incidencia mayor de enfermedades en los cultivos. Esto y los problemas de seguridad pública inherentes a la fabricación y uso de agroquímicos han conducido a la búsqueda y establecimiento de nuevas alternativas de manejo de las enfermedades (Zavaleta-Mejía, 2000). El control biológico es una alternativa de manejo de las enfermedades causadas por organismos fitopatógenos habitantes de la rizósfera del suelo (Zavaleta-Mejía, 1994). Entre los microorganismos más importantes usados como agentes de control biológico se encuentran las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPR; plant growth promoting rhizobacteria, por sus siglas en inglés), los hongos micorrícicos arbusculares (HMA) y algunas especies del género *Trichoderma* (Bloembergen y Lugtenberg, 2001; Budi *et al.*, 1999; Holguin *et al.*, 1996; Kucuk y Kivanc, 2003; Wei *et al.*, 1996). Los principales mecanismos responsables del control biológico de hongos y bacterias patógenas son: 1) la competencia por los nutrientes o espacios en la rizósfera de las plantas; 2) la inducción de resistencia sistémica inducida (RSI); y 3) la producción de metabolitos antifúngicos (Kloepper *et al.*, 2004; Reddy *et al.*, 1994; Zak, 1964). Actualmente, en algunos países ya se tienen registrados comercialmente varias especies de microorganismos para el manejo de patógenos del suelo (Fernández-Larrea, 2001; Lewis y Papavizas, 1991). En México son escasas las investigaciones que se han realizado para el manejo biológico de fitopatógenos habitantes del suelo mediante el uso de microorganismos antagonistas. La mayoría se han realizado en laboratorio (Michel-Aceves *et al.*, 2001; Castillo-Fabela *et al.*, 2001; Elías-Ogaz *et al.*, 2005; Fariás-Rodríguez *et al.*, 1997a; Lagunas-Lagunas *et al.*, 2001; Villanueva-Silva *et al.*, 2005; Virgen y López, 1992) o invernadero (Aranda-Ocampo y Fucikovsky, 1996; Fariás-Rodríguez *et al.*, 1997b; Khalil-Gardezi *et al.*, 1998; Zavaleta-Mejía y Rojas-Martínez, 1989) y en menor número en campo (Ramos-Barraza *et al.*, 2005; Sandoval-Luna *et al.*, 2005). Por lo antes mencionado, es necesario realizar investigaciones que conduzcan al manejo de fitopatógenos habitantes del suelo, mediante el uso de microorganismos antagonistas, por lo que la presente investigación tuvo los objetivos siguientes: Evaluar la eficacia biológica de productos comerciales a base de *Bacillus subtilis* Cohn, hongos micorrícicos arbusculares, *Trichoderma harzianum* Rifai y bacterias benéficas sobre la incidencia de la pudrición de raíz y cuello en jitomate, ocasionada por *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* en invernadero, y determinar la influencia de estos productos biológicos en el crecimiento de plantas de jitomate en condiciones de invernadero.

MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Hongos Fitopatógenos del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México. Se obtuvo un aislamiento monozoospórico de *Phytophthora capsici* (Texcoco, México) sembrado en medio de cultivo jugo-tomate-agar (TA), un cultivo monoconidial

de *Fusarium oxysporum* (Culiacán, Sinaloa) y un cultivo punta de hifa de *Rhizoctonia solani* (Culiacán, Sinaloa). Estos patógenos se sembraron en medio papa-dextrosa-agar (PDA). **Preparación y cuantificación del inóculo.** Los aislamientos antes señalados se cultivaron en medio TA y PDA para su incremento masivo. Después de 15 días de crecimiento, se elaboró el inóculo de cada uno de los aislamientos, tal y como se indica a continuación. *Phytophthora capsici*. En cajas Petri con 20 mL de agua destilada esterilizada se colocaron 10 discos de medio de cultivo que contenían micelio de *P. capsici*. El material se incubó a 25°C por tres días para la formación de esporangios y la posterior liberación de sus zoosporas, lo cual se logró después de poner las cajas Petri a 12°C por media hora (Ramírez-Villapudua y Romero-Cova, 1980). Posteriormente, con la ayuda de un hemacitómetro se ajustó una suspensión de zoosporas a una concentración de 5×10^4 mL⁻¹. A cada planta de jitomate se le colocó 1 mL de la suspensión de zoosporas. *Rhizoctonia solani*. Se colocaron 250 cm³ de granos de trigo sano más 150 mL de agua destilada en un matraz de 500 mL, y se dejó reposar por 24 h. Posteriormente, la mezcla se esterilizó en autoclave por 2 h (en dos períodos de 1 h, con un tiempo de reposo de 3 h entre ambos períodos de esterilización). Finalmente, el grano se inoculó con el aislamiento de *R. solani* y en seguida se incubó durante 3 semanas a temperatura ambiente $23 \pm 2^\circ\text{C}$ (Sneh *et al.*, 1991).

