SEP
SECRETARÍA DE EDUCACIÓN PÚBLICA

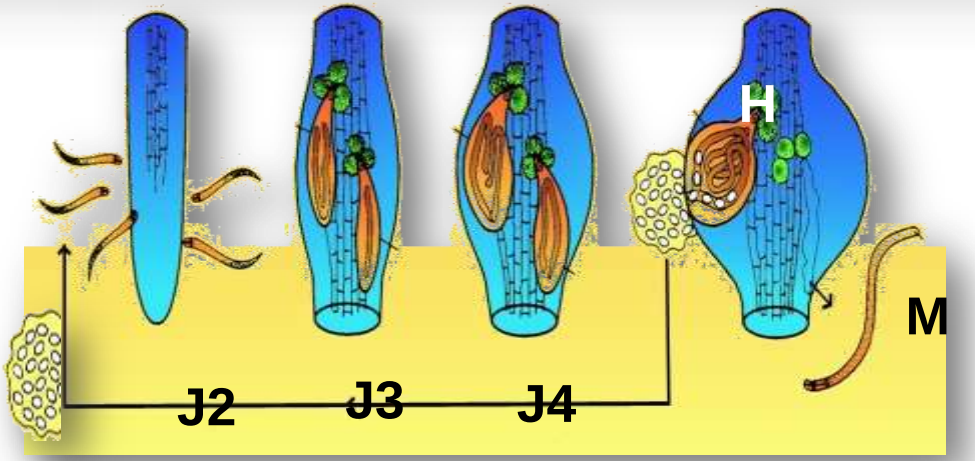
TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO

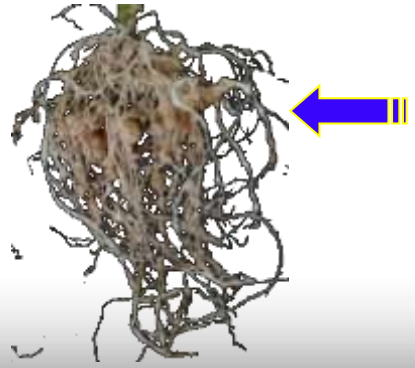
"APLICACIÓN DE *Trichoderma* spp. PARA EL CONTROL DE PATÓGENOS DE RAÍZ EN VIVERO

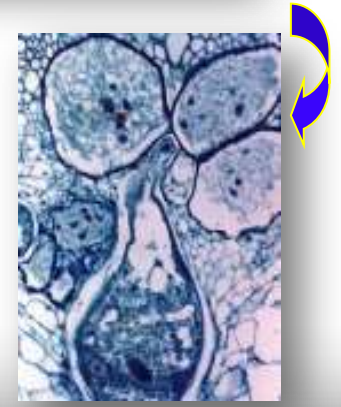
*Jairo.cristobal@itconkal.edu.mx

NEMATODOS

ENDOPARÁSITOS SEDENTARIOS
Meloidogyne incognita





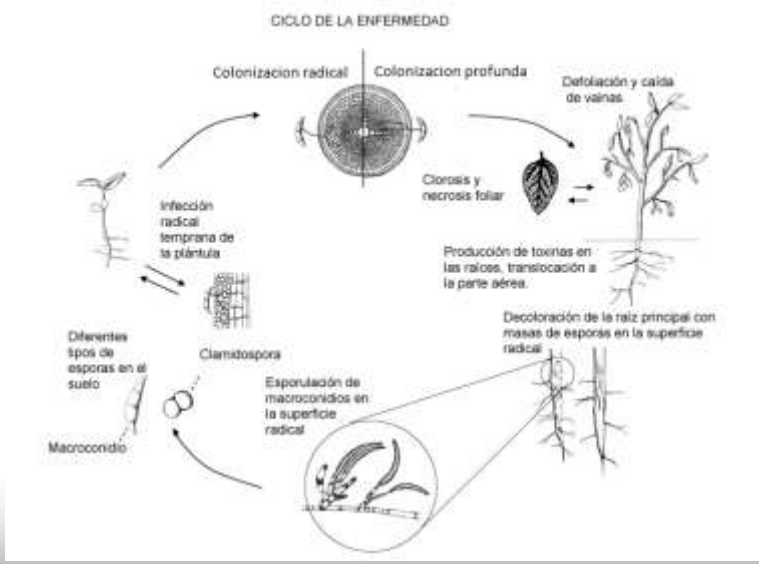


ECTOPARÁSITOS MIGRATORIOS

fppt.com

HONGOS PATÓGENOS DE LA RÁIZ

Fusarium spp. ataca diferentes especies de plantas, es capaz de sobrevivir en materia orgánica y permanecer en el suelo por varios años.



