

## Efecto del pH en la Sobrevivencia de Esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* (Dugg.) Hennebert Exuestos a Tilt y *Trichoderma* sp.

José Alfredo Samaniego-Gaxiola, INIFAP, Campo Experimental La Laguna, Blvd. José Santos Valdés No. 1200 Pte., Col. Centro, Matamoros, Coahuila, México CP 27440.  
Correspondencia: samaniego.jose@inifap.gob.mx

(Recibido: Septiembre 11, 2007 Aceptado: Diciembre 4, 2007)

Samaniego-Gaxiola, J.A. 2008. Efecto del pH en la sobrevivencia de esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* (Dugg.) Hennebert expuestos a Tilt y *Trichoderma* sp. Revista Mexicana de Fitopatología 26:32-39.

**Resumen.** Previa determinación del efecto del pH en soluciones amortiguadoras solas o adicionadas con NaOCl sobre los esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora*, en este trabajo se evaluó la sobrevivencia de los esclerocios expuestos por 14 días a un aislamiento de *Trichoderma* sp. en soluciones amortiguadoras a pH 4, 5, 6, 8.2 y 10.4 y en soluciones de ácido acético a 0, 25, 50 y 100 ppm. La sobrevivencia también se evaluó desde un minuto hasta tres días en soluciones acuosas y amortiguadoras adicionadas hasta con 1000 ppm de Tilt (Propiconazole). A pH 6 y 8.2, la sobrevivencia de los esclerocios después de 14 días en presencia de *Trichoderma* sp. fue 90 y 10%, respectivamente, pero a pH 4, 5 y 10.4 los esclerocios no sobrevivieron ni un día. En presencia de *Trichoderma* sp. incubados 14 días a 0, 25, 50 y 100 ppm de ácido acético, los esclerocios sobrevivieron 100, 80, 40 y 0%, respectivamente. El tiempo necesario para matar 100% de esclerocios disminuyó 864 y 216 veces usando 1000 ppm de Tilt a pH 4 y 5, respectivamente, en comparación al tiempo necesario para lograr el mismo efecto a pH 7 (3 días). El pH tiene un efecto determinante en la sobrevivencia de los esclerocios de *P. omnivora*.

Palabras clave adicionales: Hongos del suelo que atacan a plantas, hongos del suelo.

**Abstract.** Previous to determination of the pH effect in just buffer solutions or ammended with NaOCl on sclerotia of *Phymatotrichopsis omnivora*, in this work, sclerotia survival exposed during 14 days to an isolate of *Trichoderma* sp. in buffers solutions at pH 4, 5, 6, 8.2, and 10.4, and acetic acid solutions at 0, 25, 50, and 100 ppm was evaluated. Sclerotia survival was also evaluated in aqueous and buffer solutions ammended with 1000 ppm of Tilt (Propiconazole) during one minute up to three day exposure. Sclerotia survival in presence of *Trichoderma* sp. after 14 days was 90 and 10% at pH 6 and

8.2, respectively, but at pH 4, 5, and 10.4 sclerotia did not survive a single day. In the presence of *Trichoderma* sp. incubated 14 days at 0, 25, 50, and 100 ppm of acetic acid, sclerotia showed 100, 80, 40, and 0% survival, respectively. The time needed to kill 100% sclerotia diminished 864 and 216 times using 1000 ppm of Tilt at pH 4 and 5, respectively, with respect to the time needed to obtain the same effect at pH 7 (3 days). The pH had a determinant effect on survival of sclerotia of *P. omnivora*.

Additional keywords: Soilborne plant pathogens, soil fungi.

El micelio de *Phymatotrichopsis omnivora* (Dugg.) Hennebert puede crecer en medio de cultivo aceptablemente entre pH 4 a 8 con un óptimo de 5 (Gunasekaran, 1973; Lyda, 1978), aunque, no se conoce el efecto que tiene el pH *in vitro* sobre la sobrevivencia de los esclerocios que son expuestos a fungicidas y microorganismos que le son potencialmente dañinos. El pH *in vitro* tiene un efecto dramático sobre la sobrevivencia de los esclerocios de *Sclerotium rolfsii* Sacc., particularmente el pH alcalino (> 8) en presencia de compuestos con nitrógeno inducen la muerte de los esclerocios al generarse en el medio de cultivo amoniacal (Punja y Grogan, 1982). Suelos con pH ácido se asocian con la presencia de especies de *Trichoderma* y a la producción *in vitro* de muchas de sus enzimas involucradas en el proceso de degradación de hongos que ataca (Chet y Baker, 1981a, b; Jackson *et al.*, 1991; Kredics *et al.*, 2003; Liu y Baker, 1980). El fungicida Tilt ® (Propiconazole) se ha utilizado para el control de *P. omnivora* en algunos cultivos (Adaskaveg *et al.*, 1999; Herrera-Pérez y Samaniego-Gaxiola, 2002; Whitson y Hine, 1986), pero el micelio y los esclerocios de *P. omnivora* tienen diferente susceptibilidad a los fungicidas, siendo éstos últimos más tolerantes (Hine *et al.*, 1969; Lyda y Burnett, 1970; Rush y Lyda, 1982). La movilidad, materia orgánica, absorción y el pH en el suelo son factores determinantes en la efectividad de los fungicidas incluyendo al Tilt (Thorstensen *et al.*, 2001); de igual manera, el tiempo de estabilidad de Tilt dentro de una planta es afectado por el pH (Armstrong, 1999). En este trabajo se evaluó la sobrevivencia

de los esclerocios de *P. omnivora* expuestos a Tilt y *Trichoderma* sp. en diferentes pH inducidos con soluciones amortiguadoras o ácido acético.