Fusarium oxysporum. El hongo se sembró en 5 cajas Petri con medio PDA, al cual se le agregaron trocitos de raíz y tallo de plántulas de jitomate esterilizado en autoclave por 15 min a una temperatura de 121°C, para prevenir una posible pérdida de virulencia del patógeno. Cuando el micelio del hongo cubrió la superficie total de las cajas, se le agregaron 20 mL de agua destilada estéril; después, con un portaobjeto se raspó el micelio para separar los conidios; la suspensión resultante se pasó a través de una manta de cielo para retener el micelio y permitir que sólo pasaran los conidios; el filtrado se colectó y con la ayuda de un hemacitómetro se preparó una suspensión de conidios de *F. oxysporum* a una concentración de 5×10^6 mL⁻¹ (Rowe, 1980).

Aplicación de los productos biológicos comerciales. Se evaluaron los productos comerciales Bioraíz®, T-22®, Healthy Start® 3-4-3, Endo-Rhiza®, y la combinación de éste último con cada uno de los tres primeros, para determinar su impacto sobre la incidencia de *P. capsici*, *R. solani*, *F. oxysporum* y la mezcla de éstos en condiciones de invernadero, así como en la altura y peso seco en plántulas de jitomate. Se realizaron dos aplicaciones de los productos biológicos en las plántulas de jitomate var. Río Grande de la manera siguiente: 1) al momento de la siembra de las semillas en charolas y 2) a los 34 días después de la siembra, en ambos casos la aplicación se realizó por riego abundante y homogéneo de cuatro charolas germinadoras de plástico con 200 cavidades cada una. Sólo el producto Endo-Rhiza® (hongos micorrícicos) se aplicó una sola vez (al momento de la siembra de las semillas) en las charolas germinadoras, mediante su incorporación con

Cuadro 1. Productos biológicos comerciales evaluados por su efecto en la incidencia de *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporum* en plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*).

Tratamiento ^x	Dosis ^y	Cantidad de inóculo ^z
Bio+Pc	2 g L ⁻¹	T1
Bio+Rs	"	T2
Bio+Fo	"	T3
Bio+Mezcla	"	T4
343+Pc	5 g L ⁻¹	T1
343+Rs	"	T2
343+Fo	"	T3
343+Mezcla	"	T4
T22+Pc	3 g L ⁻¹	T1
T22+Rs	"	T2
T22+Fo	"	T3
T22+Mezcla	"	T4
End+Pc	6.3 g	T1
End+Rs	"	T2
End+Fo	"	T3
End+Mezcla	"	T4
End+Bio+Pc	6.3 g L ⁻¹ + 2 g L ⁻¹	T1
End+Bio+Rs	"	T2
End+Bio+Fo	"	T3
End+Bio+Mezcla	"	T4
End+343+Pc	6.3 g L ⁻¹ + 5 g L ⁻¹	T1
End+343+Rs	"	T2
End+343+Fo	"	T3
End+343+Mezcla	"	T4
End+T22+Pc	6.3 g L ⁻¹ + 3 g L ⁻¹	T1
End+T22+Rs	"	T2
End+T22+Fo	"	T3
End+T22+Mezcla	"	T4
<i>Phytophthora capsici</i>		T1
<i>Rhizoctonia solani</i>		T2
<i>Fusarium oxysporum</i>		T3
Pc + Rs + Fo		T4

^xBio = Bioraíz® (*Bacillus subtilis*); Endo = Endo-Rhiza® (hongos micorrícicos arbusculares); T22 = T-22® (*Trichoderma harzianum*); 343 = Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas). Pc = *Phytophthora capsici*; Rs = *Rhizoctonia solani*; Fo = *Fusarium oxysporum*.

^yDosis de producto comercial.

^zT1 = 5 x 10⁴ zoosporas mL⁻¹ de *Phytophthora capsici*; T2 = 2% de grano con *Rhizoctonia solani* (v:v; grano:suelo); T3 = 5 x 10⁶ conidios mL⁻¹ de *Fusarium oxysporum*; T4 = Inóculo de Pc + Rs + Fo a las mismas concentraciones por planta.

el peat moss. Se inocularon 700 plántulas de jitomate con los bioproductos evaluados y sus mezclas (100 plántulas por tratamiento), siendo los tratamientos los siguientes: 1) Bio, 2) 343, 3) T22, 4) End, 5) End + Bio, 6) End + 343, 7) End + 322 y 8) testigo (sin bioproductos). Los tratamientos evaluados

para la altura y peso seco de las plántulas fueron los mismos que los antes mencionados. Para la incidencia de enfermedad se obtuvieron 33 tratamientos mediante la aplicación individual y combinada de los productos y los fitopatógenos (Cuadro 1).