- Marchitez
- Necrosis
- Clorosis
- Defoliación

fppt.com

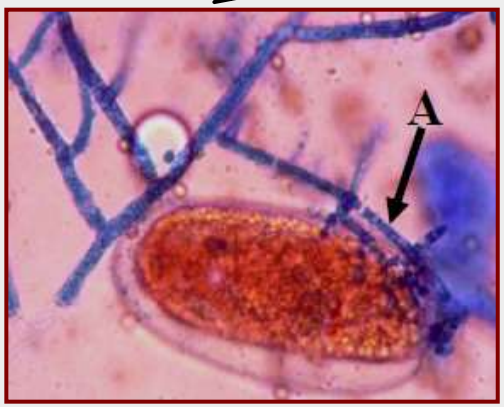
Trichoderma

Biocontrolador

Capacidad reproductiva
Rápido crecimiento
Agresividad
Mecanismos (Competencia
Micoparasitismo
Antibiosis)

Biofertilizante

- Descomposición
- Actividad solubilizadora
- Resistencia a Patógenos



Zimand *et al.*, 1996; Harman *et al.*,2004

OBJETIVO

1. Determinar el efecto individual de especies nativas de *Trichoderma*, en la severidad (índice de agallamiento) y reproducción (número de huevos y hembras g^{-1} de raíz) de *M. incognita* en *Capsicum annuum* L. como modelo de estudio.

METODOLOGÍA

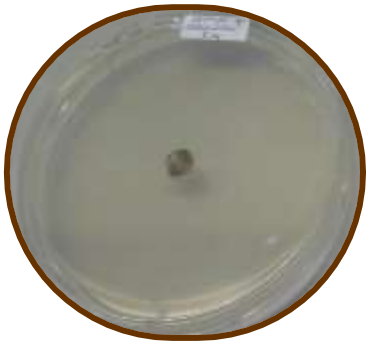
Aislamiento de 70 cepas de *Trichoderma*

Colección de Laboratorio de Fitopatología

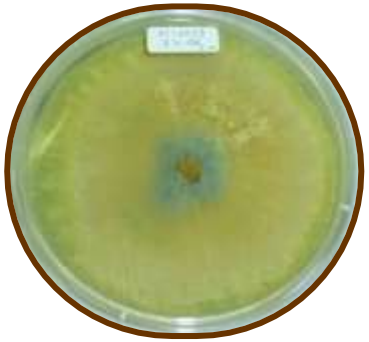
Aislados en medio de cultivo PDA

Aislados antagónicos a *Fusarium* spp. y *M. incognita*.

Siembra de disco de 5 mm



Reactivación de cepas en medio de cultivo PDA



Incubación de 25 °C

Identificación molecular de aislados

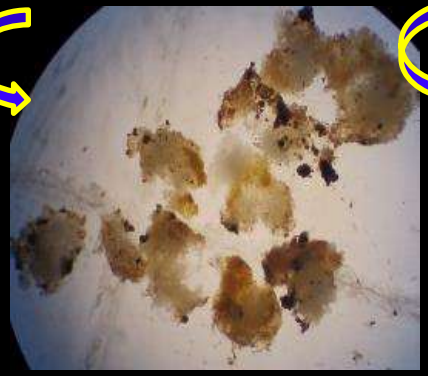
Especie	Clave de Aislado	% de Homología	% de Cobertura	Secuencia de referencia	No. de acceso del GenBank
Trichoderma citrinoviride	Th33-58	99	99	X93957	MF078653
Trichoderma ghanense	Th02-04	99	99	JN564003	MF078652
	Th26-52	99	99	LN846701	MF078651
Trichoderma harzianum	Th20-07	99	99	LN846710	MF078650
	Th43-14	99	99	LN846710	MF078649
	Th33-59	100	99	FR872742	MF078648
Trichoderma simmonsii	Th09-06	99	99	KX632493	MF078647
Trichoderma virens	Th27-08	100	99	KJ739790	MF078646
	Th32-09	99	99	KT599099	MF078645
	Th43-13	99	99	KJ739790	MF078644

Guigón *et al.*, 2010; Moo *et al.*, 2017

fppt.com

Obtención del inoculo

Biocontrol de *M. incognita*



Incubación a 28 ˚C, hasta la eclosión de J_2. Posteriormente se concentraron en un matraz de 500 mL y se contabilizo 1 mL para estimar el número de nematodos en dicho volumen.

Establecimiento del bioensayo

Plantas de chile previamente inoculadas con *Trichoderma* spp., se inocularon con 1,000 huevos + 300 J_2 de *M. incognita.* Trascurrir 60 días para su evaluación.

Treatment0s
T. harzianum-C1
T. citrinoviride
T. virens
T. harzianum-C2
*Nematicida oxamil
Control