## MATERIALES Y MÉTODOS

**Reproducción y manejo de los esclerocios.** En frascos de vidrio de un litro se mezclaron 600 g de arena cernida en tamiz de malla 16 con 1.8 g de carbono activado, luego se colocaron encima 80 g de semilla de sorgo limpia la cual fue previamente humedecida dos días en agua; posteriormente, se vertió agua destilada hasta saturar el suelo. Enseguida, los frascos fueron esterilizados una hora durante dos días consecutivos e inmediatamente se les añadió micelio de *P. omnivora* de 15 días de crecido en placas Petri con papa-dextrosa-agar (PDA) a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  (el contenido de 1/2 placa por frasco). Los frascos inoculados se incubaron nueve semanas antes de recuperar los esclerocios. Del contenido de los frascos se les quitó el sorgo y el micelio, y el resto se colocó en un tamiz de malla 16 lavándolos a chorro de agua corriente. Los esclerocios retenidos en el tamiz fueron nuevamente lavados exhaustivamente eliminando los residuos de sorgo y cordones visibles. Los esclerocios limpios se colocaron inmersos en agua destilada en un frasco de un litro a temperatura de  $10^\circ\text{C}$ . Durante los siguientes 15 días, los esclerocios fueron seleccionados, colocando 25 en 10 mL de agua destilada en viales que se almacenaron a  $10^\circ\text{C}$ . Cada vial constituyó una repetición para cada tratamiento en los experimentos establecidos, los cuales iniciaron tres días después de haber obtenido los primeros viales con esclerocios. Desde el establecimiento del primero hasta el último experimento transcurrieron seis semanas. Todos los experimentos se repitieron dos veces.

**Soluciones amortiguadoras con *Trichoderma*.** Un aislamiento de *Trichoderma* sp. obtenido de esclerocios invadidos de manera natural en el laboratorio de fitopatología del Campo Experimental La Laguna, se hizo crecer junto con 50 esclerocios de *P. omnivora* en placas de PDA durante 15 días a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ . A continuación, un esclerocio invadido por *Trichoderma* se extrajo de las placas de PDA y se colocó en cada vial que contenía 25 esclerocios inmersos en 10 mL de una solución amortiguadora. El pH de las soluciones amortiguadoras usadas fue de 4, 5, 6, 8.2 y 10.4. Las soluciones de pH 4 y 5 fueron preparadas combinando 0.2 M de ácido acético-acetato de sodio, mientras que para dar un pH 6 y 8.2, se combinó KOH-fosfato de sodio dibásico 0.2 N; y para pH 10.4 se mezcló 0.1 M de carbonato de sodio-bicarbonato de sodio (Plummer, 1981). Los viales inoculados con *Trichoderma* y esclerocios se incubaron durante 1, 3, 5, 7 y 14 días a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ . Justo antes de extraer los esclerocios se determinó el pH en cada tratamiento (soluciones amortiguadoras y tiempos); las determinaciones de estos pH y posteriores se realizaron con un potenciómetro Orion Modelo 710 A. Los esclerocios que se extrajeron al término de cada período de incubación se colocaron en arena no estéril donde se evaluó su sobrevivencia y se registró su invasión por *Trichoderma* sp.

**Ácido acético con *Trichoderma*.** Se realizó un experimento similar al anterior, excepto por la sustitución de las soluciones amortiguadoras por soluciones de ácido acético (grado reactivo); las concentraciones de ácido utilizadas fueron de 0, 25, 50 y 100 ppm. En este experimento no se determinó el pH hacia el día de incubación 14, debido a que los viales estaban profusamente colonizados por *Trichoderma* sp.

**pH y Tilt.** Se prepararon soluciones acuosas que contenían 1, 10, 50, 100, 200, 400, 500, 800 y 1000 ppm de Tilt (i.a.), luego de cada solución por separado se vertieron 10 mL en viales donde previamente se habían colocado 25 esclerocios de *P. omnivora*; estos viales se incubaron durante 1, 5, 10, 20 min, y 1, 6, 24 ó 72 h a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , después se extrajeron los esclerocios y se determinó su sobrevivencia. La sobrevivencia de los esclerocios también se evaluó en dos soluciones amortiguadoras de pH 3.6 y 7 que contenían Tilt a las concentraciones referidas y tiempos de incubación de 1, 6, 24 ó 72 h a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ . Finalmente, los esclerocios se colocaron durante 1, 5, 20 ó 60 min a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  en soluciones amortiguadoras de pH 4, 5, 6 y 7 que contenían Tilt en las concentraciones señaladas, y enseguida se evaluó su sobrevivencia.

**Análisis de los datos.** La sobrevivencia de los esclerocios se expresó como porcentaje y a sus valores se aplicó una transformación arco-seno antes de su análisis estadístico usando el programa SAS (SAS, Institute 1988). Cada experimento fue analizado con un diseño completamente al azar y un arreglo factorial. Las medias de los tratamientos fueron separadas con DMS.

## RESULTADOS

**Soluciones amortiguadoras con *Trichoderma*.** Excepto para el pH en función del tiempo, el resto de las variables: sobrevivencia de los esclerocios, invasión de *Trichoderma* sp. hacia los esclerocios y su interacción fueron altamente significativas ( $p < .001$ ). No se detectó diferencia estadística en los cambios de pH a través del tiempo en las soluciones amortiguadoras, excepto en la solución de pH inicial de 10.4 donde el pH alcanzó valores cercanos a 9.2 al quinto día de incubación. La sobrevivencia de los esclerocios fue nula a pH 4, 5 y 10.4 en todos los tiempos de incubación. A pH 6 y tiempos de incubación no hubo diferencia estadística en la sobrevivencia de esclerocios (90-100%), excepto para el séptimo día de incubación con una sobrevivencia del 69% (Fig. 1). El descenso de la sobrevivencia de los esclerocios fue estadísticamente significativo en todos los tiempos de incubación a pH 8.2, aunque los menores porcentajes de sobrevivencia se registraron al día 7 y 14 con 11 y 53% de sobrevivencia, respectivamente. La invasión de los esclerocios por *Trichoderma* sp. se caracterizó por una variación acentuada entre repeticiones dentro de un mismo tratamiento (excepto para los tratamientos donde la sobrevivencia fue de por lo menos 98 ó 0%) y por una fuerte variación entre el factor tiempo (días de incubación) dentro de niveles similares del pH de las soluciones amortiguadoras