Inoculación con los fitopatógenos. Al cumplir 35 días de edad, 495 plántulas se trasplantaron en bolsas de polietileno de color negro de 2 kg, las cuales contenían suelo de monte que se esterilizó con bromuro de metilo. Las inoculaciones se realizaron al cuello de las plántulas de jitomate var. Río Grande (15 plántulas por tratamiento) con 1 mL de una suspensión de *P. capsici* a una concentración 5 x 10⁴ zoosporas mL⁻¹, 2% de grano infectado con *R. solani* (v:v; grano:suelo), 1 mL de una suspensión de *F. oxysporum* a una concentración de 5 x 10⁶ conidios mL⁻¹ y la mezcla de los tres hongos a la misma concentración. Las plantas se mantuvieron durante 50 días en invernadero a una temperatura de 25 + 5°C y una humedad relativa de 80 + 5%. El riego de las plantas se mantuvo constante (cada 3 días) para todos los tratamientos.

Variables evaluadas. Las variables evaluadas fueron incidencia de la enfermedad a los 50 ddi, la cual se consideró como el número de plantas muertas (*F. oxysporum*, *P. capsici*) o con síntomas de la enfermedad (*R. solani*) con respecto al número total de plantas por repetición, y la altura y biomasa seca total de las plántulas de jitomate (de 35 días de edad) al momento del trasplante en las macetas. La altura se evaluó con una regla midiendo al azar 15 plántulas (5 por repetición) de jitomate por tratamiento (de las 40 plantas restantes de cada tratamiento). Para la biomasa seca total se tomaron las 15 plantas (5 por repetición) usadas para la altura, para lo cual se colocó el follaje, tallo y raíz de cada una en una estufa a 31°C, hasta que su peso se mantuvo constante para realizar en ese momento el pesaje correspondiente con una báscula analítica.

Diseño experimental y análisis de los datos. Se usó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento; la unidad experimental estuvo constituida por cinco plantas por repetición (una por maceta), tanto para la incidencia de la enfermedad, como para la altura y biomasa seca total. Los resultados de altura, biomasa seca e incidencia de enfermedad se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y a una comparación de medias de Tukey (p < 0.05), utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) para Windows v8. 12.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Influencia de los productos biológicos en el crecimiento de las plántulas de jitomate. El análisis de varianza para las variables altura y biomasa seca total de las plantas inoculadas con productos biológicos, mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (Cuadro 2). Se observó que la mayor altura se obtuvo con los tratamientos Bio, End + Bio y 343 con incrementos de 162.7, 149.4 y 47%, respectivamente, en relación con el testigo sin tratar, mientras que para la variable biomasa seca total, los mejores tratamientos fueron

Bio, End + Bio y End con incrementos de 320.7, 314.6 y 57.3%, respectivamente, en comparación con el testigo. Los incrementos observados en las plantas tratadas con los productos biológicos quizás se puedan atribuir a una absorción mayor de nutrimentos minerales por parte de la planta, a través de un crecimiento mayor de las raíces inducido probablemente por los microorganismos benéficos introducidos, ya sea mediante la producción de algunas fitohormonas en el caso de las bacterias o una exploración mayor del sustrato mediante las hifas de los hongos arbusculares. Algunos de los aspectos antes señalados coinciden con lo indicado por Bashan *et al.* (1996a), quienes mencionaron que la incorporación de bacterias benéficas al sistema de raíces de las plantas puede modificar diversas variables del follaje y raíz, mediante el incremento en la absorción de minerales por parte de la planta, dentro de los cuales se han propuesto que la absorción de NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{2-} , K^+ , Rb^+ y Fe^{2+} son los minerales responsables de incrementar la materia seca total. Así mismo, los resultados obtenidos en este trabajo concuerdan con los obtenidos por Díaz-Vargas *et al.* (2001) quienes observaron un incremento significativo de 371% en el peso seco total de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. *longifolia*) inoculadas con bacterias promotoras del crecimiento, en comparación con el testigo. Así también, Carreón *et al.* (2000) evaluaron la aplicación de hongos micorrízicos en plantas de zarzamora (*Rubus* spp.), y encontraron un aumento en la altura de las plantas de 100% con respecto a las plantas sin inocular, atribuyendo este resultado a una mayor capacidad de la planta para la absorción de nutrimentos, principalmente fósforo, a través del micelio extramatricial de los hongos micorrízicos.

Cuadro 2. Influencia de la aplicación de cuatro productos biológicos comerciales en el crecimiento y biomasa de plántulas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*) de 35 días de edad (sin inocular) en invernadero.

Tratamiento ^x	Altura		Biomasa seca total	
	(cm)	(%) ^y	(g)	(%) ^y
Bio	21.8 a ^z	162.7	0.345 a	320.7
343	12.2 c	47.0	0.124 b	51.2
T22	9.8 e	18.0	0.104 bc	26.8
End	11.8 cd	42.2	0.129 b	57.3
End+Bio	20.7 b	149.4	0.340 a	314.6
End+343	10.9 d	31.3	0.115 b	40.2
End+T22	11.6 cd	39.8	0.111 b	35.4
Testigo	8.3 f	0	0.082 c	0

^xBio = Bioraíz® (*Bacillus subtilis*); Endo = Endo-Rhiza® (hongos micorrízicos arbusculares); T22 = T-22® (*Trichoderma harzianum*); 343 = Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas).