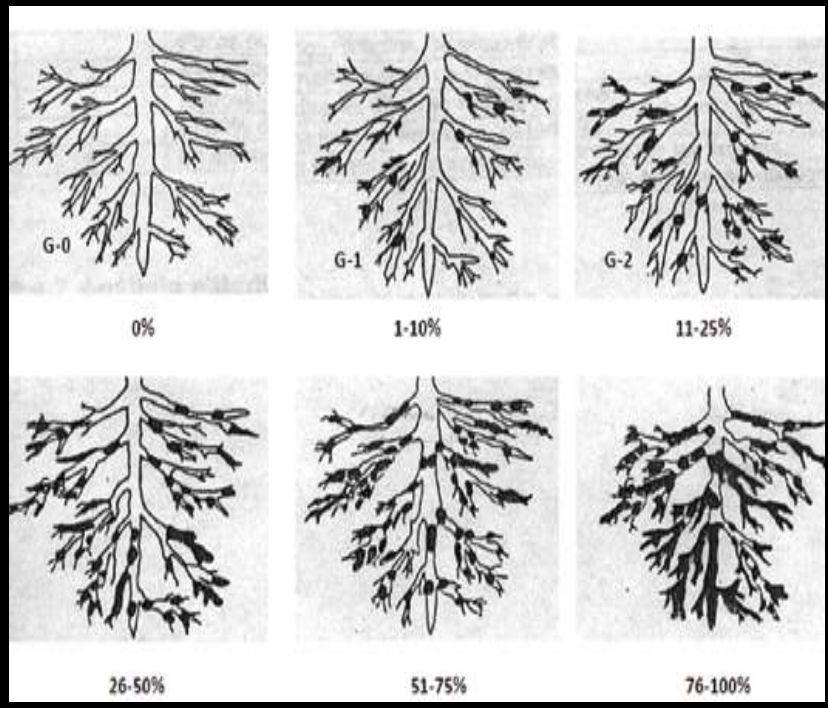
Variables estimadas

Altura de planta
Biomasa seca aérea
Peso fresco y volumen de raíz

Fertilizante-fuentes: nitrato de potasio (Ultrasol®,12-00-46), fosfato monoamonico (MAP®, 12-61-00) y urea (Magro®, 46-00-00)
*Nematicida (Vydate®, Oxamil 1 $mL \cdot L^{-1}$ de agua)

<u>Variables estimadora de intensidad de enfermedad</u>
Índice de agallamiento (%) Escala pictórica (Taylor y Sasser, 1986)

<u>Variables estimadoras de reproducción del nematodo:</u> número de huevos g^{-1} de raíz licuada, número de hembras g^{-1} de raíz teñida.



Arco seno [y=arcoseno (sqrt x/100)].
ANDEVA
CMM (Tukey, P≤0.05)
SAS versión 9.3.

Table 2. Índice de agallamiento y variables de reproducción del nematodo

Treatments	Número de agallas por raíz	Índice de agallamiento (%)	Número de huevos por g de raíz	Número de hembras por g de raíz
T. harzianum-C1	88.00 ± 15.41a	32.00 ± 9.66c	2502 ± 131.82c	38.30 ± 3.46bc
T. citrinoviride	69.50 ± 6.75b	35.00 ± 17.51c	2019 ± 125.66e	32.80 ± 0.78d
T. virens	73.30 ± 7.02ab	24.75 ± 12.02c	3249 ± 125.87a	47.10 ± 5.89a
T. harzianum-C2	84.40 ± 11.15a	21.60 ± 7.587c	2268 ± 249.36d	35.90 ± 2.76cd
Nematicida oxamil	87.00 ± 7.91a	48.50 ± 16.40b	2755 ± 156.30b	42.00 ± 4.29ab
Control	44.80 ± 15.29c	85.50 ± 7.90a	1441 ± 91.14f	14.00 ± 4.32e
DMS	14.8	14.50	228.28	5.17

a) *T. harzianum*-C1, b) *T. citrinoviride*, c) *T. virens*, d) *T. harzianum*-C2, e) oxamil y f) control.

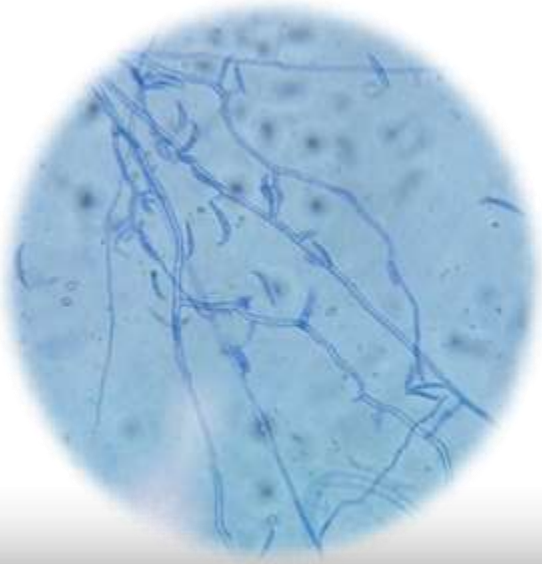
Table 3. Variables de crecimiento estimadas en *Capsicum annuum* inoculadas con *Meloidogyne incognita* a los 96 dps en los diferentes tratamientos.

Tratamientos	Altura de plantas cm	Biomasa aérea seca g	Peso fresco de raíz g	Largo de raíz cm
T. harzianum-C1	31.20 ± 3.29a	3.03 ± 0.28a	8.31 ± 1.64bc	25.80 ± 3.08c
T. citrinoviride	30.05 ± 1.92a	2.22 ± 0.34bc	7.80 ± 1.80bc	30.70 ± 3.16ab
T. virens	25.60 ± 2.5b	1.74 ± 0.30c	9.92 ± 2.6ab	34.90 ± 3.07a
T. harzianum-C2	27.80 ± 2.4ab	2.27 ± 0.67bc	7.36 ± 1.21c	30.30 ± 3.05b
Nematicida oxamil	25.80 ± 2.61b	2.62 ± 0.50ab	11.55 ± 1.97a	31.30 ± 3.56ab
Control	14.75 ± 2.61c	0.66 ± 0.19d	1.54 ± 0.48d	14.40 ± 3.68d
DMS	3.44	0.55	2.31	4.33

a) *T. harzianum*-C1, b) *T. cirtinoviride*, c) *T. virens*, d) *T. harzianum*-C2, e) oxamil, y f) control.

