



# INSTITUTO TECNOLÓGICO SUPERIOR DE TEZIUTLÁN

## Tesis



“AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS  
PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE RHIZOCTONIA SOLANI  
EN PLANTAS DE JITOMATE”

PRESENTA:

**MARIMAR CANTELLANO JARILLO**

CON NÚMERO DE CONTROL  
**17TE0586**

PARA OBTENER EL TÍTULO DE:  
**INGENIERA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**

CLAVE DEL PROGRAMA ACADÉMICO  
**IIAL-2010-219**

DIRECTOR (A) DE TESIS:  
**MBP. JACQUELIN LEÓN BÁEZ**

“La Juventud de hoy, Tecnología del Mañana”

TEZIUTLÁN, PUEBLA, SEPTIEMBRE 2022



## Dedicatoria y agradecimientos

A mis padres, que me dieron la oportunidad de estudiar esta carrera y poder lograr ser una profesional, además de que siempre estuvieron conmigo dándome su apoyo incondicional en todo momento.

A mi asesora la Dra. Jacquelin León Báez por brindarme sus conocimientos a lo largo de la realización de este proyecto, así como su tiempo, apoyo, dedicación y sobre todo la gran paciencia que me tuvo.

Al Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán por haberme permitido hacer uso del laboratorio de microbiología, así como a las encargadas de dicha instalación, las cuales me brindaron su apoyo para la utilización de equipo y material.

Al jefe de división de ingeniería en Industrias Alimentarias, Mtro. Heladio Gabriel Méndez Prince, el cual estuvo presente durante todo el tiempo que curse la carrera, apoyándome, orientándome, guiándome y estando a mi disposición de la mejor manera cuando presentaba algún inconveniente. Agradezco demasiado por todo lo que hizo por mí.

A todos los docentes tanto los que aún permanecen en el instituto y los que ya no lo están, pero formaron parte de mi formación académica, y los cuales me dieron las herramientas necesarias para poder desempeñarme durante este trayecto y así poder concluir de la mejor manera esta etapa y lograr ser una profesionista.

A compañeros que se convirtieron en grandes amigos, que siempre estuvieron apoyándome durante estos años que estuvimos juntos cursando la carrera, con los cuales pase momentos muy bonitos dentro y fuera de la institución, y que a pesar de ser ya unos profesionistas han estado conmigo dándome ánimos y apoyándome para que pudiera culminar mi tesis y poder ser también oficialmente ingeniera.

A mis hermanos, que aún a la distancia estuvieron siempre para mí, dándome consejos, motivación, guiándome y mostrándome que uno es capaz de hacer todo lo que se propone.

Y mi demás familia y amigos, que de una u otra manera estuvieron presentes a lo largo de este trayecto el cual fue difícil, pero no imposible, y pudieron ver los grandes avances que presente. Al igual que me apoyaron durante el tiempo que enferme.

A Cami, que me apoyo y me motivo siempre para que siguiera y lograra concluir mis estudios.

A minino, que, aunque haya llegado hace casi dos años me hacía compañía por las madrugadas en la realización de este proyecto, una motivación de seguir fue ella.

A mis compañeros de residencia con los cuales aprendí mucho a ser más responsable y no dejar las cosas para último momento, además de pasar buenos momentos en el instituto.

A mis amigos de grados avanzados con los cuales pude formar parte en proyectos institucionales, y que me brindaron conocimientos y experiencias gratas.

Gracias a cada persona que formo parte de este trayecto de mi vida, que aun que ya no formen parte de ella aportaron aprendizaje, consejos, motivación, apoyo, buenos momentos, y demás.

## Resumen

*Rhizoctonia solani* es un patógeno habitante del suelo que ataca al tomate (Latorre, 1982), especialmente cuando éste se realiza bajo invernadero, provocando caída de plántulas. Lo anterior hace necesario buscar un método de control el cual no cause efectos negativos en el medio ambiente, como es el caso del uso inadecuado de agroquímicos comúnmente utilizados.

Por ello se llevó a cabo el presente estudio a partir de muestras recolectadas de suelo del municipio de Teziutlan, Puebla, esto con el fin de dar una nueva alternativa para el control de plaga, en este caso de *Rhizoctonia solani*, de tal forma que no afecte a los productores de tomate en la región de forma económica, trayendo consigo un elevado costo en la venta de dicho fruto, al igual que no tenga repercusiones al medio ambiente y al consumidor final, por ello el aislamiento de hongos filamentosos se obtuvieron mediante una serie de procesos, permitiendo la selección de 3 aislamientos P360, I750 y D800 los cuales con un periodo de incubación de 5 días se tomaron mediciones de circunferencia radial, entre el hongo benéfico y patógeno; todo ello con la finalidad de identificar la capacidad antagónica. Obteniendo los resultados se observó que el aislamiento I750 se formó un halo de inhibición por parte de la cepa benéfica contra el hongo *Rhizoctonia solani*, evitando así su proliferación, por otra parte, en el aislamiento P360 se pudo observar la inhibición del crecimiento de *Rhizoctonia solani*, creciendo por encima de este el hongo de interés y por último en el aislamiento D800, de igual manera se formó un halo de inhibición contra el patógeno, evitando su propagación en el medio de cultivo.

Mediante la técnica de microcultivo llevándolo al microscopio se pudo observar un posible aislamiento de hongo de especie *Trichoderma* sp., esto mediante a las características macro y microscópicamente presentadas durante su crecimiento, dando así un resultado viable, puesto que la especie de *Trichoderma* spp., es utilizada como un microorganismo antagonista para el control biológico de patógenos en diversos cultivos ya estudiados.

# Índice

Resumen .....	4
Introducción .....	8
Capítulo I Generalidades del proyecto .....	9
1.1 Datos generales de la empresa .....	10
1.1.1 Antecedentes.....	10
1.1.2 Misión .....	10
1.1.3 Visión.....	11
1.1.4 Datos de contacto .....	11
1.2 Problemática .....	11
1.3 Objetivos .....	12
1.3.1 Objetivo general.....	12
1.3.2 Objetivos específicos .....	12
1.4 Justificación.....	12
Capítulo II Marco teórico .....	14
2.1 Fundamentos Teóricos.....	15
2.1.1 Antecedentes.....	15
2.1.2 Marco teórico .....	19
2.1.2.1 Control biológico .....	19
2.1.2.2 Fertilizantes .....	19
2.1.2.3 Biofertilizantes .....	20
2.1.2.4 Hongos filamentosos.....	20
2.1.2.4.1 Requerimientos nutricionales de hongos filamentosos.....	22
2.1.2.5 Hongos patógenos.....	22
2.1.2.5.1 Rizhoptonia .....	22
2.1.2.5.2 Fusarium .....	24
2.1.2.6 Hongos benéficos para control biológico .....	25
2.1.2.6.1 Mecanismo de acción .....	25
2.1.2.6.1.1 Competencia por nutrientes .....	27
2.1.2.6.1.2 Competencia por espacio. ....	27
2.1.2.6.1.3 Interacción directa con el patógeno. ....	27
2.1.2.6.2 Trichoderma spp.....	27
2.1.2.7 Tomate .....	28