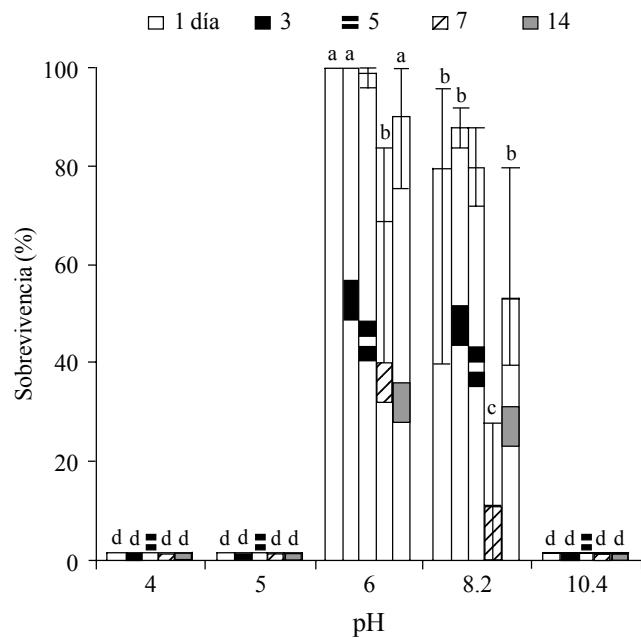


Fig. 1. Sobrevida de los esclerocitos de *Phymatotrichopsis omnivora* después de permanecer incubados con *Trichoderma* sp. hasta 14 días a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  en soluciones amortiguadoras. La sobrevida es promedio de cuatro repeticiones de 25 esclerocitos por repetición. Tratamientos con la misma letra indican que no hubo diferencia estadísticamente significativa (DMS  $p < 0.001$ ).

(Fig. 2). Los mayores porcentajes de invasión de *Trichoderma* sp. hacia los esclerocitos se presentaron a pH 10.4, sin embargo, no en todos los tiempos de incubación ocurrió ésto; así los esclerocitos fueron invadidos entre el 98-100% a los 1, 5 y 7 días, pero 0 y 35% a los días 3 y 14, respectivamente. A pH 6 *Trichoderma* sp. no pudo invadir ningún esclerocito en los días de incubación 1, 3 y 5, y lo hizo escasamente a los 7 y 14 días. En pH 4, 5 y 10.4 no se presentó una relación entre la sobrevida de los esclerocitos y su invasión por *Trichoderma* sp., pero sí a pH 6 y 8.2 (Fig. 3).

**Ácido acético con *Trichoderma*.** La proliferación de *Trichoderma* sp. se hizo evidente en las soluciones con ácido acético y no así en la solución acuosa (testigo). Los esclerocitos que perdieron su sobrevida no formaron cordones, y en algunos casos permitieron la proliferación de *Trichoderma* sp. alrededor o encima de ellos. Algunos esclerocitos que fueron invadidos por *Trichoderma* sp. fueron capaces de formar cordones, por tanto se consideraron viables. En la figura 4F, se aprecia un esclerocito que no formó cordones y que permitió la proliferación de *Trichoderma* sp. sobre y alrededor de éste. Las variables pH de las soluciones de ácido acético, sobrevida de los esclerocitos de *P. omnivora* e invasión de los esclerocitos por *Trichoderma* sp. fueron altamente significativa  $p < .001$  en función de las concentraciones de ácido, tiempo y la interacción de ambas. Conforme se aumentó la concentración de ácido acético y el tiempo de incubación de *Trichoderma* sp. con los esclerocitos,

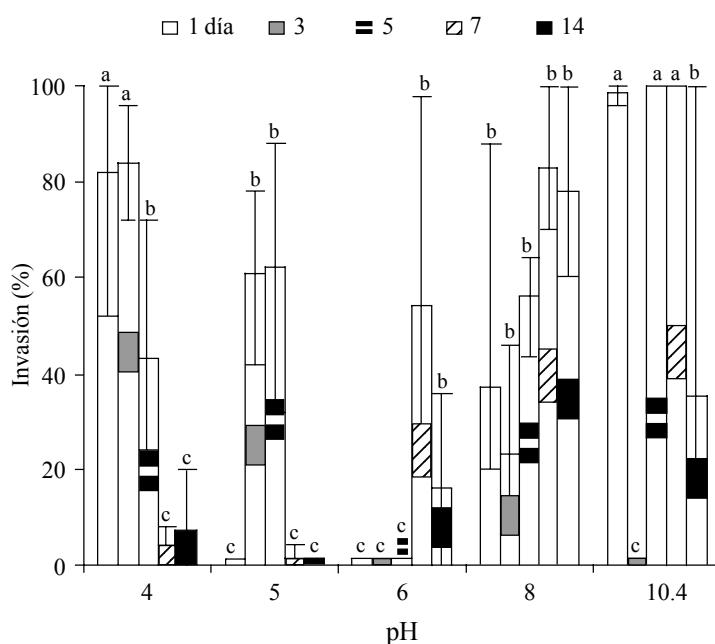


Fig. 2. Invasión de los esclerocitos de *Phymatotrichopsis omnivora* por *Trichoderma* sp. después de permanecer incubados hasta 14 días a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  en soluciones amortiguadoras. Tratamientos con la misma letra indican que no hubo diferencia estadísticamente significativa (DMS  $p < 0.001$ ).