OBJETIVO

2. Evaluar *in vitro* el antagonismo de *Trichoderma asperellum* contra especies *de Fusarium*



fppt.com

CLAVE	ESPECIE	HOSPEDANTE	LUGAR DE AISLAMIENTO
ITC17	***Trichoderma* sp.**	***Capsicum annuum* L.**	**Conkal, Yuc.**

CEPA	HOMOLOGIA	COBERTURA	SECUENCIA DE REFERENCIA	ESPECIE
ITC17	100 %	100 %	KC479809.1	*Trichoderma asperellum*

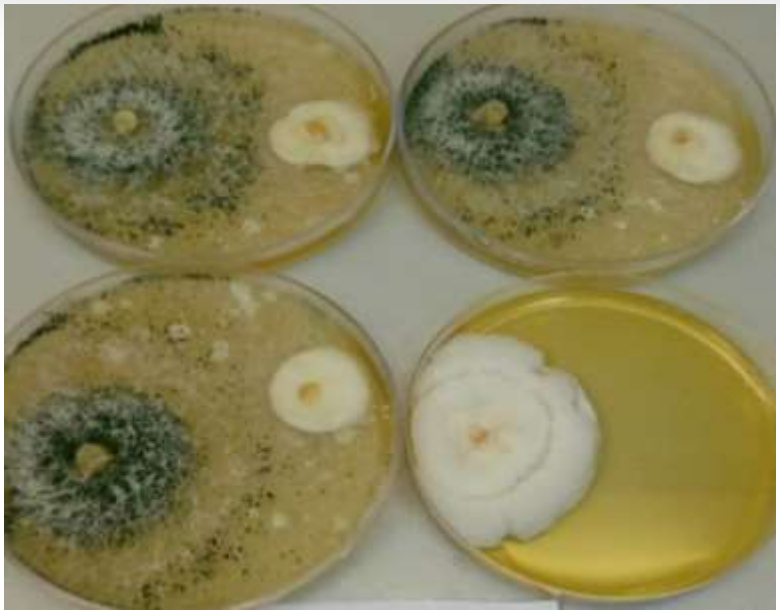
fppt.com

ESPECIES EN ESTUDIO

	CLAVE	ESPECIE	HOSPEDANTE	LUGAR DE AILAMIENTO
1	FBO	*Fusarium moniliforme*	*Brassica oleracea*	TEYA
2	FSOT	*Fusarium equiseti*	*Saccharum officinarum*	TIZIMÍN
3	FJCF	***Fusarium equiseti***	***Jatropha curcas***	UXMAL
4	FJCE	***Fusarium solani***	***Jatropha curcas***	HOCTÚN
5	FJCA	***Fusarium equiseti***	***Jatropha curcas***	UXMAL
6	FCHJ	*Fusarium oxysporum*	*Capsicum chinense* Jacq.	OXCUTZKAB
7	FCHA	*Fusarium oxysporum*	*Capsicum chinense* Jacq.	CONKAL
8	FCHE	*Fusarium equiseti*	*Capsicum chinense* Jacq.	XMATKUIL
9	SF5	***Fusarium circinatum***	***Pinus greggii***	TLAXCALA
10	FMT	***Fusarium equiseti***	***Rhizophora mangle***	EL CUYO
11	ITC21	*Fusarium moniliforme*	*Saccharum officinarum*	TIZIMIN
12	FEL	*Fusarium equiseti*	*Eustoma grandiflorum*	DZUNUNCAN