2.1.2.7.1 Condiciones agroecológicas del cultivo .....	29
2.1.2.7.1.1. Temperatura .....	29
2.1.2.7.1.2 Humedad relativa.....	29
2.1.2.7.1.3 Luminosidad .....	29
2.1.2.7.2 Variedades de tomate. ....	30
2.1.2.8 Plagas .....	30
2.1.2.9 Medios de cultivo.....	31
<b>2.1.2.9.1</b> .....	Tipos de medios de cultivo
.....	<b>iError! Marcador no definido.</b>
2.1.2.10 Técnicas y tipos de sembrado en placa .....	33
2.1.2.10.1 Siembra .....	33
Capítulo III .....	35
Desarrollo y metodología .....	35
3.1 Procedimiento y descripción de las actividades realizadas .....	36
3.1.1 Diagrama de proceso.....	36
3.1.2 Equipos y materiales empleados durante la investigación.....	37
3.1.3 Medios cultivo para aislamiento de hongos filamentosos.....	37
3.1.3.1 Medio Agar papa dextrosa (PDA).....	37
3.1.3.2 Medio extracto de malta (Medio selectivo para Trichoderma).....	38
3.1.3.3 Medio McFadden (Medio selectivo para Trichoderma).....	38
3.1.4 Recolección de suelo .....	39
3.1.5 Aislamiento de hongos filamentosos .....	39
3.1.5.1 Lavado de la muestra.....	39
3.1.5.2 Técnica de dilución en placa. ....	39
3.1.5.2.1 Aislamiento en medios selectivos.....	40
3.1.6 Aislamiento.....	41
3.1.7 Purificación.....	41
3.1.8 Antagonismo contra Rhizoctonia.....	42
3.1.9 Técnica de microcultivo.....	43
Capítulo IV.....	44
Resultados .....	44
4.1 Resultados y discusión.....	45
Capítulo V Conclusiones.....	54
5.1 Conclusiones del proyecto.....	55
5.2 Aportaciones originales .....	55
5.3 Limitaciones del modelo planteado .....	56

5.4	Recomendaciones.....	56
Capítulo VI Competencias desarrolladas .....		57
6.1	Competencias desarrolladas y/o aplicadas .....	58
Capítulo VII Fuentes de información .....		59
7.1	Fuentes de Información .....	60
Capítulo VIII Anexos.....		65
8.1	Carta de cesión de derechos.....	66
8.2	Dictamen.....	68

## Índice de tabla

Tabla 1.	Fuentes de energía para hongos filamentosos .....	22
Tabla 2.	Ficha taxonómica de <i>Solanum lycopersicum</i> .....	28
Tabla 3.	Tipos de medios de cultivo .....	31
Tabla 4.	Tipos de siembra.....	33
Tabla 5.	Prueba de antagonismo en placa de agar (Día 1).....	46
Tabla 6	Prueba de antagonismo en placa de agar (Día 2).....	46
Tabla 7.	Prueba de antagonismo en placa de agar (Día 3).....	46
Tabla 8.	Prueba de antagonismo en placa de agar (Día 4).....	46
Tabla 9.	Prueba de antagonismo en placa de agar (Día 5).....	47
Tabla 10.	Descripción macroscópica de aislamientos.....	48
Tabla 11.	Ejemplos de los diversos hongos filamentosos aislados.....	52

## Índice de figuras

Figura 1.	Representación microscópica de la estructura de un hongo filamentosos, fase micelial (azul) y talo filamentosos (verde).....	21
Figura 2:	2A Características macroscópicas de <i>Rhizoctonia solani</i> Fuente propia .....	23
Figura 3:	3A. Características macroscópicas de <i>Fusarium</i> spp. Fuente propia.....	24
Figura 4.	Mecanismo de acción de competencia por nutrientes por parte de <i>Botrytis cinerea</i> en fruto de zarzamora .....	25
Figura 5.	: Especies de <i>Trichoderma</i> Pers. 5A. <i>Trichoderma asperellum</i> , 5B. <i>Trichoderma atroviride</i> , 5C. <i>Trichoderma aureoviride</i> , 5D. <i>Trichoderma citrinovire</i> , 5E. <i>Trichoderma harzianum</i> , 5F. <i>Trichoderma koningii</i> , 5G. <i>Trichoderma koningiopsis</i> , 5H. <i>Trichoderma longibrachiatum</i> .....	28
Figura 6.	Moho gris en plantas de tomate .....	31
Figura 7.	Preparación de la muestra.....	39
Figura 8.	Método de diluciones decimales .....	40
Figura 9.	Selección de hongos filamentosos para purificar .....	42
Figura 10.	Antagonismo en placa contra <i>Rhizoctonia solani</i> .....	43

Figura 11. Técnica de microcultivo .....	43
Figura 12 . Aislamientos obtenidos.....	45
Figura 13. A- C. Antagonismo contra Rhizoctonia Solani reverso de la placa .....	47
Figura 14. A- C. Antagonismo contra Rhizoctonia Solani anverso de la placa .....	48

## Introducción

La búsqueda de microorganismos antagonistas para el control biológico de patógenos en cultivos de importancia económica, como lo es el cultivo de jitomate, ha presentado un gran interés debido a sus potencialidades y a la gravedad de los impactos ecológicos causados por la constante y creciente aplicación de agroquímicos en los agroecosistemas. (Acebo et al., 2012; Suárez y Alba, 2013).

En la actualidad se reportan un número representativo de hongos filamentosos que presentan efectos antagónicos, esto a partir de investigaciones ya realizadas, las cuales se aprovechan como una alternativa de control biológico para los patógenos en frutas y vegetales. Los géneros de hongos más empleados para este fin son: *Gliocladium* y *Trichoderma*, siendo este último el más usado al momento de controlar los patógenos del suelo. (Cong et al., 2019)

Los hongos antagonistas del género *Trichoderma* spp., tienen la capacidad de actuar contra una amplia variedad de patógenos del suelo (*Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Pythium* spp., *Phytophthora* spp. y *Sclerotinia* sp.) y del follaje (*Botrytis* spp. y *Peronospora* sp.) (Hoyos et al., 2008; Reyes et al., 2008; Tchameni et al., 2011; Rodríguez et al., 2010; Acebo et al., 2012; Martínez et al., 2013).

Por lo que en el presente trabajo tuvo como objetivo el aislamiento y selección de hongos filamentosos los cuales tuvieran la capacidad antagonista, es decir que fueran benéficos para el control biológico contra el hongo patógeno *Rhizoctonia solani*.

# **Capítulo I**

## **Generalidades del proyecto**

## **1.1 Datos generales de la empresa**

### **1.1.1 Antecedentes**

En 1993, el Gobernador del Estado, Manuel Bartlett Díaz, escuchando la petición popular y la intervención de funcionarios públicos y empresarios interesados, gestionó ante la Secretaría de Educación Pública, dirigida por Ernesto Zedillo Ponce de León, la creación de una Institución de Educación Superior Tecnológica, acción que se vería concretada el 8 de noviembre de 1994 con la publicación del Decreto del Congreso del Estado que expide la ley que crea "Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán", como Organismo Público Descentralizado del Gobierno del Estado, con personalidad jurídica y patrimonio propio. El primer día del mes de septiembre de 1993 inició actividades el Instituto ofreciendo las carreras de Ingeniería Industrial y Licenciatura en Administración, siendo el primer Tecnológico Descentralizado del Estado de Puebla, junto con su similar de la Sierra Norte, designándose como primer director general a José Emilio Guillermo Ortega Balbuena.

El Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán, atento a las demandas de la sociedad, y a los principios de la Ley de Educación del Estado de Puebla, se consolida como una Institución cuyo objetivo es lograr una educación de calidad, moderna y eficaz, orientada al servicio, acercándola a las necesidades e intereses de la población, que promueva el uso transparente y eficiente de los recursos humanos, materiales y financieros de que disponga, y que cumpla puntualmente con sus programas de trabajo.

### **1.1.2 Misión**

El instituto Tecnológico Superior de Teziutlán tiene como Misión, formar profesionales que se constituyan en agentes de cambio y promuevan el desarrollo integral de la sociedad, mediante la implementación de procesos académicos de calidad.

### **1.1.3 Visión**

Llegar a ser la Institución de Educación Superior Tecnológica más reconocida en el Estado de Puebla, que ofrezca un proceso de Enseñanza – Aprendizaje certificado, comprometido con la excelencia académica y la formación integral del Alumno, contribuyendo al desarrollo sustentable, económico, político y social de nuestro Estado.

### **1.1.4 Datos de contacto**

Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán con domicilio Fracción I y II S/N, Aire libre Teziutlán, Puebla. Teléfono 231-311-4000.