^yIncremento con respecto al testigo (considerado como 100%).

^zValores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente (Tukey, $p < 0.05$). Se muestran datos originales.

Por otra parte, el hecho de que las plantas de los tratamientos Bio y End hayan tenido un ligero incremento en altura y biomasa seca total, estadísticamente no significativo, con respecto a cuando éstos se inocularon en combinación con otro bioproducto (Bio + End, End + T22, End + 343), quizás pueda deberse a una posible competencia entre ambos microorganismos por las fuentes de carbono exudados por las raíces, o bien, por el espacio en la rizósfera de las plantas (Gryndler y Vosátka, 1996).

Manejo biológico de *P. capsici* en plantas de jitomate. Los tratamientos Bio, End, T22 y 343 no proporcionaron protección contra la infección de *P. capsici* en plantas de jitomate. Todas las plantas inoculadas presentaron un obscurecimiento y constricción a nivel del cuello (base del tallo) a partir del cuarto día, ocasionando la caída y muerte de todas las plantas a los 7 días después de la inoculación (ddi). Algunas posibles explicaciones sobre el hecho de que ninguno de los productos biológicos utilizados en este bioensayo halla disminuido la incidencia de la marchitez ocasionada por *P. capsici* son: 1) los productos evaluados a base de microorganismos benéficos, promueven principalmente el crecimiento y desarrollo de las plantas, y que probablemente no tienen propiedades contra *P. capsici*; 2) la cepa *T. harzianum* (T-22®) por ser una especie introducida, no haya colonizado eficientemente la rizósfera de las plantas de jitomate, y por lo tanto, no existió parasitismo sobre el fitopatógeno o bien, la producción de sustancias antagonicas de *T. harzianum* no fueron suficientes para reducir el impacto de *P. capsici* en las plantas; 3) la cantidad de inóculo utilizada para la inducción de la enfermedad fue alta (5×10^4 zoosporas mL^{-1} por planta). Resultados similares fueron reportados por Lagunas-Lagunas *et al.* (2001) quienes evaluaron tres cepas de *B. subtilis* nativas contra la marchitez del jitomate (*P. capsici*) y observaron que ninguna de las cepas de *Bacillus* redujo la incidencia y severidad de la marchitez ocasionada por dicho fitopatógeno, lo cual se atribuyó a que la bacteria no presentó suficiente producción de sustancias antagonicas o éstas se produjeron pero fueron degradadas o quedaron adsorbidas en las partículas del suelo. Por otro parte, Ezziyyani *et al.* (2004) reportaron que al inocular plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) con *T. harzianum*, observaron 56% en la disminución de la marchitez en condiciones de invernadero y 22% en campo, en comparación con las plantas no tratadas con *T. harzianum* e inoculadas con *P. capsici*. Algunos autores (Duffy y Weller, 1995; Mathre *et al.*, 1999; Raupach y Kloepper, 1998) sugieren que para obtener un control biológico eficaz de fitopatógenos del suelo, se debe seleccionar y utilizar una mezcla de varios antagonistas con un espectro amplio de actividad antagonica, diferentes estrategias de colonización y mecanismos de supresión. En este mismo sentido, Lagunas-Lagunas *et al.* (2001) sugieren que quizás en el control biológico de *P. capsici* se pudiera utilizar una mezcla de diferentes microorganismos benéficos, a los cuales se les deberá proporcionar las condiciones idóneas para que las poblaciones se incrementen, y aumenten

su potencial antagonico a través de la incorporación de materia orgánica y labores culturales.

Manejo biológico de *R. solani* en plantas de jitomate. La aplicación del producto T-22® (*T. harzianum*) en plantas de jitomate, redujo significativamente la incidencia de la marchitez ocasionada por *R. solani*, la cual fue diferente estadísticamente a los demás tratamientos (Cuadro 3), ya que mostró 100% de protección de las plantas con respecto al testigo (*R. solani*). Estas plantas testigo mostraron una reducción de crecimiento, amarillamiento del follaje y presencia de pequeños canchales de color café-oscuro, secos, de aspecto agrietado en la raíz y cuello de las plantas. La protección lograda con el producto a base de *T. harzianum* se puede deber a la cualidad que tiene esta especie para producir enzimas como celulasas, β -1,3- glucanasa y quitinasas, las cuales degradan la pared celular de los fitopatógenos (Kücük y Kivanc, 2003), así como al parasitismo directo que ejerce *T. harzianum* sobre los hongos fitopatógenos (Kücük y Kivanc, 2004; Ozbay *et al.*, 2004). Resultados similares obtuvieron Aziz *et al.* (1997) al evaluar el hongo *Trichoderma lignorum* (Tode) Harz para el manejo del ahogamiento (*R. solani*) en semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Estos autores observaron que las semillas no tratadas con *T. lignorum* sembradas en suelo infestado con el hongo, mostraron una incidencia de ahogamiento de 91%, mientras que en las semillas revestidas con *T. lignorum* (8 x 10⁶ conidios/semilla) desarrollaron una incidencia de la enfermedad de 6%. De igual forma, la utilización de *T. harzianum* en plantas de lechuga contra el hongo *Sclerotinia minor* Jagger, disminuyó la incidencia de la enfermedad 50% en comparación con las plantas del tratamiento testigo, lo