fppt.com

CONFRONTACIONES



fppt.com

Antagonismo *in vitro*

- Cada 2 días

1. % de parasitismo
2. % de inhibición de crecimiento

PICR = (R1 – R2)/R1 *100

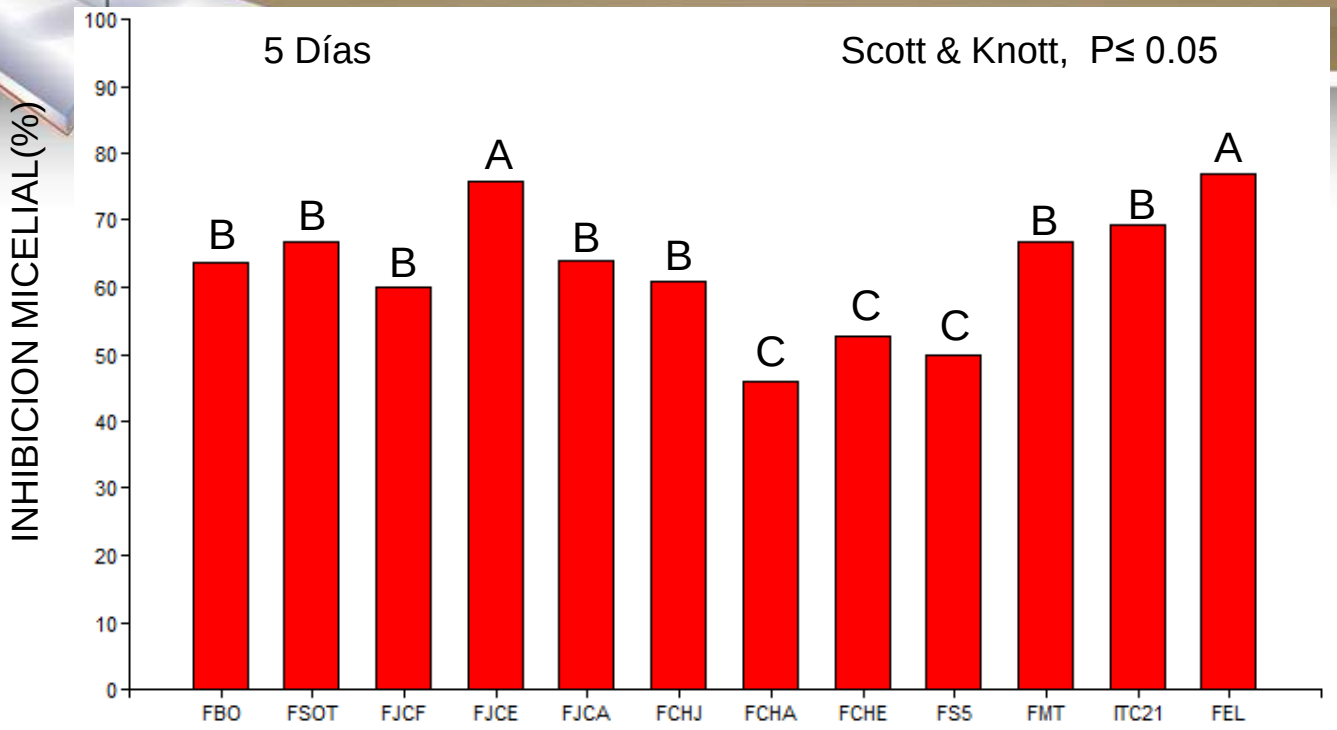
Escala de parasitismo

1	*Trichoderma* sobrecrece completamente al patógeno y cubre totalmente la superficie del medio
2	*Trichoderma* sobrecrece las dos terceras partes de la superficie del medio
3	*Trichoderma* y el patógeno crecen aproximadamente la mitad de la superficie y ninguno domina al otro
4	El patógeno coloniza las dos terceras partes de la superficie del medio y resiste la invasión por *Trichoderma*
5	El patógeno sobrecrece completamente a *Trichoderma* y ocupa la superficie total del medio

Bell *et al*., 1982; Ezziyyani *et al.,* 2004

fppt.com

RESULTADOS DE LA CONFRONTACIÓN ENTRE *Trichoderma* sp. ITC17 contra *Fu*



CAPACIDAD INHIBITORIA IN VITRO DEL CRECIMIENTO MICELIAL CAUSADO POR *Trichoderma asperellum* (ITC17) EN ESPECIES DE *Fusarium*.

CLAVE	*Fusarium* spp.
FBO	*F. moniliforme*
FSOT	*F. solani*
FJCF	*F. equiseti*
FJCE	*F. solani*
FJCA	*F. equiseti*
FCHJ	*F. oxysporum*
FCHA	*F. oxysporum*
FCHE	*F. equiseti*
FS5	*F. circinatum*
FMT	*Fusarium.* sp.
ITC21	*F. moniliforme*
FEL	*F. equiseti*