Ofertando 6 ingenierías en sus modalidades de escolarizado y sabatino, tales carreras son ingeniería en Industrias alimentarias, Ingeniería Industrial, Ingeniería en Sistemas Computacionales, Ingeniería Mecatrónica, Ingeniería Informática e Ingeniería en Gestión empresarial, y posgrado en maestría en sistemas computacionales, las cuales se encargan de la investigación en las diferentes áreas correspondientes, en este caso en Ingeniería en Industrias Alimentarias dio lugar a la realización de este proyecto dentro del laboratorio de microbiología que se encuentra en el plantel educativo, permitiendo dar paso al seguimiento de la investigación aplicándolo en campo a partir de los resultados obtenidos.

## **1.2 Problemática**

De acuerdo con la FAO el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum*) al igual que de otras hortalizas presentan una pérdida de hasta un 40% de la producción por causa de plagas tales como mosca blanca, escarabajos (gallinas ciegas), mosca de la fruta, entre otros, que son un grave problema para dichos cultivos, ya que no solo reducen la producción agrícola, sino también desmejoran la calidad de los cultivos, las cuales se han intensificado debido al cambio climático, la agricultura intensiva, las malas prácticas de control integral, falta e inadecuada infraestructura en el manejo postcosecha y el comercio, lo cual deja como consecuencia un costo extra para el agricultor.

Además, trae consigo problemas para la materia prima, es decir, al haber presencia de plagas el método más viable, ya sea por economizar o por ser de rápida eficacia para los agricultores es eliminarlas mediante el uso indiscriminado de fertilizantes químicos dejando impactos negativos en el suelo como la variación del pH, deterioro de la estructura del suelo y microfauna. Pudiendo dejar así residuos de dichos fertilizantes en el jitomate que posteriormente traerá consigo repercusiones para la salud del consumidor, como lo es la intoxicación provocando síntomas que incluyen coloración azulada de uñas, labios o palmas de las manos, ardor en la piel, ardor en la garganta, la nariz y los ojos.

## **1.3 Objetivos**

### **1.3.1 Objetivo general**

Aislar y seleccionar hongos filamentosos para el control biológico en la región 6, de *Rhizoctonia solani* en plantas de jitomate.

### **1.3.2 Objetivos específicos**

- Colectar de muestras de suelos en la región 6 del estado de Puebla.
- Aislar hongos filamentosos de suelos muestreados.
- Seleccionar hongos filamentosos en medios selectivos sólidos.
- Determinar el efecto antagónico en placa de hongos filamentosos contra *Rhizoctonia solani*

## **1.4 Justificación**

El uso indiscriminado o el manejo inadecuado de fertilizantes o productos químicos en los cultivos trae consigo diversos problemas, los cuales van desde afectaciones en el suelo, deterioro en la capa de ozono, afectación para la materia prima y problemas para la salud del consumidor final.

Por consiguiente, el siguiente proyecto busca hongos filamentosos los cuales sean benéficos para el control biológico contra el hongo patógeno *Rhizoctonia solani* el cual es un patógeno habitante del suelo que ataca el jitomate, especialmente cuando éste se realiza bajo invernadero, provocando caída de plántulas. Presentando una propagación por medio del agua, ya sea por la lluvia o el riego, también por medio de los órganos de propagación infectados, dejando una repercusión muy importante, ya que llega a causar la muerte prematura de la planta, en algunos casos, el porcentaje de plántulas muertas puede llegar hasta 70% lo que ocasiona reducción de la productividad.

## **1.4 Hipótesis**

La selección de hongos filamentosos a partir de la recolección de suelo de Teziutlán, Puebla contribuirán al control biológico de *Rhizoctonia solani* en plantas de jitomate.

# **Capítulo II**

## **Marco teórico**

## 2.1 Fundamentos Teóricos

### 2.1.1 Antecedentes

Reyes (2010) presentó en su trabajo la obtención de aislamientos de *Trichoderma* promisorios para el control biológico de *Rhizoctonia solani* Kühn en arroz, en dependencia de su antagonismo in vitro, su eficacia en condiciones semicontroladas y de campo, también evaluó la compatibilidad con 11 plaguicidas recomendados para el cultivo. El 93,22% de los aislamientos presentaron alta capacidad antagónica y el 18% mostró el proceso micoparasítico completo. En condiciones semicontroladas y de canteros fueron seleccionadas tres cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, con una eficacia técnica de 90%.

Escobar et al. (2004) realizaron la investigación del grado de efectividad in vitro mediante antagonismo directo, metabolitos volátiles y difusibles, así como la respuesta a  $Fe^{+3}$ , salinidad, pH y temperatura de 4 cepas de *Trichoderma harzianum*, esto con el fin de ser utilizado en el control biológico de *Rhizoctonia solani* y de *Fusarium solani* en tomate. Se determinó que la mejor cepa antagonista correspondió a *Trichoderma harzianum*, Th 650, fue más eficiente en el control de las cepas de *Rhizoctonia solani* que las de *Fusarium solani*. Las cepas de *Trichoderma harzianum*, evaluadas crecieron con mejor respuesta a concentraciones bajas de  $Fe^{3+}$  y salinidad y a pH 5,0. Ninguna de las temperaturas fue limitante para el desarrollo de las cepas de *Trichoderma harzianum*, siendo 28°C la más adecuada.

Barahona (2012) en su presente trabajo cuya finalidad de evaluar en campo la capacidad antagonista de *Bacillus subtilis* D03-02 frente a *Rhizoctonia solani*, agente causal de costra negra en papas, se llevaron a cabo dos ensayos entre septiembre 2006 y marzo 2007. Esta cepa fue aplicada en un ensayo bajo una bioformulación líquida concentrada, con el propósito de determinar la óptima frecuencia de

aplicación (semanas) de la cepa D03-02. En el segundo ensayo, la cepa se aplicó como cápsulas cuyo objetivo fue determinar la concentración y método de incorporación adecuados para un eficiente biocontrol de *Rhizoctonia solani*.

Obteniendo como resultados para el ensayo I que aplicando la cepa bajo la bioformulación líquida con una frecuencia de cada 4 semanas, se manifiesta una mayor capacidad inhibitoria frente a *Rhizoctonia solani*. La presencia de esclerocios sobre la piel de los tubérculos hijos fue sólo de 4,7%. Mientras que, en el segundo ensayo, fue posible establecer que las cápsulas con dosis  $10^4$  y  $10^5$  ufc mL<sup>-1</sup> de la cepa D03-02 presentan un control biológico efectivo frente a *Rhizoctonia solani*.

Martinez et al. (2008) en su trabajo presentan la selección de los aislamientos de *Trichoderma* spp., más promisorios en dependencia de su antagonismo in vitro y su eficacia en condiciones semicontroladas y de campo, para el biocontrol de *Rhizoctonia* spp. Para el antagonismo se evaluó por el método del cultivo dual, se calculó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) a las 72 horas y los aislados que presentaron más de un 60 PICR y al menos dos tipos de interacción hifal se seleccionaron para evaluar su eficacia técnica (ET) sobre el patógeno en condiciones semicontroladas. Los resultados mostraron que el 98,31% de los aislados presentaron alta capacidad antagónica, con diferentes tipos de interacción hifal como lisis, vacuolización, enrollamiento y penetración, de los que fueron seleccionados once. De ellos siete mostraron una ET superior al 80% en condiciones semicontroladas.

Guédez et al. (2008) en la presentación de este estudio se determinó la capacidad antagónica de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en raíces de plantas de tomate. Se obtuvieron 6 aislamientos de *Trichoderma harzianum* de 6 municipios del estado Trujillo, empleando la técnica de siembra directa de raíces en agar agua acidificada.