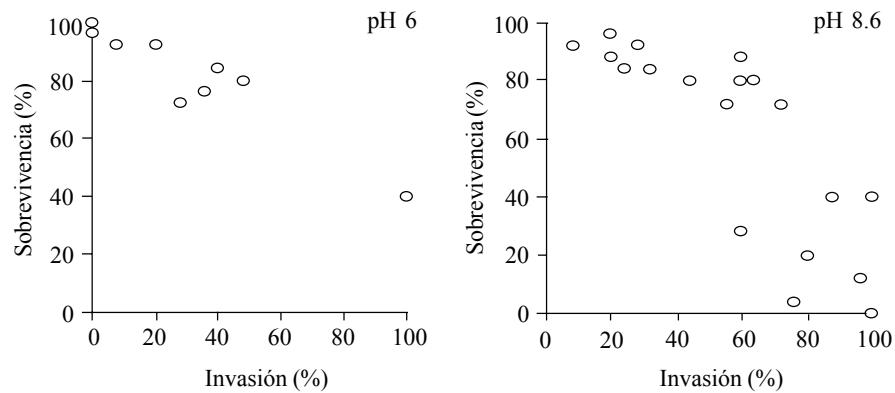


Fig. 3. Relación entre la sobrevida de los esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* y su invasión por *Trichoderma* sp. después de permanecer en soluciones amortiguadoras a pH 6 u 8.2. Cada círculo representa la sobrevida de 25 esclerocios y su invasión respectiva por *Trichoderma* sp. Tanto sobrevida como invasión son la suma de los conteos realizados a 1, 3, 5, 7 y 14 días de incubar los hongos juntos a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ .

la sobrevida de este último disminuyó, de tal forma que para el día 14 de incubación la sobrevida de los esclerocios que permanecieron en soluciones de ácido acético a 25, 50 y 100 ppm fue de 76, 39 y 0%, respectivamente (Fig. 5). La invasión de *Trichoderma* sp. sobre los esclerocios se incrementó conforme se aumentó la concentración de ácido y el tiempo de incubación. Los tratamientos de ácido acético a 100 ppm (días 1, 5, 7 y 14) causaron una invasión entre 88 a 100% de los esclerocios, excepto en el tratamiento del día tres

en donde *Trichoderma* sp. no logró invadir a éstos (Fig. 6). El cambio de pH fue altamente significativo  $p < .001$  con relación a la cantidad de ácido acético añadido y el tiempo de incubación de *Trichoderma* sp. con los esclerocios. El pH en los tratamientos con ácido acético cambió desde sus niveles iniciales de 3.6-3.8 hasta 5-5.5 al séptimo día de incubación de *Trichoderma* sp. con los esclerocios; estos cambios fueron paulatinos, pero estadísticamente significativos (Fig. 7).

**pH + Tilt.** Los esclerocios empezaron a disminuir su

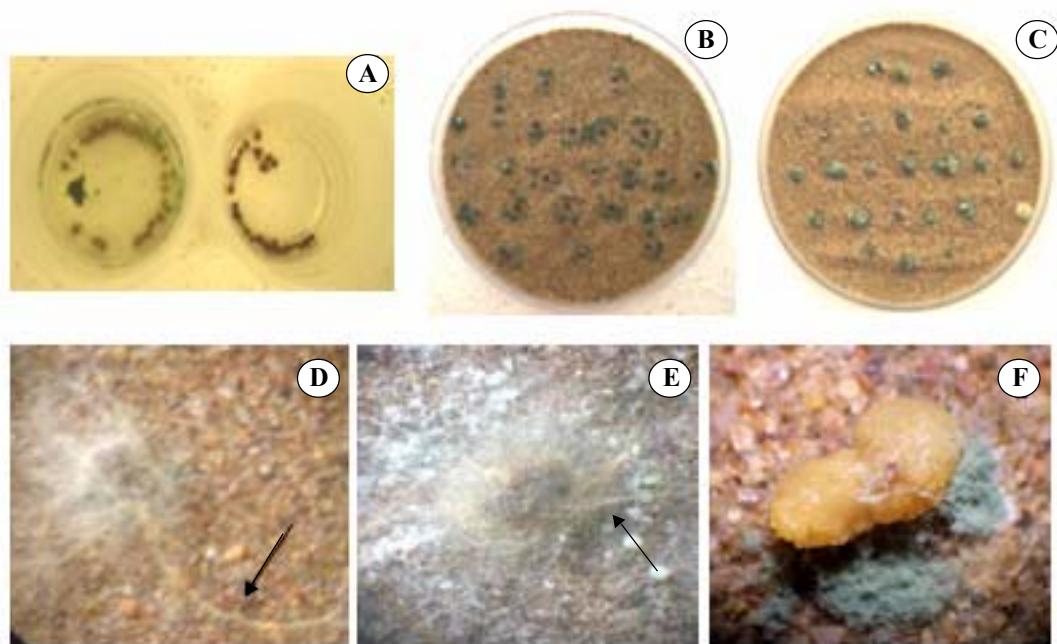


Fig. 4. Esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* con *Trichoderma* sp. A. *Trichoderma* sp. proliferando en solución de ácido acético a 100 ppm (derecha) o sin proliferar (izquierda) en agua destilada después de permanecer 14 días incubados a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ , en ambos casos se inoculó *Trichoderma* sp. justo antes de iniciar el período de incubación. B y C. Proliferación de *Trichoderma* sp. preferentemente sobre los esclerocios o alrededor de ellos, respectivamente. D y E. Cordones (flecha) formados a partir de esclerocios invadidos por *Trichoderma* sp. F. Esclerocio que no logró formar cordones invadido por *Trichoderma* sp.