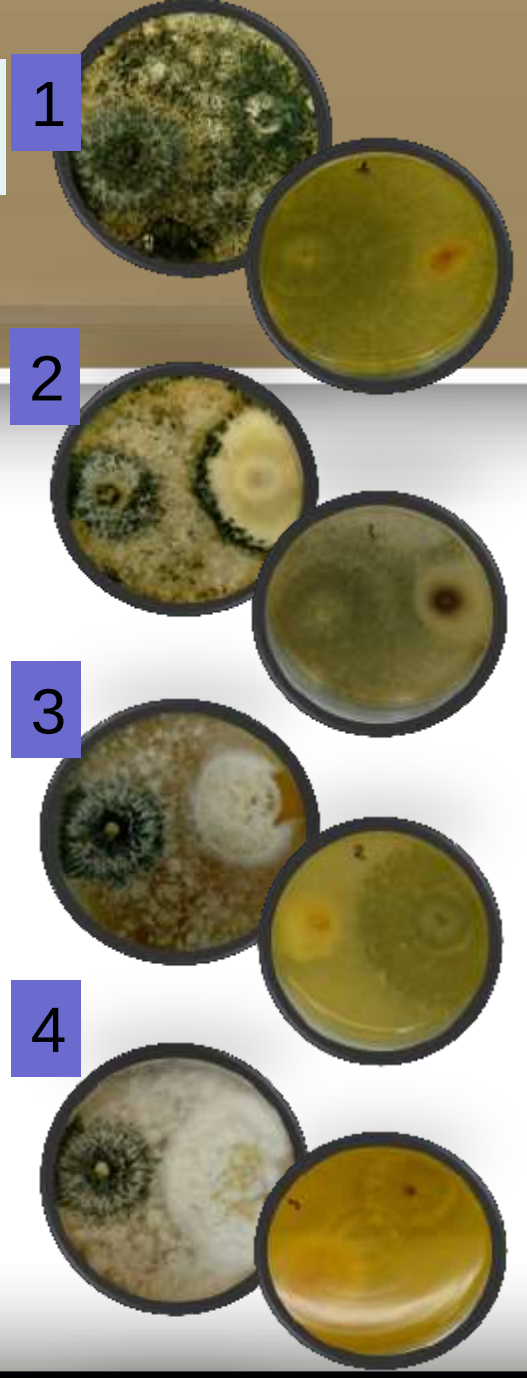
fppt.com

RESULTADOS DE LA CONFRONTACION ENTRE *Trichoderma asperellum* contra *Fusarium* spp.

Tabla 1. Micoparasitismo de *Trichoderma aperellum* (ITC17) sobre *Fusarium* spp.

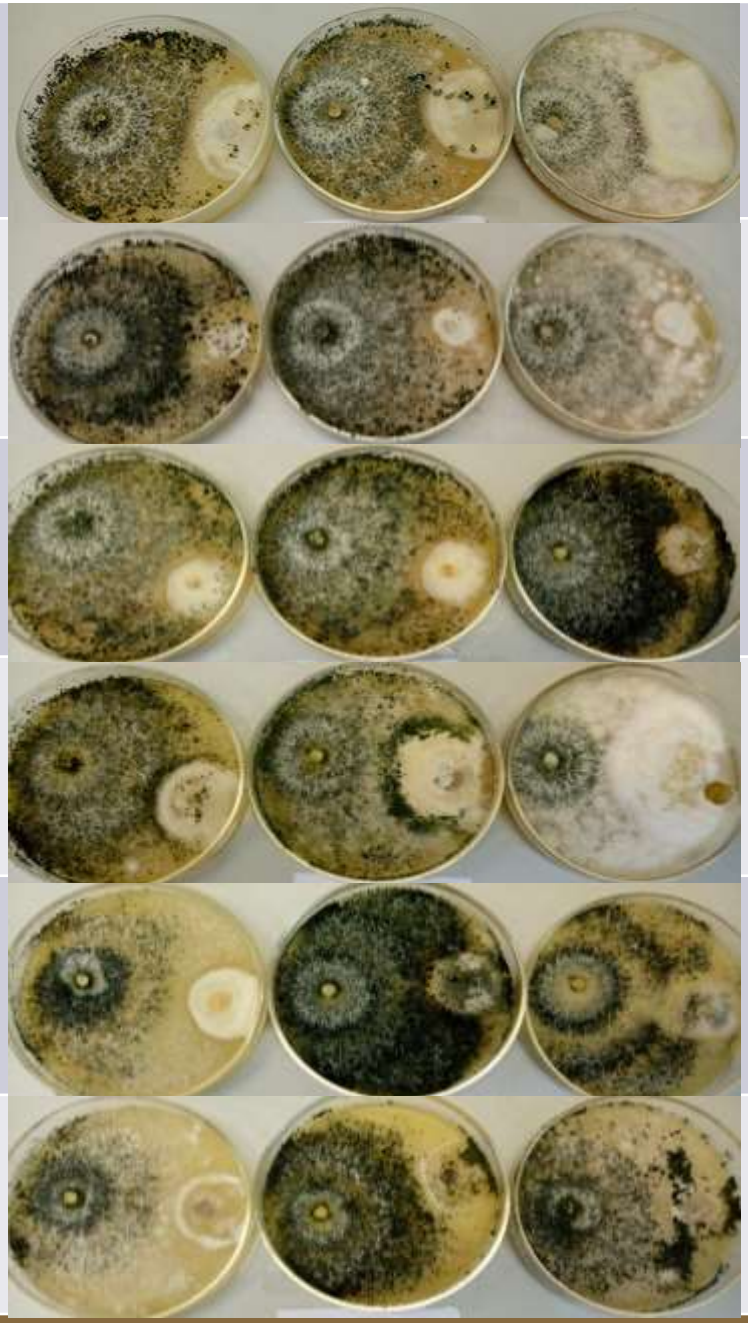
CEPA	ESPECIE	ESCALA	VALOR (%)
FBO	*F. moniliforme*	2	92.05 a
FSOT	*F. solani*	2	92.05 a
FJCF	*F. equiseti*	2	92.05 a
FJCE	*F. solani*	2	92.05 a
FJCA	*F. equiseti*	1	100 a
FCHJ	*F. oxysporum*	1	100 a
FCHA	*F. oxysporum*	1	100 a
FCHE	*F. equiseti*	1	100 a
FS5	***F. circinatum***	2	92.05 a
FMT	*Fusarium* sp.	1	100 a
ITC21	*F. moniliforme*	2	92.05 a
FEL	*F. equiseti*	1	100 a