cual fue estadísticamente igual al tratamiento químico con carbendazim, que mostró 57% de reducción de la enfermedad con relación a las plantas testigo (Jones y Stewart, 1997). Los tratamientos Bio, End y 343 redujeron 73.3% la incidencia de la marchitez ocasionada por *R. solani*, lo cual fue estadísticamente igual a los tratamientos End + T22, End + 343 y End + Bio, los cuales mostraron reducciones en la incidencia de 73.3, 66.7 y 66.7%, respectivamente, con respecto al tratamiento inoculado con *R. solani*. La disminución de la enfermedad observada con los productos a base de bacterias benéficas y hongos formadores de micorriza arbuscular, se puede deber a que estos microorganismos estimularon eficientemente el crecimiento y sanidad de las plantas de jitomate, a través de la producción de sustancias promotoras del crecimiento y un mejoramiento en la nutrición de las plantas, obteniendo así, plantas de vigor mayor que resistieron mejor la infección del hongo. El efecto benéfico proporcionado por estos microorganismos en el crecimiento y desarrollo de las plantas ha sido ampliamente documentado por Azcón (2000), Bashan *et al.* (1996b) Bloemberg y Lugtenberg (2001), Hernández-Díaz y Chailloux-Laffita (2001), Kloepper *et al.* (2004), y Wei *et al.* (1996), quienes además mencionaron que *B. subtilis* y los HMA incrementan la disponibilidad de nutrientes para la planta, así como la producción de compuestos como vitaminas, reguladores del crecimiento y antibióticos que contribuyen en la sanidad y en la obtención de rendimientos altos en los cultivos agrícolas. El hecho de que los tratamientos End + T22, End + 343 y End + Bio mostraran una eficacia menor en el control de *R. solani* en relación con la aplicación individual de cada uno de ellos, se puede deber a un posible antagonismo entre ambos simbiontes, debido a una probable competencia por el espacio en la rizósfera o bien, por las fuentes de carbono entre los microorganismos (Gryndler y Vosátka, 1996).

Manejo biológico de *F. oxysporum* en plantas de jitomate.

Los tratamientos Bio, End, T22 y 343 no proporcionaron una protección adecuada contra la inoculación de *F. oxysporum*. Todas las plantas de jitomate inoculadas con este hongo presentaron a los 20 ddi amarillamiento de la hojas inferiores de un sólo lado de la planta, marchitez generalizada, xilema con coloración café oscuro, raíces con zonas necrosadas, y finalmente colapso y muerte a los 35 ddi. Explicaciones posibles sobre la nula eficacia de estos productos en el control de *F. oxysporum* pueden ser: 1) la cantidad alta de inóculo utilizado (5 x 10⁶ conidios mL⁻¹ por planta), lo cual pudo haber sido demasiado para la inducción de la enfermedad; 2) que las bacterias y hongos benéficos de los productos evaluados no tengan cualidades antagonicas contra *F. oxysporum*, y que sólo promuevan el crecimiento y desarrollo de las plantas (Kloepper y Schroth, 1978); 3) que la cepa de *T. harzianum* (T-22®) no haya producido las enzimas antagonicas suficientes como para inhibir el crecimiento de *F. oxysporum*; y 4) por la existencia de una mejor adaptación de *F. oxysporum* a las condiciones ambientales de la rizósfera de las plantas, lo que permitió el desplazamiento de los microorganismos

Cuadro 3. Efecto de cuatro productos biológicos comerciales en la incidencia de *Rhizoctonia solani*, 50 días después de haber sido inoculado en plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*) var. Río Grande, incubadas en invernadero.

Tratamiento ^a	Incidencia de la enfermedad	Reducción de la enfermedad ^b
Bio	26.7 bc ^c	73.3 b
343	26.7 bc	73.3 b
T22	0.0 c	100.0 a
End	26.7 bc	73.3 b
End+Bio	33.3 b	66.7 bc
End+343	33.3 b	66.7 bc
End+T22	26.7 bc	73.3 b
<i>R. solani</i>	100.0 a	0.0 c
Testigo (sin <i>R. solani</i>)	0.0 c	100.0 a

^aBio = Bioraíz® (*Bacillus subtilis*); Endo = Endo-Rhiza® (hongos micorrizicos arbusculares); T22 = T-22® (*Trichoderma harzianum*); 343 = Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas).