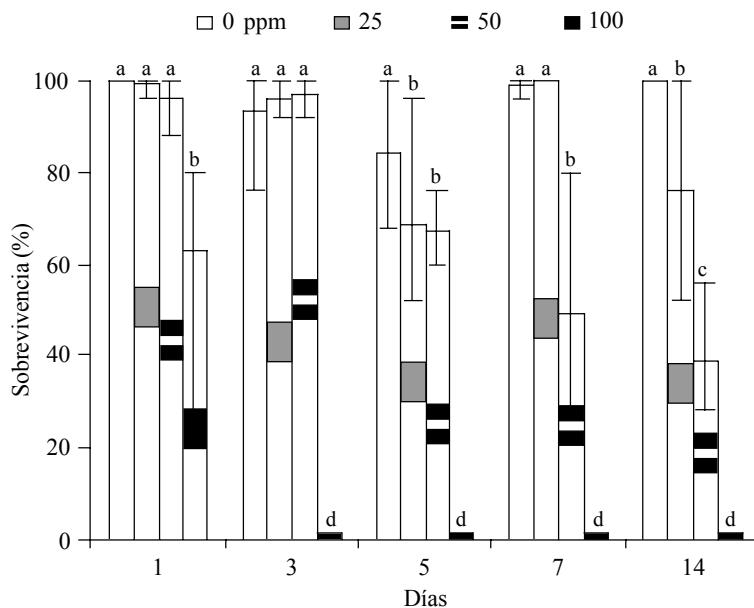


Fig. 5. Sobrevida de los esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* después de permanecer hasta 14 días a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  en soluciones con ácido acético. Tratamientos con la misma letra indican que no hubo diferencia estadísticamente significativa (DMS  $p < 0.001$ ).

sobrevida después de permanecer 72 h en soluciones de agua destilada con no menos 400 ppm de Tilt, registrándose una sobrevida del 8% en el tratamiento de 1000 ppm de Tilt (Fig. 8). Tiempos menores de incubación de los esclerocios en 400 ppm o menos de Tilt no afectaron su sobrevida (datos no mostrados). En contraste, cuando se utilizó 1000 ppm de Tilt disuelto en solución amortiguadora de pH 3.6

sólo se requirió de una hora de permanencia de los esclerocios para que perdieran por completo su sobrevida (Fig. 9). La variable sobrevida de los esclerocios fue altamente significativa  $p < .001$  en función del pH de las soluciones amortiguadoras (pH 4-7 donde se disolvió 1000 ppm de Tilt) y el tiempo de permanencia de los esclerocios en estas soluciones, así como la interacción soluciones/tiempo de

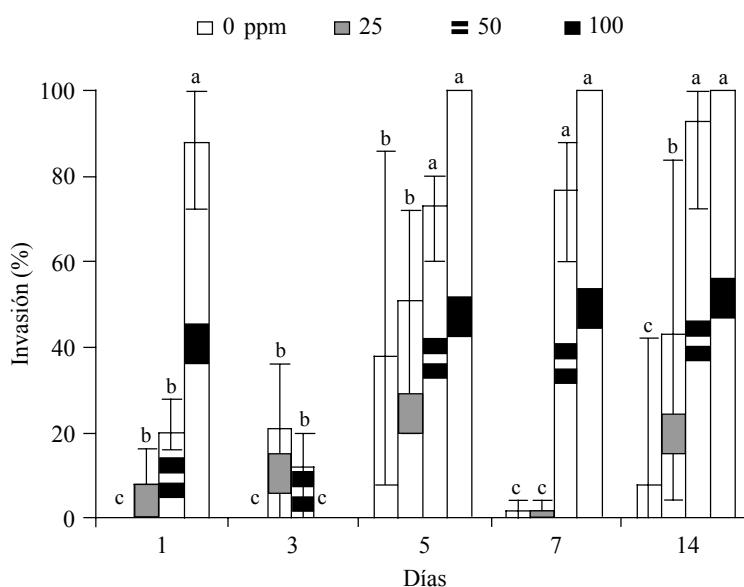


Fig. 6. Invasión de los esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* por *Trichoderma* sp. después de permanecer en soluciones de ácido acético hasta por 14 días a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$ . Tratamientos con la misma letra indican que no hubo diferencia estadísticamente significativa (DMS  $p < 0.001$ ).