18 días: Tukey P ≤0.05



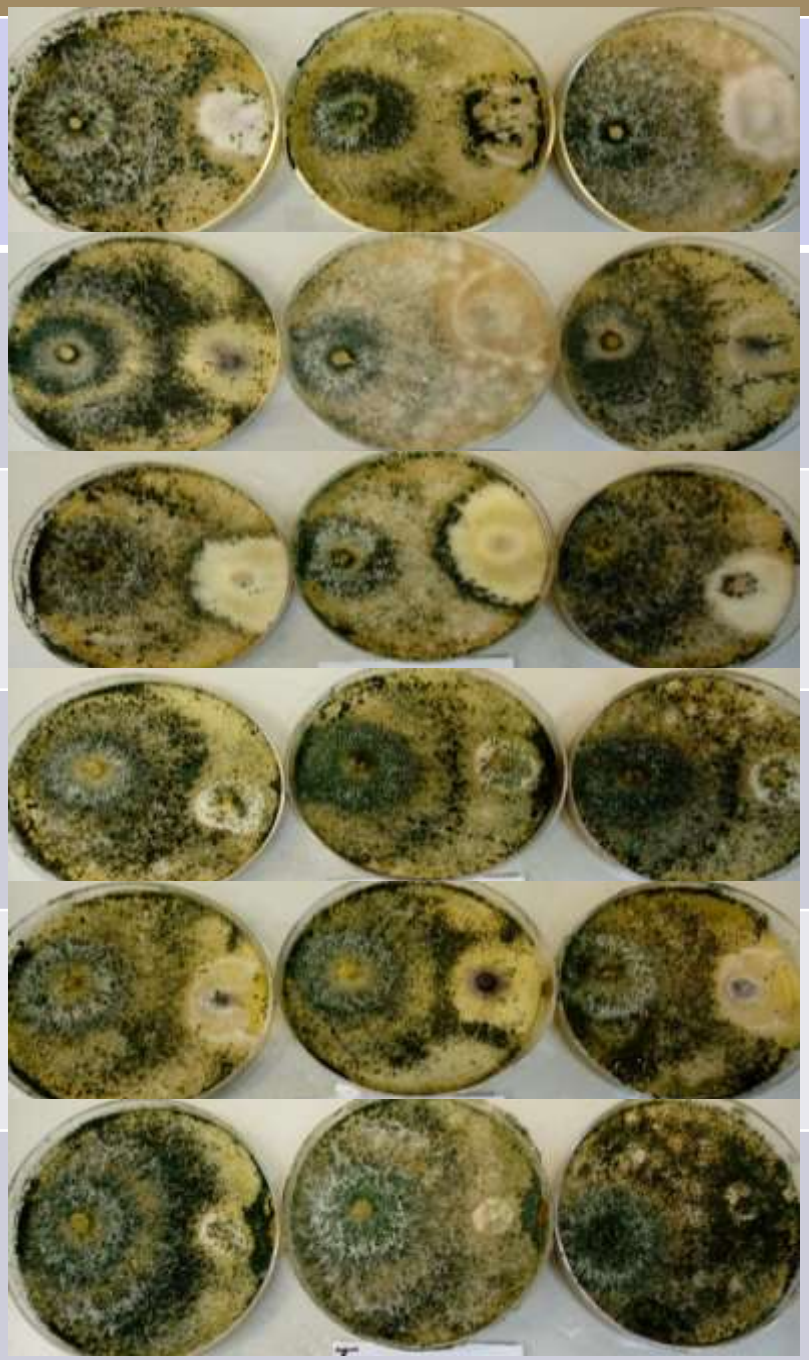
fppt.com

ESPECIE	HOSPEDANTE	MICOPRASITISMO DE *TRICHODERMA* ITC17
Fusarium moniliforme	*Brassica oleracea*	
Fusarium equiseti	*Saccharum officinarum*	
Fusarium equiseti	*Jatropha curcas*	
Fusarium solani	*Jatropha curcas*	
Fusarium equiseti	*Jatropha curcas*	
Fusarium oxysporum	*Capsicum chinense*	



fppt.com

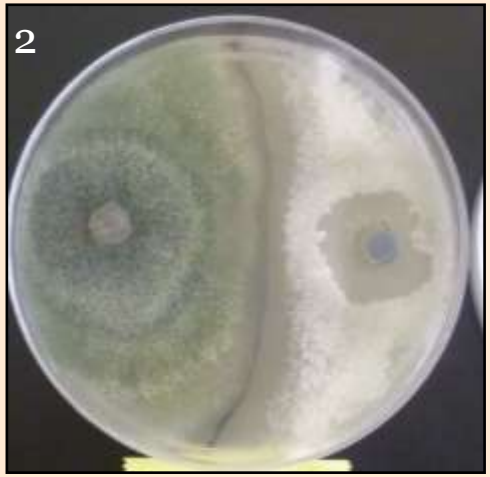
Fusarium oxysporum	*Capsicum chinense*
Fusarium equiseti	*Capsicum chinense*
Fusarium circinatum	***Pinus greggii***
Fusarium equiseti	*Rhizophora mangle*
Fusarium moniliforme	*Saccharum officinarum*
Fusarium equiseti	*Eustoma grandiflorum*



fppt.