El antagonismo se realizó en cultivos duales utilizando agar papa dextrosa, incubados a 25°C, bajo un diseño al azar, con 18 tratamientos conformados por cada aislamiento de *Trichoderma harzianum* y cada patógeno, 3 tratamientos testigos correspondientes a cada patógeno y 3 repeticiones por tratamiento, evaluándose el modo de acción e inhibición del crecimiento radial al tercer día. Al comparar el crecimiento de los aislamientos de *Trichoderma harzianum* con el de los hongos patógenos, se obtuvieron diferencias significativas ( $p < 0,05$ ). Cuatro aislamientos de *Trichoderma harzianum* presentaron acción micoparasítica y dos de tipo antibiosis, mecanismos característicos de estas especies de biocontroladores. Todos los aislamientos de *Trichoderma harzianum* estudiados pueden ser utilizados para el control de patógenos de tomate.

Hoyos-Carvajal et al. (2008) en este trabajo evaluaron la eficacia biológica de 8 aislamientos de *Trichoderma* spp., a partir de muestras de suelos de Colombia para el control de los agentes causales de volcamiento, *Sclerotium rolfsii* y *Rhizoctonia solani*, estos bajo condiciones in vitro y de invernadero. Con los análisis in vitro se obtuvo la capacidad antagónica de todos los aislamientos estudiados. Por medio del análisis UP-PCR y DS-PCR se pudo determinar 3 grupos de aislamientos, lo que permitió separar las especies de *Trichoderma* por grupos, así como también encontrar diferencias dentro de aislamientos de una misma especie. Los resultados expusieron que el comportamiento micoparasítico de los aislamientos de *Trichoderma* spp., muestran una variación según el hongo fitopatógeno, presentando una vasta especificidad del antagonista por su sustrato, es decir por el hongo embestado; por lo que es necesario la realización de meticulosas selecciones del aislamiento de *Trichoderma* que se empleen en programas de control de fitopatógenos.

Hernández et al. (2018) evaluaron el efecto de rizobacterias y productos naturales sobre el control de la enfermedad causada por *Rhizoctonia solani* en frijol común,

se desarrollaron experimentos in vitro y en condiciones semicontroladas. En la evaluación del método de cultivo dual o doble capa se presentó una total inhibición por las bacterias *Pseudomonas fluorescens* y *P. aeruginosa* en el crecimiento in vitro de *Rhizoctonia solani*. Mientras que *Bacillus subtilis* y *Bacillus cepacia* presentaron un efecto inhibitorio menor pero mayor al 65 %; mientras que ninguno de los tratamientos evaluados por el método de los pocillos inhibió totalmente el crecimiento del patógeno.

León et al. (2011) en su trabajo cuyo objetivo fue aislar, seleccionar morfológica, cultural y patogénicamente cepas autóctonas del territorio con capacidad antagonica. Tomando muestras de suelo en distintos agroecosistemas (caña y arboleda) del municipio de Colón, provincia Matanzas, donde no se había aplicado *Trichoderma* spp. Para el aislamiento se siguió la metodología propuesta por el Instituto Nacional de Investigaciones de Sanidad Vegetal. Se probó su antagonismo frente a *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia* spp. y *Fusarium* spp., mediante el cultivo dual. Se obtuvieron 126 aislados de los cuales se seleccionaron 72 que cumplían con las condiciones de crecimiento, textura de la colonia y esporulación. Se iniciaron las pruebas con seis aislamientos, tres procedentes de la superficie (Tb111, Tb211 y Tc241) y tres de la profundidad de cinco cm (Tb122, Tc112 y Tc242). Dos (Tb111 y Tc241) mostraron el mayor antagonismo frente a los hongos patógenos antes mencionados.

## **2.1.2 Marco teórico**

### **2.1.2.1 Control biológico**

García (2004) define el control biológico como un método que consiste en la utilización de organismos vivos con la finalidad de controlar las poblaciones que generan problemas. Para su desempeño correcto se requiere que se tenga un profundo conocimiento de la complejidad del problema, esto con el fin de lograr una recomendable identificación del organismo que debe ser empleado para su control, considerando el hecho de que una de las características del control biológico es su especificidad, estimada tanto un beneficio como una desventaja.

Este método reduce los residuos, no genera problemas de resistencia, no supone riesgos para la salud humana y su aplicación no es un práctica compleja. Sin embargo, se requiere de cierto conocimiento técnico para llevar a cabo el proceso de muestreo, una selección controlada de las materias activas a emplearse y paciencia debido a que la respuesta toma un periodo extendido de tiempo. (Agrios, 1997).

Se han descrito diversidad de hongos, (*Trichoderma* spp.; *Coniothyrium* spp., *Mucor* spp., *Penicillium* spp., *Verticillium* spp.) bacterias y nematodos como potenciales antagonistas de *B. cinérea*, mencionando a los primeros como los de mayor importancia en los cultivos hortícolas. (Youssef, 2019)

### **2.1.2.2 Fertilizantes**

Los fertilizantes son todas aquellas sustancias que son aplicadas al suelo o a la planta, para mejorar su fertilidad con el propósito de obtener altos rendimientos agrícolas. Por su composición química todos los fertilizantes se dividen en Inorgánicos (minerales) y orgánicos (abonos), (Yagodín, 1986).

Los fertilizantes son los elementos nutritivos que se suministran a las plantas para completar las necesidades nutricionales de su crecimiento y desarrollo, (Rodríguez, 1982).

Los abonos químicos (también llamados comerciales o inorgánicos) contienen una concentración mucho más alta de nutrientes que el estiércol o las coberturas

vegetales del suelo, pero no tiene las capacidades de mejoramiento del suelo de estos. (Sánchez, 2003).

### **2.1.2.3 Biofertilizantes**

Pérez Martínez (2009) define un biofertilizante como el líquido que se descarga de un digestor y es lo que se utiliza como abono foliar. Es una fuente orgánica de fitorreguladores que permite promover actividades fisiológicas y estimular el desarrollo de las plantas.

Suárez (2005) indica que un biofertilizante (biol) puede ser enriquecido con sales minerales. La utilización de este abono líquido foliar orgánico permite abordar dos problemas importantes de la producción orgánica: las deficiencias de micronutrientes en suelos desgastados y el ataque de plagas y enfermedades de los cultivos. Este abono, rico en micronutrientes, alimenta a la planta de forma orgánica con los elementos necesarios para su crecimiento vigoroso. Al ser sana la planta, es mucho menos atacada por plagas y enfermedades, evitando la necesidad de utilizar agro tóxicos.

### **2.1.2.4 Hongos filamentosos**

Los hongos filamentosos son microorganismos eucarióticos facultativos que se reproducen de manera natural por esporas, sexual o asexualmente (Vargas y Villamizar, 2005). Los hongos tienen como característica común la ausencia de clorofila, por tanto, no pueden realizar fotosíntesis y deben nutrirse a partir de materia orgánica ya elaborada. (Arenas, 1993). De igual forma estos presentan una pared celular formada por quitina el cual es un compuesto (polisacárido) fuertemente rígido. Debido a ello, este tipo de microorganismos deben absorber los nutrientes simples y solubles, al contrario de fagocitar los alimentos.

La estructura fúngica consta de un complejo llamado talo o micelio, que a su vez está constituido por múltiples filamentos o hifas (hyphomycetos o mohos), la mayor parte de estos hongos son inmóviles no obstante algunos pueden tener células reproductoras móviles (Arenas, 1993). Las esporas son cuerpos resistentes que forman los hongos en estado latente o de reposo, que se producen de dos maneras

diferentes sexual y asexualmente. (Moreno, 2000). Las sexuales tienen núcleo derivado de las células progenitoras, y sus esporas son haploides; dos núcleos de las células antecesoras se funden para formar un núcleo diploide (zigoto) y las estructuras que producen las esporas sexuales son, casi siempre, morfológicamente diferenciadas de las esporas asexuales. (Moreno, 2000). Por el contrario, las estructuras que producen las esporas asexuales se producen por simple diferenciación en la hifa de crecimiento (Vargas y Villamizar, 2005).