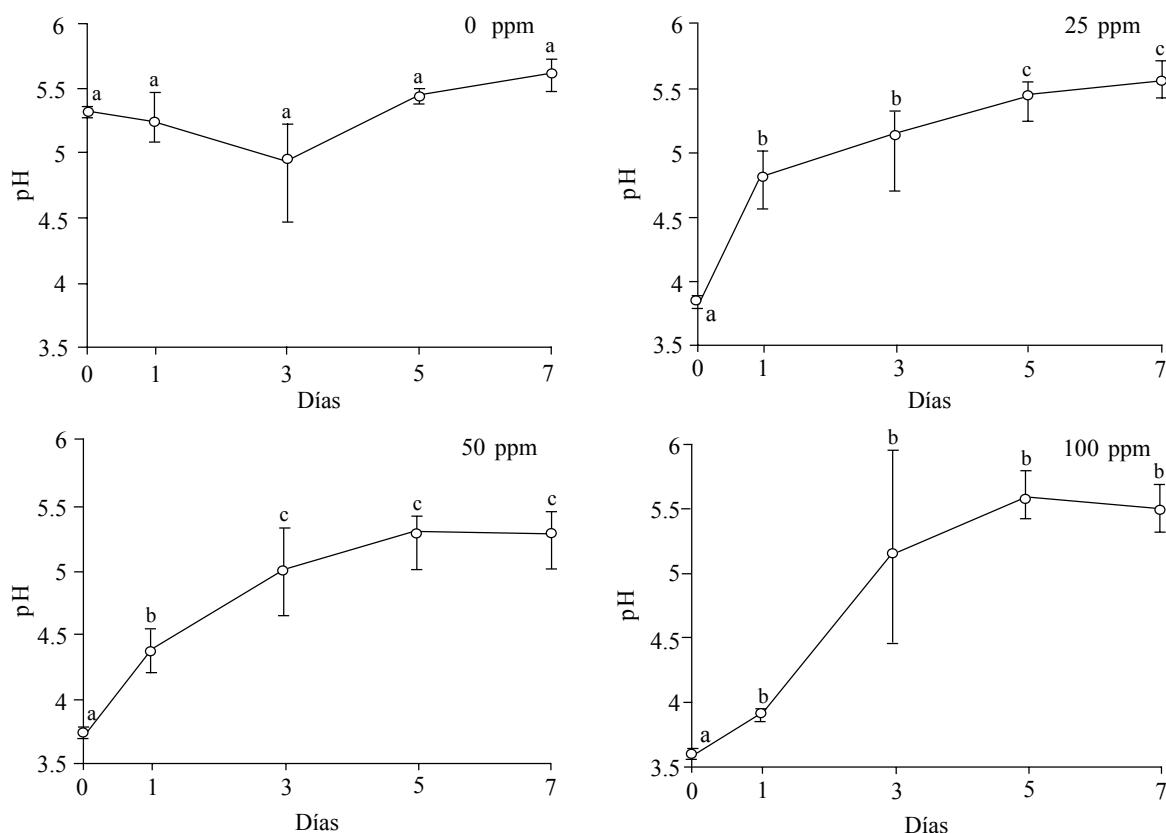


Fig. 7. pH de las soluciones de ácido acético (0, 25, 50 y 100 ppm) donde permanecieron los esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* con *Trichoderma* sp. incubados a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  durante siete días. Cada círculo representa el pH promedio de cuatro repeticiones. Las barras de error se expresan con los valores de la variación registrada. Tratamientos con la misma letra indican que no hubo diferencia estadísticamente significativa (DMS  $p < 0.001$ ).

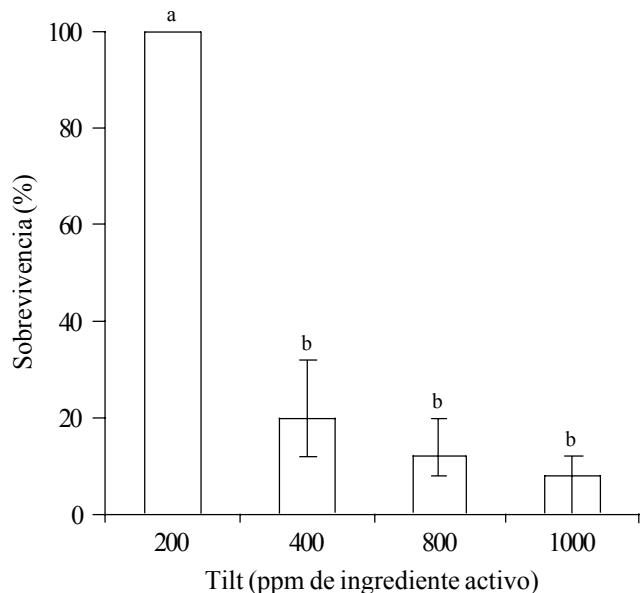


Fig. 8. Sobrevivencia de los esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* después de permanecer en soluciones acuosas de Tilt durante 72 horas. Tratamientos con la misma letra indican que no hubo diferencia estadísticamente significativa (DMS  $p < 0.001$ ).

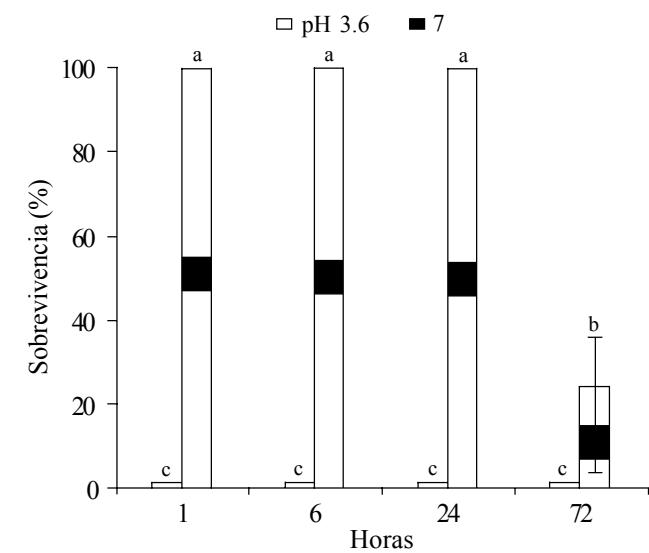


Fig. 9. Sobrevivencia de los esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* después de permanecer en soluciones de Tilt de 1000 ppm (ingrediente activo) hasta 72 horas en soluciones amortiguadoras. Tratamientos con la misma letra indican que no hubo diferencia estadísticamente significativa (DMS  $p < 0.001$ ).

incubación. La sobrevivencia de los esclerocios que permanecieron de 1 a 60 min en soluciones amortiguadoras de pH 6 y 7 con 1000 ppm de Tilt no fue afectada, por el contrario, esclerocios inmersos en soluciones de pH 4 durante un min o a pH 5 durante cinco min su sobrevivencia fue alrededor del 40%, y la sobrevivencia fue nula al incrementarse los tiempos a cinco y veinte min en las soluciones de pH 4 y 5, respectivamente (Fig. 10).

## DISCUSIÓN

*Trichoderma* sp. logró matar a los esclerocios alrededor de un 50% después de permanecer dos semanas en soluciones amortiguadora a pH 8.2, esto contrasta con la sobrevivencia del 8% exhibida cuando los esclerocios permanecieron dos semanas en solución amortiguadora a pH 7.8 sin presencia de *Trichoderma* sp. (datos no publicados). La diferencia mencionada sugiere que la presencia de *Trichoderma* en la solución pH 8.2 podría amortiguar los posibles efectos tóxicos de la solución amortiguadora. Las soluciones amortiguadoras no parecen ser un buen sistema para probar la relación pH/invasión de *Trichoderma* sp. hacia los esclerocios, pues los resultados obtenidos aquí confirman un posible efecto tóxico de las soluciones a pH 4, 5 y 10.4, si bien, *Trichoderma* sp. no pierde su capacidad para invadir a los esclerocios aún en esos pH. La invasión de *Trichoderma* sp. sobre los esclerocios en soluciones amortiguadoras es un fenómeno complejo, pues existe una variación fuerte en el porcentaje de esclerocios invadidos entre repeticiones a un mismo tratamiento (pH/tiempo); aún más, en momentos determinados, los esclerocios no siempre pudieron ser invadidos por *Trichoderma* sp. a un