^bIncremento con respecto al testigo.

^cValores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente (Tukey, p < 0.05). Se muestran datos originales.

benéficos. Al respecto, Bashan *et al.* (1996b) mencionaron que una de las características más importantes que deben tener los microorganismos que se pretenden utilizar con fines prácticos en la agricultura, es que alcancen una biomasa significativa en la raíz, es decir, que sean colonizadores efectivos. Por lo tanto, al evaluar la capacidad de colonización de las raíces por las bacterias, es necesario distinguir entre la capacidad para adaptarse a la rizósfera y la habilidad para continuar desarrollándose a la par con las raíces en proceso de desarrollo, ya que solamente aquellos microorganismos que sean capaces de incrementar su biomasa en esta zona podrán ser considerados como colonizadores efectivos de raíces. No obstante a estos resultados, algunos autores han evaluado la aplicación *in vivo* de microorganismos benéficos (*Trichoderma*, bacterias y hongos micorrícicos) para el control de *Fusarium oxysporum* en cultivos como pepino (*Cucumis sativus* L.) (Liu *et al.*, 1995; Rose *et al.*, 2003), garbanzo (*Cicer arietinum* L.) (Ramos-Barraza *et al.*, 2005), maíz (*Zea mays* L.) (Mao *et al.*, 1998) y jitomate (Khalil-Gardezi *et al.*, 1998, 1999; Marois *et al.*, 1981; Sivan *et al.*, 1987), reduciendo así la incidencia de la enfermedad hasta en 50% con respecto al testigo (sin organismos benéficos).

Manejo biológico de la inoculación conjunta de los fitopatógenos en plantas de jitomate. Ninguno de los tratamientos evaluados protegió a las plantas de jitomate contra la infección conjunta de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*. Todas las plantas inoculadas con la mezcla de los fitopatógenos murieron a los 6 días después de la inoculación, presentando como primer síntoma ennegrecimiento y constricción de la base de los tallos, y posteriormente caída y muerte de las plantas. De las plantas muertas se realizó el reaislamiento de los fitopatógenos y se obtuvo una frecuencia de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* de 80, 10 y 10%, respectivamente. Los síntomas indicados y la frecuencia alta de reaislamiento de *P. capsici* indican que probablemente fue el que más influyó en la decadencia y muerte de las plantas, ya que los síntomas iniciales mostrados por la inoculación conjunta de estos fitopatógenos, fueron semejantes a los mostrados por la inoculación individual de *P. capsici*. Estos resultados se pueden deber a que la inoculación conjunta de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* fue muy agresiva para las plantas, ya que presentó el período de incubación más corto (2 días) con respecto a la inoculación individual de cada uno de ellos.

CONCLUSIONES

Los productos evaluados contribuyeron a proteger o disminuir la incidencia de la marchitez del jitomate ocasionada por *Rhizoctonia solani*. El producto a base de *Trichoderma harzianum* protegió en 100% a las plantas de jitomate inoculadas con granos de trigo infectados con *R. solani*, mientras que los productos elaborados con hongos micorrícicos y bacterias benéficas lo hicieron 73.3%. Ninguno de los productos evaluados protegió a las plantas de jitomate de la infección ocasionada por *Phytophthora capsici* y

Fusarium oxysporum. La utilización de estos productos incrementó la altura y biomasa seca de las plantas de jitomate hasta 162.7% y 320.7%, respectivamente, lo cual contribuye a una mejor sanidad de las plantas y por consecuencia, posiblemente a la obtención de rendimientos altos.