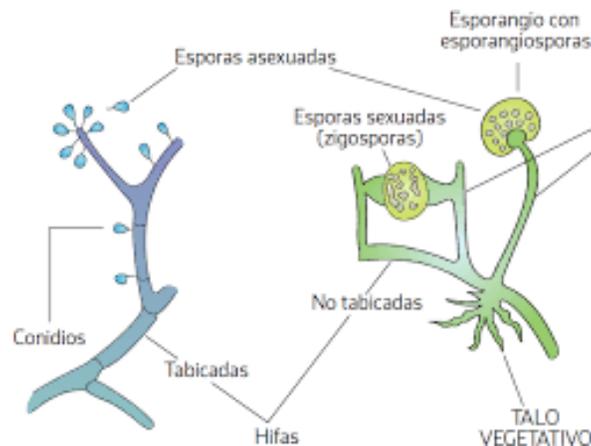


Figura 1. Representación microscópica de la estructura de un hongo filamentosos, fase micelial (azul) y talo filamentosos (verde).

Fuente: Greslebin A, 2011

Fisiológicamente, los hongos filamentosos se adaptan a condiciones más severas que otros microorganismos, su desarrollo en sustratos puede ser con concentraciones de azúcares elevados, hasta el 10%, debido a que estos microorganismos no son sensibles a la presión osmótica elevada; creciendo muy lentamente de 5 a 7 días, y resistiendo condiciones de acidez relativamente altas (pH entre 2-9, óptimo pH: 5-6). (Moreno, 2000). La glucosa es una fuente de carbono aprovechada por muchos hongos, también pueden utilizar compuestos de carbono orgánico complejos como el almidón y la celulosa. De igual forma, aprovechan fuentes de nitrógeno inorgánico como sales de amonio y nitratos y emplean además sustratos con nitrógeno inorgánico y carbono, como por ejemplo el extracto de levadura y peptona. (Pelczar y Reid, 1996).

### 2.1.2.4.1 Requerimientos nutricionales de hongos filamentosos.

Según Kendrick, 2000, una de las principales características de los hongos es su inhabilidad de utilizar el carbono inorgánicos. Algunas fuentes de energía para algunos hongos se muestran en la tabla 1.

Tabla 1. Fuentes de energía para hongos filamentosos

Compuestos	Macronutrientes	Micronutrientes
Glucosa	Potasio	Hierro
Nitrógeno	Fósforo	Cobre
Vitaminas	Azufre	Manganeso
Fructosa	Magnesio	Zinc
Galactosa	Calcio	Molibdeno

Fuente: Kendrick, 2000

### 2.1.2.5 Hongos patógenos.

#### 2.1.2.5.1 Rizhooctonia

La especie *Rizhooctonia solani*, fue definida por Candolle (1815), sobre la base de la producción de esclerocios de textura uniforme con hilos hifales emanantes de estos, y la asociación del micelio con raíces de plantas vivas. (Sneh, et al., 1991). Es la especie más conocida dentro del género *Rhizooctonia* spp. Originalmente fue descrito en 1858 (Barnett y Hunter, 1982).

*Rhizooctonia Solani* pertenece a la clase *Hyphomycetes*, en la fase asexual y se caracteriza porque no produce conidios en condiciones naturales ni en medio de cultivo, por lo que las características del micelio son básicas para su identificación (Machín, 1991). Solo ocasionalmente produce esporas sexuales conocidas como basidiosporas, lo cual ubica a *T. cucumeris* en la Clase *Basidiomycetes* (Torres, 2002), ubicada actualmente como el phylum *Basidiomycota*.

En la naturaleza se reproduce asexualmente y se encuentra en forma de micelio vegetativo y/o esclerocios (Agris, 2004). Macroscópicamente las colonias jóvenes de *Rhizoctonia solani* se caracterizan por ser incoloras, algodonosas y planas, aunque dependiendo de la especie, pueden llegar a tornarse cremosas o amarillentas. Al producirse la maduración, la colonia toma una coloración marrón (Ceresini et al., 1999).

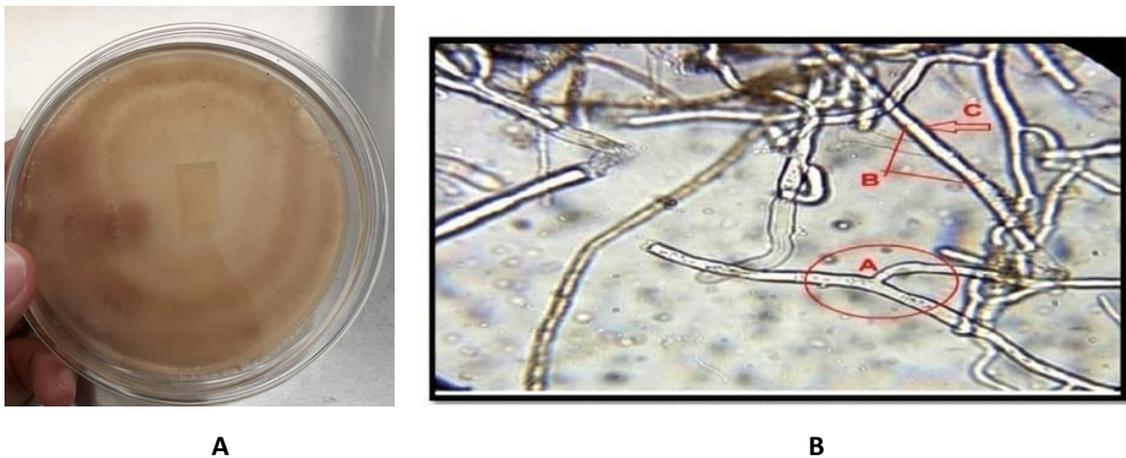


Figura 2: 2A Características macroscópicas de *Rhizoctonia solani* Fuente propia

2B. Características morfológicas de *Rhizoctonia solani* al microscopio óptico Hifas ramificadas (A) Tabique (B) Hifas principales (C)

Fuente: Abdel M, 2017,

### 2.1.2.5.2 Fusarium

Es un género cosmopolita con cerca de 80 especies identificadas. Sus cepas pueden ser saprofitos o fitopatógenos y, homotalicos o heterotalicos (sexual o asexual). *Fusarium spp.*, es fitopatógeno para una amplia gama de hospederos (Leslie y Summerell, 2006).

Según su morfología macroscópica, el micelio aéreo es de escaso a abundante, la pigmentación puede ser blanca, crema o púrpura. Microscópicamente, el micelio es septado y los macroconidios, microconidios y clamidosporas son las estructuras asexuales de reproducción. Los macroconidios son las esporas primarias en la identificación del género. Estas estructuras no se conservan durante el cultivo in vitro y pudieran no estar presentes en algunas especies (Summerell et al., 2003).

Aunado a esto, la observación de macroconidios debe ser cuidadosa ya que algunos Coelomycetes presentan estructuras parecidas (FAO, 2014). Los microconidios no son producidos por todas las especies (Summerell et al., 2013).

Las clamidosporas son el estado morfológico por el cual los hongos del género pueden permanecer por periodos prolongados en suelo y otros ambientes como saprofitos (Leslie y Summerell, 2006).

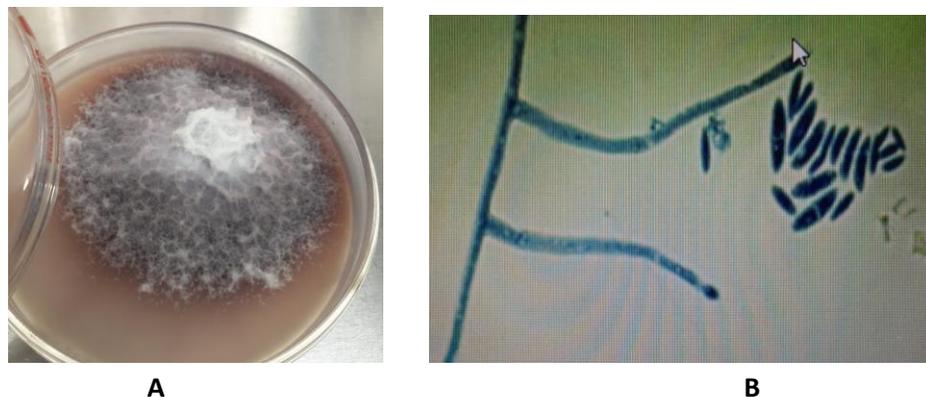


Figura 3: 3A. Características macroscópicas de *Fusarium spp.* Fuente propia

2B. Características morfológicas de *Fusarium solani*.