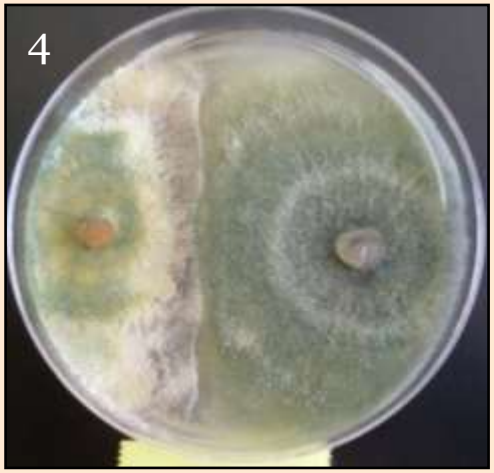
Escala de compatibilidad e incompatibilidad *in vitro* de *Trichoderma*

0.7 cm
Incompatibilidad
Barrera gruesa



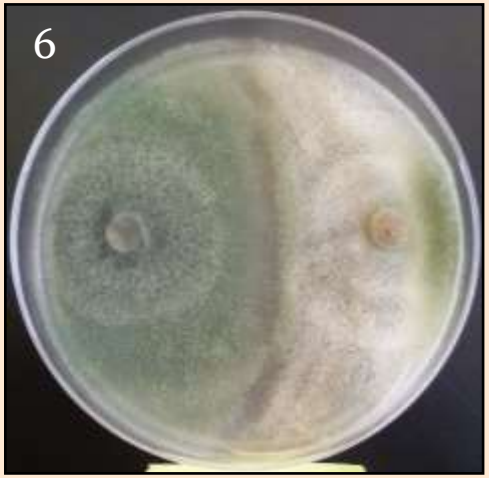
0.5 - 0.6 cm
Incompatibilidad
Barrera gruesa

0.4 - 0.5 cm
Incompatibilidad
Barrera delgada

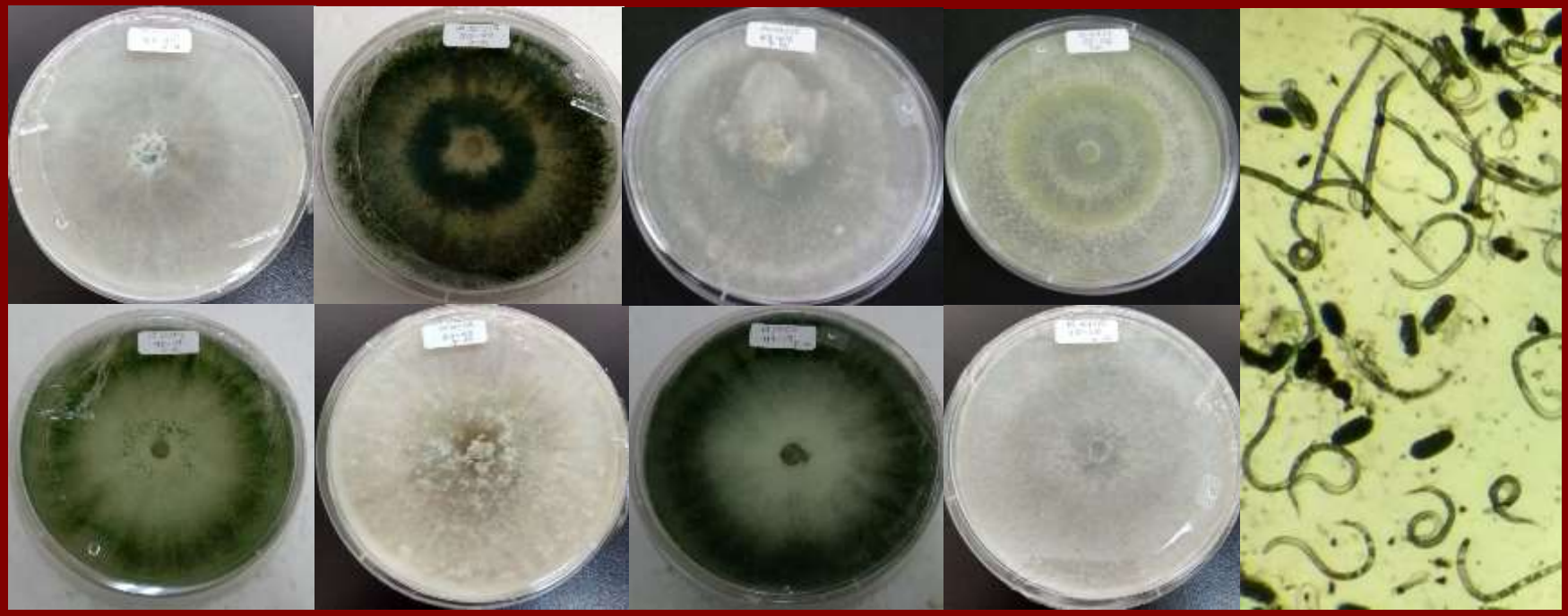


0.2 - 0.3 cm
Incompatibilidad
Barrera fina

0.1 - 0.2 cm
Compatibles
No presenta barrera
No coloración



0 cm
Compatibles
No presenta barrera
Coloración



Gracias por su atención……!