LITERATURACITADA

- Michel-Aceves, A.C., Rebollo-Domínguez, O., Lezama-Gutiérrez, R., Ochoa-Moreno, M.E., Mesina-Escamilla, J.C., y Samuels, G. J. 2001. Especies de *Trichoderma* en suelos cultivados con mango afectados por "Escoba de Bruja" y su potencial inhibitorio sobre *Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*. Revista Mexicana de Fitopatología 19:154-160.
- Aranda-Ocampo, S. y Fucikovsky, L. 1996. Evaluación del efecto de *Bacillus subtilis* en la producción del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo condiciones de invernadero. Revista Mexicana de Fitopatología 14:166.
- Azcón, R. 2000. Papel de la simbiosis micorrízica y su interacción con otros microorganismos rizosféricos en el crecimiento vegetal y sostenibilidad agrícola. pp. 1-15. In: A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato (eds.). Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular. Colegio de Postgraduados. Ediciones Mundi-Prensa Montecillo, Edo. de México, México. 251 p.
- Aziz, N.H., El-Fouly, M.Z., El-Essawy, A.A., and Khalaf, M.A. 1997. Influence of bean seedling root exudates on the rhizosphere colonization by *Trichoderma lignorum* for the control of *Rhizoctonia solani*. Botanical Bulletin Academia Sinica 38:33-39.
- Bashan, Y., Holguin, G. y Ferrera-Cerrato R. 1996a. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. I. *Azospirillum*. Terra 14:159-194.
- Bashan, Y., Holguin, G., y Ferrera-Cerrato, R. 1996b. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. II. Bacterias asociativas de la rizósfera. Terra 14:195-210.
- Bloemberg, V.G., and Lugtenberg, J.J. B. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. Biotic Interactions 4:343-350.
- Budi, S.W., Tuinen, D., Martinotti, G., and Gianinazzi, S. 1999. Isolation from the *Sorghum bicolor* mycorrhizosphere of a bacteria compatible with arbuscular mycorrhiza development and antagonistic towards soilborne fungal pathogens. Applied and Environmental Microbiology 65:5148-5150.
- Carreón, Y., Ballesteros, L., Salgado, R. y Alarcón, A. 2000. Inoculación de hongos micorrícicos arbusculares en plantas de zarzamora (*Rubus* sp.) micropropagadas. pp. 141-148. In: A. Alarcón y R. Ferrera-Cerrato (eds.). Ecología, Fisiología y Biotecnología de la Micorriza Arbuscular. Colegio de Postgraduados. Ediciones Mundi-Prensa. Montecillo, Edo. de México, México. 251 p.
- Castillo-Fabela, E., Gallegos-Morales, G., Hernández-Castillo, F.D., Cepeda-Siller, M., y Zamora-Villa, V.M. 2001. Efectividad de actinomicetos aislados de rizósfera de papa

- sobre *Rhizoctonia solani* Kühn *in vitro*. Revista Mexicana de Fitopatología 19:203-207.
- Díaz-Vargas, P., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz-Suárez, J.J. y González, G.A. 2001. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. Terra 19:327-335.
- Duffy, B. K., and Weller, D. M. 1995. Use of *Gaeumannomyces graminis* var. *graminis* alone and in combination with fluorescent *Pseudomonas* spp. to suppress take-all of wheat. Plant Disease 79:907-911.
- Elías-Ogaz, L., Murillo-Donato, V.A., Avitia-Talamantes, M.C. y Guigón-López, C. 2005. Evaluación *in vitro* de *Trichoderma* spp. contra *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium* spp. causantes de pudriciones radicales de chile. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chihuahua, México. Resumen L-8.
- Ezziyiani, M., Pérez-Sánchez, C., Sid-Ahmed, A., Emilia-Requena, M. y Emilia-Candela, M. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annum* L.). Anales de Biología 26:35-45.
- Fariás-Rodríguez, R., Godínez, R., Zamora, E. y Peña-Cabriales, J.J. 1997a. *Pseudomonas* fluorescentes como agentes de control de bacterias patógenas de plantas. II. Selección de cepas de *Pseudomonas* productoras de sideróforos. Terra 15:383-389.
- Fariás-Rodríguez, R., Zamora, E. y Peña-Cabriales, J.J. 1997b. *Pseudomonas* fluorescentes como agentes de control de bacterias patógenas de plantas. II. Inoculación en planta. Terra 15:391-396.
- Fernández-Larrea, O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. Manejo Integrado de Plagas 62:96-100.
- Gryndler, M., and Vosátka, M. 1996. The response of *Glomus fistulosum* maize micorriza to treatments with culture fractions from *Pseudomonas putida*. Mycorrhiza 6:207-211.
- Hernández-Díaz, M.I. y Chailloux-Laffita, M. 2001. La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo del tomate. Temas de Ciencia y Tecnología: Ensayos 5:11-27.
- Holguin, G., Bashan, Y. y Ferrera-Cerrato, R. 1996. Interacciones plantas y microorganismos benéficos. II. Procedimientos para el aislamiento y caracterización de hongos micorrízicos y rizobacterias promotoras de crecimiento en plantas. Terra 14:211-227.
- Jones, E.E., and Stewart, A. 1997. Biological control of *Sclerotinia minor* in lettuce using *Trichoderma* species. pp. 154-158. 50th Conference Proceedings of New Zealand Plant Protection Conference. Palmerston North, New Zealand. 534 p.
- Khalil-Gardezi, A., García-Espinoza, R., Ferrera-Cerrato, R., Aguilar-Acuña, J.L. y Larqué-Saavedra, M. 1998. La micorriza (V-A) y materia orgánica como componentes del control biológico de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* 3 (FOLR3) en tomate. Revista Mexicana de Fitopatología 16:79-83.
- Khalil-Gardezi, A., García-Espinoza, R., Ferrera-Cerrato, R. y Larqué-Saavedra, M. 1999. Effect of arbuscular mycorrhizae on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) in naturally infested soil with *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*. Revista Mexicana de Fitopatología 17:23-28.
- Kloepper, J.W., Ryu, C.M., and Zhang, S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. Phytopathology 94:1259-1266.
- Kloepper, J.W., and Schroth, M.N. 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. Plant Pathogenic Bacteria Angers 2:879-882.
- Kücük, C., and Kivanc, M. 2003. Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. Turkish Journal of Biology 27:247-253.
- Kücük, C., and Kivanc, M. 2004. *In vitro* antifungal activity of strains of *Trichoderma harzianum*. Turkish Journal of Biology 28:111-115.
- Lagunas-Lagunas, J., Zavaleta-Mejía, E., Osada-Kawasoe, S. y Aranda-Ocampo, S. 2001. *Bacillus firmus* como agente de control biológico de *Phytophthora capsici* Leo. en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista Mexicana de Fitopatología 19:57-65.
- Lewis, J.H., and Papavizas, G.C. 1991. Biocontrol of plant diseases: the approach for tomorrow. Crop Protection 10:95-105.
- Liu, L., Kloepper, J.W., and Tuzun, S. 1995. Induction of systemic resistance in cucumber against *Fusarium* wilt by plant growth promoting rhizobacteria. Phytopathology 85:695-698.
- Marois, J.J., Mitchell, D.J., and Sonoda, R.M. 1981. Biological control *Fusarium* crown rot of tomato under field conditions. Phytopathology 71:1257-1260.
- Mao, W., Lumsden, R.D., Lewis, J.A., and Hebbard, P.K. 1998. Seed Treatment using pre-infiltration and biocontrol agents to reduce damping-off of corn caused by species *Pythium* and *Fusarium*. Plant Disease 82:294-299.
- Mathre, D.E., Cook, R.J., and Callan, N.W. 1999. Traversing the word of commercializing biocontrol agents for plant disease control. Plant Disease 83:972-983.
- Mendoza-Zamora, C. 1996. Enfermedades fungosas de hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México, México. 85 p.
- Ozbay, N., Newman, S.E., and Brown, W.M. 2004. The effect of the *Trichoderma harzianum* strains on the growth of tomato seedlings. Acta Horticulturae 635:131-135.
- Ramírez-Villapudua, J. y Romero-Cova, S. 1980. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leo., agente causal de la marchitez del chile. Agrociencia 39:9-18.
- Ramos-Barraza, Y., Carrillo-Fasio, J.A., García-Estrada, R.S., Márquez-Zequera, I., Galindo-Fentanes, E. y Serrano-Carrión, L. 2005. Control biológico de la rabia del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en el estado de Sinaloa, México. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad

- Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chihuahua, México. Resumen L-15.
- Raupach, G.S., and Kloepper, J.W. 1998. Mixtures of plant growth promoting rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology* 88:1158-1164.
- Reddy, M.S., Hynes, R.K., and Lazarovits, G. 1994. Relationship between *in vitro* growth inhibition of pathogens and suppression of preemergence damping-off and postemergence root rot of white bean seedlings in the greenhouse by bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 40:113-119.
- Rowe, R.C. 1980. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-crown tomatoes in North America and Japan. *Phytopathology* 70:1143-1147.
- Rose, S., Parker, M., and Punja, Z.K. 2003. Efficacy of biological and chemical treatments for control of *Fusarium* root and stem rot on greenhouse cucumber. *Plant Disease* 87:1462-1470.
- Sandoval-Luna, R., Anchondo-Nájera, J.A. y González-García, J. 2005. Efecto de *Trichoderma* sp. en la marchitez y crecimiento de chile jalapeño en Delicias, Chihuahua, México. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chihuahua, México. Resumen C-59.
- Sivan, A., Ucko, O., and Chet, I. 1987. Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. *Plant Disease* 71:587-592.
- Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS Press, St. Paul, Minnesota, USA. 133 p.
- Villanueva-Silva, O., Abato-Zárate, M. y Escalona-Aguilar, M. 2005. Efecto antagónico de rizobacterias nativas del género *Pseudomonas* sobre *Phytophthora parasitica* *in vitro*. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chihuahua, México. Resumen C-7.
- Virgen, C.G. y López, J.N. 1992. Una bacteria antagónica a *Rhizoctonia solani* *in vitro*. pp. 165. Memorias del XIX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Saltillo, Coahuila, México. 219 p.
- Wei, G., Kloepper, J.W., and Tuzun, S. 1996. Induced systemic resistance to cucumber diseases and increased plant growth by plant growth-promoting rhizobacteria under field conditions. *Phytopathology* 86:221-224.
- Zak, B. 1964. Role of mycorrhizae in roots diseases. *Annual Review of Phytopathology* 2:377-392.
- Zavaleta-Mejía, E. 1994. Control biológico de fitopatógenos con origen en el suelo y perspectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 12:107-111.
- Zavaleta-Mejía, E. 2000. Alternativa de manejo de las enfermedades de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 17:201-207.
- Zavaleta-Mejía, E. y Rojas-Martínez, R.I. 1989. Antagonismos de *Serratia marcescens* Bizio (*Enterobacteriaceae*) sobre *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyd. y Hans. *Revista Mexicana de Fitopatología* 7:113-118.