Fuente: Universidad de Adelaide, 2006

### **2.1.2.6 Hongos benéficos para control biológico**

En la actualidad las investigaciones reportan un número representativo de hongos filamentosos que ostentan efectos antagónicos, situación que es aprovechada como una opción de control biológico para los patógenos de frutas y vegetales. Los géneros de hongos más empleados para este fin son: *Gliocladium* y *Trichoderma*, siendo este último el más usado al momento de controlar los patógenos del suelo; siendo el efecto principal del género el hiperparasitismo, sin embargo, con la finalidad de incrementar su acción, en algunas especies y cepas pueden producir metabolitos bio-activos e incluso ser empleados para el control de nematodos. (Cong et al., 2019)

Existe una interacción incesante entre los patógenos potenciales y sus antagonistas, favoreciendo que en la mayoría de veces en el mundo biológico no se desarrolle la enfermedad, ya que en condiciones naturales los microorganismos están en un equilibrio dinámico en la superficie de las plantas. (Hancock J, 2008)

#### **2.1.2.6.1 Mecanismo de acción**

Hay varios mecanismos de acción por parte de los antagonistas para inspeccionar el desarrollo de los patógenos del suelo, entre los que se pueden detallar los siguientes: competencia por espacio o por nutrientes, interacciones directas con el patógeno e inducción de resistencia. (Narayanasamy, 2013).



Figura 4. Mecanismo de acción de competencia por nutrientes por parte de *Botrytis cinerea* en fruto de zarzamora.

Fuente: Terrones, 2019.



#### 2.1.2.6.1.1 Competencia por nutrientes.

*Botrytis cinérea* es uno de los hongos de post cosecha que más depende los nutrientes, debido a su denominación necrotrófica, las esporas demandan de nutrimentos para germinar y comenzar su desarrollo antes de penetrar al sustrato; estos sustratos se encuentran en las heridas de las frutas y es allí donde la competencia microbiana actúa e inhibe el desarrollo del patógeno. (Narayanasamy, 2013).

#### 2.1.2.6.1.2 Competencia por espacio.

Las levaduras son eficaces colonizadores de la superficie de las plantas, destacando la producción de materiales extracelulares que restringen el espacio para la colonización por otros microorganismos. (Narayanasamy, 2013).

#### 2.1.2.6.1.3 Interacción directa con el patógeno.

El tipo más común es el parasitismo, definido como la acción de un microorganismo parasitando a otro conocido como simbiosis antagónica entre organismos, convirtiendo al patógeno en alimento para su antagonista. (Narayanasamy, 2013).

#### **2.1.2.6.2 Trichoderma spp.**

Se encuentra entre los hongos de biocontrol que han sido probados contra hongos que causan pudrición de la raíz principalmente, debido a que tienen una amplia capacidad para sobrevivir bajo un rango de temperaturas, comunidades de microorganismos y tipos de suelo caracterizado por ser saprofito parasito. Las especies con mayor potencial para suprimir hongos importantes que causan pudrición como *B. cinérea* destaca: *Trichoderma hamatum*, *viride* y *koningi*. (Bustamante, 2015)

Este género puede suprimir los patógenos del suelo a través de mecanismos de acción como la antibiosis a través de la producción de metabolitos fungitoxicos como: trichodermina, giotoxina, viridina y otros. Además, *Trichoderma spp* produce enzimas como celulosa, proteasa y quitinasa que provocan la resistencia del huésped y disminuye la liberación de exudados de las raíces de las plantas. (Quinche, 2009)

Inicialmente las colonias de *Trichoderma* presentan coloraciones blanquecinas y con el tiempo se torna a color verde oscuro, con esporulación densa. Los conidios cercioran las descendencias del hongo durante la mayor parte de la etapa vegetativade las plantas (Caporale, et al., 2019)

Las especies de *Trichoderma* se caracterizan por tener un crecimiento micelial rápido y abundante producción de esporas que colaboran a la colonización de diversos sustratos y del suelo.

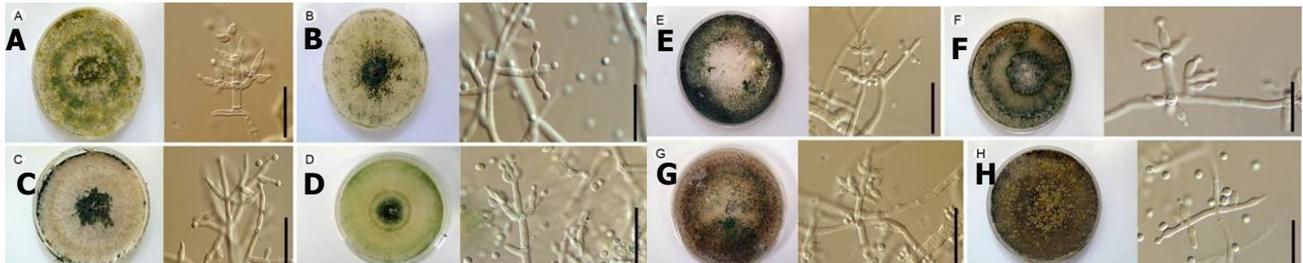


Figura 5. : Especies de *Trichoderma* Pers. 5A. *Trichoderma asperellum*, 5B. *Trichoderma atroviride*, 5C. *Trichoderma aureoviride*, 5D. *Trichoderma citrinovire*, 5E. *Trichoderma harzianum*, 5F. *Trichoderma koningii*, 5G. *Trichoderma koningiopsis*, 5H. *Trichoderma longibrachiatum*.

Fuente: *Samuels, Lieckf. & Nirenberg; Bissett; C; Samuels, Carm. Suárez & H.C. Evans; H; Bissett; J.*

### 2.1.2.7 Tomate

*Solanum lycopersicum* pertenece a la familia Solanaceae. Es una planta dicotiledónea (Cestoni et al. 2006) y herbácea perenne, que se cultiva en forma anual para el consumo de sus frutos (Semillaria 2015).

Tabla 2.Ficha taxonómica de *Solanum lycopersicum*

Reino	Plantae
División	Magnoliophyta
Clase	Magnoliopsida
Subclase	Asteridae
Orden	Solanales
Familia	Solanaceae
Género	<i>Solanum</i>
Subgénero	Potatoe
Sección	Petota

### **2.1.2.7.1** Condiciones agroecológicas del

#### **2.1.2.7.1.1. Temperatura**

La temperatura óptima para un buen desarrollo del cultivo oscila entre 20°C y 30°C durante el día y entre 10°C y 17°C durante la noche. Temperaturas superiores a los 30°C reducen la fructificación y la fecundación de los óvulos, afectan el desarrollo de los frutos y disminuyen el crecimiento y la biomasa de la planta. Las plantas de tomate tienen un mejor desarrollo con temperaturas de entre 18°C y 24°C (Díaz, 2007).

Temperaturas diurnas inferiores a 12-15 °C pueden dar inicio a problemas en el desarrollo de la planta, mientras que temperaturas diurnas superiores a 30 °C e inferiores a 12 °C afectan lo que es la fecundación (Díaz, 2007).