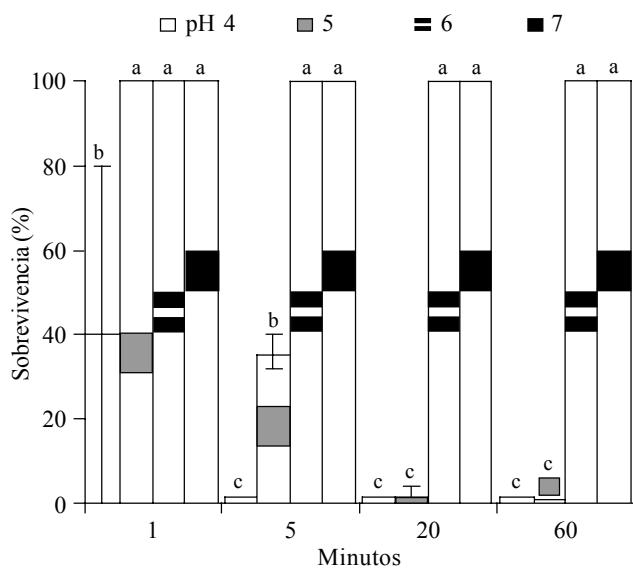


Fig. 10. Sobrevida de los esclerocios de *Phymatotrichopsis omnivora* después de permanecer en una solución de 1000 ppm de Tilt (ingrediente activo) entre 1 a 60 minutos incubados a  $28 \pm 1^\circ\text{C}$  en soluciones amortiguadoras. Tratamientos con la misma letra indican que no hubo diferencia estadísticamente significativa (DMS p < 0.001).

mismo nivel de pH, por ejemplo, a pH 10.4 todos los esclerocios fueron invadidos casi 100% después de 1, 5 o 7 días, pero ninguno lo pudo ser al tercer día (Fig. 2). No todos los esclerocios que fueron invadidos por *Trichoderma* sp. murieron, es decir, los esclerocios muchas veces fueron capaces de germinar y formar cordones aún después o al mismo tiempo que eran invadidos por *Trichoderma* sp. (Figs. 4D y E). Otros hongos o bacterias pueden también invadir a los esclerocios que están germinando, aún en tratamientos donde *Trichoderma* sp. se incubó con los esclerocios (datos no mostrados), lo que sugiere que los esclerocios pueden llegar a escapar del ataque de los microorganismos. Por tanto, la invasión *Trichoderma* sp./sobrevivencia de esclerocios no fue del todo estrecha, aunque si se presentó a pH 6 y 8.2 (Fig. 3). En todas las soluciones de ácido acético se favoreció que *Trichoderma* sp. invadiera y matara a los esclerocios, observándose un incremento invasión/sobrevivencia conforme se aumentó la dosis de ácido acético y el tiempo de permanencia de los esclerocios. El pH en este sistema se incrementó hasta alcanzar valores alrededor de 5.5 semejantes al tratamiento testigo (agua destilada). El ácido acético más *Trichoderma* sp. y esclerocios no es un sistema donde se reguló el pH como en las soluciones amortiguadoras, no obstante, los resultados indican que la acidez inicial inducida por el ácido favorece la invasión y muerte de esclerocios por *Trichoderma* sp. Típicamente *Trichoderma* es un género que le favorece el pH ácido a neutro en el suelo y/o está asociado a ciertos cultivos o residuos de cosecha (Baird *et al.*, 2003; Chet y Baker, 1981 a y b; Liu y Baker, 1980). Los pequeños cambios permanentes de pH en el suelo, cambios temporales de pH en el suelo o el pH de la rizósfera podrían estar involucrados en la capacidad que tiene *Trichoderma* spp. para atacar a hongos incluyendo *P. omnivora*; por ejemplo, la fertilización ácida durante 10 años se asoció con la disminución de síntomas de plantas de vid (*Vitis vinifera* L.) afectadas por *P. omnivora* y un incremento de especies de *Trichoderma* spp. en el suelo (Olsen *et al.*, 1988). En futuros experimentos podrían usarse ácidos añadidos al suelo periódicamente para regular el pH y estudiar el efecto pH invasión y muerte de esclerocios de *P. omnivora* por *Trichoderma* spp. u otras especies de hongos. En este trabajo, el tiempo necesario para matar 100% de esclerocios disminuyó 864 y 216 veces usando Tilt a pH 4 y 5, respectivamente, en comparación al tiempo necesario para lograr el mismo efecto a pH 7 (Figs. 8-10). El efecto de las soluciones amortiguadoras a pH 4 y 5 adicionadas con Tilt sobre la sobrevivencia de los esclerocios tal vez sea sinérgico, debido a que las soluciones afectan la sobrevivencia del esclerocito y ello se acentúa dramáticamente en presencia del Tilt, así se podría explicar la muerte de los esclerocios en tiempos tan cortos como 5 min (pH 4). Los productos químicos o microorganismos potencialmente útiles para el control de *P. omnivora* y otros microorganismos, continúan estando limitados en muchos casos por la eficiencia que ellos tienen en los suelos establecidos con cultivos agrícolas. Si revisamos la eficiencia