#### **2.1.2.7.1.2 Humedad relativa**

La humedad relativa (HR) óptima, que se ubica entre 60 % y 80 %, favorece el desarrollo normal de la polinización y garantiza una buena producción. El exceso o déficit de HR produce desórdenes fisiológicos y favorece la presencia de enfermedades. Una humedad relativa superior al 80 % favorece la permanencia de enfermedades aéreas, el agrietamiento del fruto y dificulta la fecundación, ya que el polen se humedece y hay aborto floral. Una alta humedad relativa y una baja iluminación reducen la viabilidad del polen y pueden limitar la evapotranspiración, disminuir la absorción del agua y los nutrientes, generar déficit de elementos como el calcio e inducir desórdenes fisiológicos. Una humedad relativa menor al 60 % dificulta la polinización (Infoagro Systems S.L. 2016).

#### **2.1.2.7.1.3 Luminosidad**

Cuando la luminosidad es reducida, ello puede afectar en forma negativa los procesos de floración, fecundación y desarrollo vegetativo de la planta. Durante los periodos críticos del desarrollo vegetativo de la planta la interrelación entre la

temperatura diurna, nocturna y la luminosidad es fundamental (Infoagro Systems S.L. 2016). Por tal motivo se recomienda no cultivar tomate en sitios que permanecen nublados, ya que los rendimientos disminuyen considerablemente (INTA 2014).

#### **2.1.2.7.2 Variedades de tomate.**

Las variedades de tomate pueden ser determinadas o indeterminadas a partir de su hábito de crecimiento. Las variedades de hábito determinado son de tipo arbustivo, de porte bajo compactas y su producción de frutos se concentra en un periodo relativamente corto. Las plantas crecen, florecen y fructifican en etapas bien definidas; poseen inflorescencias apicales. Las variedades de tomate usadas en la industria por lo general son de hábito determinado, es decir, con frutos en forma de pera, ovalados, acorazonados o en forma de cilindro. Los de hábito indeterminado tienen inflorescencia lateral y su crecimiento vegetal es continuo. La floración, fructificación y cosecha se extienden por periodos muy largos. Las variedades de tomate para mesa y los tomatillos (cherry) tienen por lo general hábito indeterminado y las plantas necesitan de tutores que conduzcan su crecimiento (CATIE, 1990).

#### **2.1.2.8 Plagas**

Según Gómez (2000) el nombre de "plaga" se designaba inicialmente a la proliferación de estos animales perjudiciales, generalmente insectos, que periódicamente arrasaban con los cultivos y plantaciones.

Pero no sólo la acción de estas plagas ha sido causa de problemas en los rendimientos agrícolas, las cosechas y la supervivencia misma de las plantaciones están expuestas a la acción. Insecto atacando un cultivo agrícola del entorno, tanto biótico como abiótico (Romero, 2004).

Hasta el presente, de toda la fauna identificada mundialmente cerca del 60 % son insectos. El número de especies de insectos y microorganismos no identificados es de cientos de millones y de éstos, solo unos pocos cientos son considerados plagas

(Benbrook et al., 1996).

Se ha hecho un estimado que 67 000 especies de organismos nocivos atacan los cultivos agrícolas en diferentes partes del mundo. En general, solamente 5 % de éstos, son considerados como plagas principales (Pimentel, 1993).



Figura 6. Moho gris en plantas de tomate

Fuente: FAO, 2011

### **2.1.2.9 Medios de cultivo**

Un medio de cultivo es un conjunto de nutrientes, factores de crecimiento y otros componentes que crean las condiciones necesarias para el desarrollo de los microorganismos. La diversidad metabólica de estos es tan grande que la variedad de medios de cultivo es enorme, no existiendo un medio de cultivo universal adecuado para todos ellos, ni siquiera refiriéndonos a las bacterias con exclusividad. (Manual de medios de cultivo, 2018)

Tabla 3. Tipos de medios de cultivo

<b>Medios generales</b>	<b>Son aquellos que permiten el crecimiento de una gran variedad de microorganismos.</b>
<b>Medios de enriquecimiento</b>	Son aquellos que favorecen el crecimiento de un determinado tipo de microorganismo sin llegar a inhibir totalmente el crecimiento de los demás.
<b>Medios selectivos</b>	Son aquellos que permiten el crecimiento de un tipo de microorganismos determinado, inhibiendo el desarrollo de los demás.

---

**Medios  
diferenciales**

Son aquellos en los que se pone de manifiesto propiedades que un determinado tipo de microorganismos posee.

---

## 2.1.2.10 Tipos de sembrado en placa

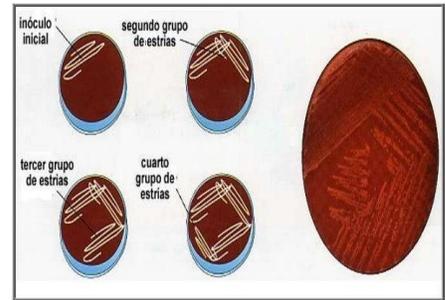
### 2.1.2.10.1 Siembra

Sembrar o inocular es introducir artificialmente una porción de muestra (inóculo) en un medio adecuado, con el fin de iniciar un cultivo microbiano. Para sembrar en microbiología es necesario mantener la habitación sin corrientes de aire y estar al lado de la llama de un mechero (no más de 15 cm. de distancia). También se puede trabajar bajo campana, o en flujo laminar, previa esterilización con luz UV.

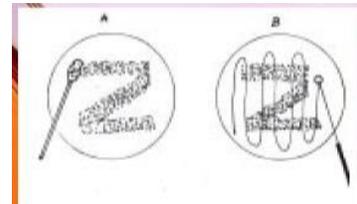
Tabla 4. Tipos de siembra

Tipo de siembra	Procedimiento	Imagen
Siembra por inmersión	Se coloca el inóculo en una placa o caja de Petri y sobre el mismo se vierte el medio de cultivo previamente fundido. Este método se utiliza para microorganismos aerobios.	
Siembra en doble capa	Se procede de la misma manera que por inmersión. Una vez solidificado el medio se vierte una cantidad extra de medio necesaria para cubrir la capa anterior (generalmente 10 ml. aprox.). Este método se utiliza para microorganismos anaerobios facultativos y microaerófilos.	
Siembra en superficie	se vierte sobre una placa de Petri el medio de cultivo fundido, se deja solidificar y se coloca sobre la superficie el inóculo. Con ayuda de una espátula de Drigalsky se extiende el inóculo hasta su absorción total por el medio de cultivo. Este tipo de siembra se recomienda para microorganismos aerobios estrictos.	

Siembra en estría      Se vierte sobre una placa de Petri el medio de cultivo fundido y se deja solidificar.



Siembra volumétrica      Este método de siembra consiste en sembrar una muestra líquida cuyo volumen no puede ser predeterminado, en medio de cultivo sólidos o líquidos