de algunos fungicidas podemos ver que 1 ppm de Tilt en caja Petri es efectivo para inhibir el micelio de *Armillaria mellea* (Vahl:Fr.) P. Kumm. y *P. omnivora* (Adaskaveg *et al.*, 1999; Whitson y Hine, 1986); pero en campo *A. mellea* necesitó 440 ppm en la solución acuosa en suelo. Los esclerocios de *P. omnivora* muestran una marcada tolerancia a varios fungicidas a concentraciones tan altas como 10,000 ppm (Hine *et al.*, 1969), e incluso, se requirió de 276 ppm de amoníaco para disminuir significativamente la sobrevivencia de los esclerocios (Rush y Lyda, 1982). En este trabajo se registra una disminución en los tiempos y dosis necesarios para matar a los esclerocios de *P. omnivora* expuestos a Tilt y *Trichoderma* sp., todo ello en función del pH. La sobrevivencia de los microesclerocios de *Verticillium dahliae* Kleb. fue disminuida en función de la fertilización a pH ácido (Tenuta y Lazarovits, 2002), pero también a la descomposición microbiana de ácidos orgánicos volátiles (incluyendo el ácido acético) en pH ácido o alcalino (Conn *et al.*, 2005). Anteriormente, se determinó que los esclerocios de *P. omnivora* pueden ser destruidos al añadir 1000 a 2000 ppm de glucosa en el suelo (Samaniego-Gaxiola, 1994), tal vez esas cantidades puedan ser disminuidas en suelos ácidos o acidificando temporalmente el suelo. Aunque los esclerocios podrían morir también con la adición de productos químicos entre ellos algunos fungicidas, fertilizantes o tan sólo descomponiendo materia orgánica en pH neutro o ácido.

## LITERATURACITADA

- Adaskaveg, J.E., Förster, H., Wade, L., Thompson, D.F., and Connell, J.H. 1999. Efficacy of sodium tetraethiocarbonate and propiconazole in managing *Armillaria* root rot of almond on peach rootstock. Plant Disease 83:240-246.
- Armstrong, S.D. 1999. Microwave-Assisted Extraction for the Isolation of Trace Systemic Fungicides from Woody Plant Material. Ph.D. Thesis. Faculty of the Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, Virginia. 129 p.
- Baird, R.E., Watson, C.E., and Scruggs, M. 2003. Relative longevity of *Macrophomina phaseolina* and associated mycobacteria on residual soybean roots in soil. Plant Disease 87:563-566.
- Chet, I., and Baker, R. 1981a. Isolation and biocontrol potential of *Trichoderma hamatum* from soil naturally suppressive of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 71:286-290.
- Chet, I., and Baker, R. 1981b. Inductions of suppressiveness to *Rhizoctonia solani* in soil. Phytopathology 71:994-998.
- Conn, L.K., Tenuta, M., and Lazarovits, G. 2005. Liquid swine manure can kill *Verticillium dahliae* microsclerotia in soil by volatile fatty acid, nitrous acid, and ammonia toxicity. Phytopathology 95:28-35.
- Gunasekaran, M. 1973. Physiological studies on *Phymatotrichum omnivorum* IV. Effect of pH and the interaction of temperature, minerals and carbon source on growth *in vitro*. Mycopathologia 50:313-321.
- Herrera-Pérez, T. y Samaniego-Gaxiola, J. 2002. Enfermedades del nogal. pp. 177-206. En: J. Arreola-Ávila e I. Reyes-Juárez (eds.). Tecnología de Producción del Nogal Pecanero. Campo Experimental La Laguna. INIFAP. Matamoros, Coahuila, México. 220 p.
- Hine, R.B., Jhonson, D.L., and Wenger, C.J. 1969. The persistency of two benzimidazole fungicides in soil an their fungistatic activity against *Phymatotrichum omnivorum*. Phytopathology 59:798-801.
- Jackson, A.M., Whippes, J.M., and Lynch, J.M. 1991. Effects of temperature, pH and water potential on growth of four fungi with disease biocontrol potential. Journal of Microbiology and Biotechnology 7:494-501.
- Kredics, L., Antal, Z., Manczinger, L., Szekeres, A., Kevei, F., and Nagy, E. 2003. Influence of environmental parameters on *Trichoderma* strains with biocontrol potential. Food Technology Biotechnology 41:37-42.
- Liu, S., and Baker, R. 1980. Mechanism of biological control in soil suppressive to *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 70:404-412.
- Lyda, S.D. 1978. Ecology of *Phymatotrichum omnivorum*. Annual Review of Phytopathology 16:193-209.
- Lyda, S.D., and Burnett, E. 1970. Influence of benzimidazole fungicides on *Phymatotrichum omnivorum* and *Phymatotrichum* root rot of cotton. Phytopathology 60:726-728
- Olsen, M.W., Hine, R.B., and Dutt, G.R. 1988. Control of *Phymatotrichum* root rot of wine grapes in calcareous soils with ammonium-thiosulfate applied in drip irrigation systems. Phytopathology 78:1521.
- Plummer, T.D. 1981. An Introduction to Practical Biochemistry. McGraw-Hill Book Co. London, UK. 345 p.
- Punja, Z.K., and Grogan, R.G. 1982. Effects of inorganic salts, carbonate-bicarbonate anions, ammonia, and the modifying influence of pH on sclerotia germination of *Sclerotium rolfsii*. Phytopathology 72:635-639.
- Rush, C.M., and Lyda, S.D. 1982. Effects of anhydrous ammonia on mycelium and sclerotia *Phymatotrichum omnivorum*. Phytopathology 72:1085-1089.
- Samaniego-Gaxiola, J. 1994. Viabilidad de los esclerocios de *Phymatotrichum omnivorum* (Shear) Duggar en suelos inundados y complementados con glucosa. Revista Mexicana de Fitopatología 12:125-133.
- SAS Institute, Inc. 1988. SAS/STAT user's guide. Relase 6.03 edition. SAS Insitute. Cary, North Carolina, USA. 1028 p.
- Tenuta, M., and Lazarovits, G. 2002. Ammonia and nitrous acid from nitrogenous amendments kill the microsclerotia of *Verticillium dahliae*. Phytopathology 92:255-264.
- Thorstensen, C.W., Lode, O., Eklo, O.M., and Christiansen, A. 2001. Sorption of bentazone, dichlorprop, mcpa, and propiconazole in reference soils from norway. Journal of Environmental Quality 30:2046-2052.
- Whitson, R.S., and Hine, R.B. 1986. Activity of propiconazole and other sterol-inhibiting fungicides against *Phymatotrichum omnivorum*. Plant Disease 70:130-133.