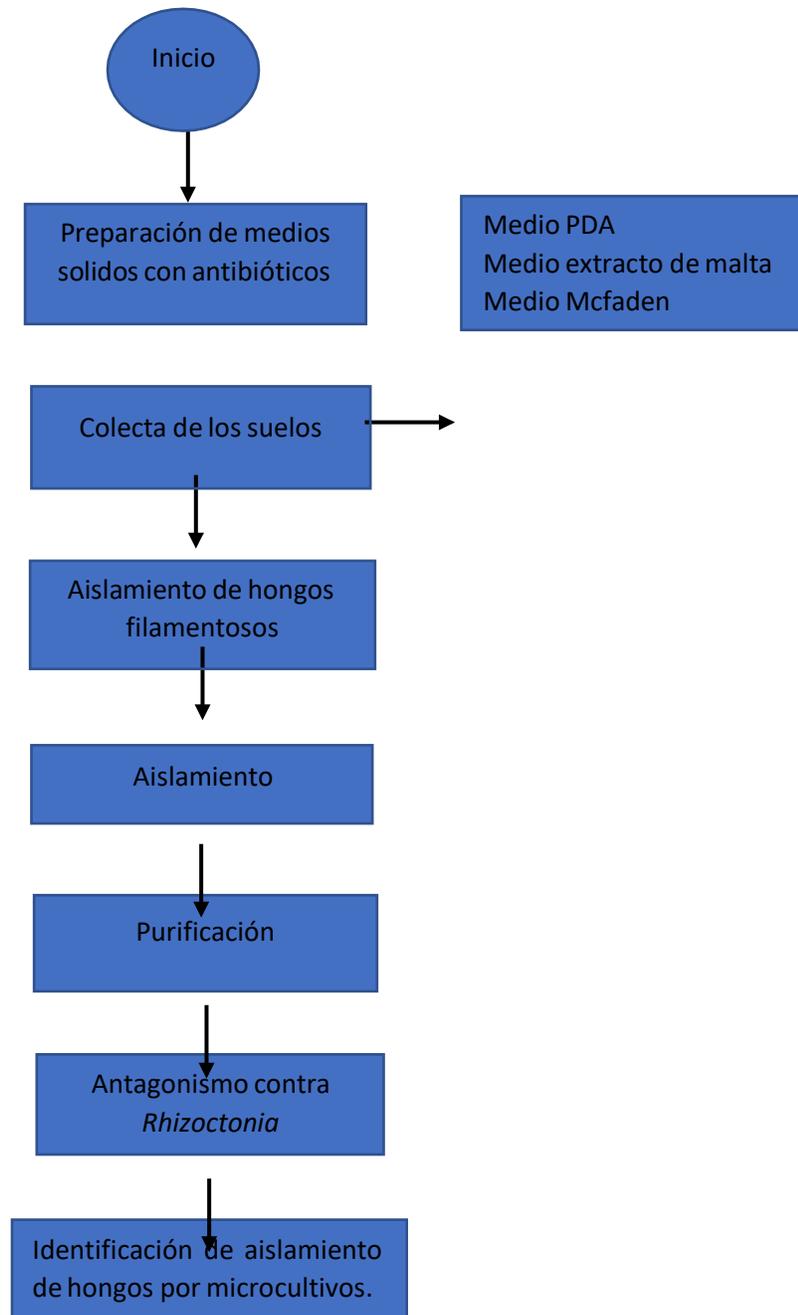


# **Capítulo III**

## **Desarrollo y metodología**

### 3.1 Procedimiento y descripción de las actividades realizadas.

#### 3.1.1 Diagrama de proceso



### **3.1.2 Equipos y materiales empleados durante la investigación**

Autoclave

Balanza analítica

Gabinete de seguridad biológica

Cajas Petri

Matraz Erlenmeyer 500ml

Lámparas de alcohol

Potenciómetro

Micropipeta de 1000µl y 100µl

Antibióticos:

Cloranfenicol

Ácido nalodixídico

Estreptomina.

### **3.1.3 Medios cultivo para aislamiento de hongos filamentosos.**

#### **3.1.3.1 Medio Agar papa dextrosa (PDA)**

Para la preparación de un litro de medio sólido de PDA, se pesó en una balanza analítica 39 gr de PDA, y se adiciono a un matraz Erlenmeyer con 1000ml de agua destilada, se midió el pH a 5.5, en caso de no tener la concentración, se colocó en el medio líquido por medio de pequeñas gotas NaOH al 0.1 N hasta obtener el pH requerido. Una vez obteniendo el pH deseado, se esterilizó en autoclave (Tuttnaver) a una temperatura de 121°C durante 15 minutos. Al concluir el tiempo de esterilización, el medio de cultivo se dejó enfriar en el gabinete de seguridad biológica (LABCONCO) previamente sanitizada, en medio de 2 lámparas de alcohol las cuales sirvieron para generar un área estéril, se adiciono al matraz con el medio de cultivo 250 µl de estreptomina, 7500 µl de cloranfenicol y 1000µl de ácido

nalidixico, agitándolo para su homogeneización; se vertió en cajas Petri previamente esterilizadas, y se dejó solidificar el medio a temperatura ambiente, todo dentro del gabinete de seguridad biológica (LABCONCO), para posteriormente se resguardaron en bolsas de poli papel hasta su uso. (Manual de medios de cultivo, 2018)

### 3.1.3.2 Medio extracto de malta (Medio selectivo para Trichoderma)

Para la preparación del medio se pesó en una balanza analítica 20 gr de extracto de malta, 0.017gr de rosa de bengala y 15gr de agar bacteriológico. Llevándolo a esterilización en autoclave (Tuttnaver) el medio a una temperatura de 121°C durante 15 min. Al concluir el tiempo de esterilización, se dejó enfriar el medio líquido a temperatura ambiente y posteriormente se colocó en gabinete de seguridad biológica (LABCONCO) previamente sanitizada, en medio de 2 lámparas de alcohol las cuales sirvieron para generar un área estéril, se adiciono al matraz con el medio 250 µl de estreptomicina, 7500µl de cloranfenicol y 1000µl de ácido nalidixico, agitándolo, y una vez conteniendo los 3 antibióticos se vertió en cajas Petri previamente esterilizadas, y se dejó solidificar el medio a temperatura ambiente, para posteriormente se resguardaron en bolsas de poli papel hasta su uso. (Manual de medios de cultivo, 2018)

### 3.1.3.3 Medio McFadden (Medio selectivo para Trichoderma)

Pesar en la balanza analítica 0.5gr de sulfato de magnesio, 5gr de peptona, 10gr de glucosa, 15gr de agar bacteriológico y 0.017gr de rosa de bengala. Llevándolo a esterilización en autoclave (Tuttnaver) el medio a una temperatura de 121°C durante 15 min. Al concluir el tiempo de esterilización, se enfrió el medio líquido a temperatura ambiente y posteriormente se colocó en el gabinete de seguridad biológica (LABCONCO) previamente sanitizada, en medio de 2 lámparas de alcohol las cuales sirvieron para generar un área estéril, se adiciono al matraz con el medio 250µl de estreptomicina, 7500µl de cloranfenicol y 1000µl de ácido nalidixico, agitándolo, y una vez que el medio liquido tenia los 3 antibióticos, se vertió en cajas Petri previamente esterilizadas, y se dejó solidificar el medio a temperatura

ambiente, para posteriormente se resguardaron en bolsas de poli papel hasta su uso. (Manual de medios de cultivo, 2018)

### **3.1.4 Recolección de suelo**

Se realizó la recolección del suelo fértil en el municipio de Chignautla, Puebla, posteriormente se cavó un hoyo con una profundidad de 40 cm, colocando la muestra de suelo en una bolsa con cierre hermético, una vez recolectada la muestra se resguardo en refrigeración a una temperatura 4 °C hasta su utilización.

### **3.1.5 Aislamiento de hongos filamentosos**

#### **3.1.5.1 Lavado de la muestra**

Dentro del gabinete de seguridad biológica (LABCONCO) y con un ambiente estéril, se pesó en una balanza digital 10 gr del suelo, se adicono en un matraz erlenmeyer que contenía 100 ml de agua previamente esterilizada, con la ayuda de una barra magnética estéril y se colocó en una parrilla de agitación durante una hora.



Figura 7. Preparación de la muestra

Fuente propia.

#### **3.1.5.2 Técnica de dilución en placa.**

Esta técnica se utilizó para cuantificar los microorganismos en placa de cultivo realizando diluciones del suelo. Por consiguiente, se obtuvo un estimado de la población viable cultivable en medios de cultivos.

### 3.1.5.2.1 Aislamiento en medios selectivos

Una vez transcurrido el tiempo determinado, se realizó el aislamiento a través del método de diluciones seriadas el cual consistió en la preparación de tubos de ensayo con rosca, los cuales contenían 9 ml de agua y se llevaron esterilización en la autoclave (Tuttnaver), para posteriormente colocarlos en una gradilla de tubos de ensayo y se dejaron enfriar, una vez enfriado los tubos con la ayuda de una pipeta se tomó 1 ml de la muestra del suelo diluida en el matraz, adicionándolo a un tubo de ensayo el cual sería la dilución -1, se cerró y se agito en el vortex (THERMOLYNE), una vez agitado se tomó 1 ml del tubo de ensayo que fue agitado y se depositó en un segundo tubo de ensayo, se tapó y se agito en el vortex (THERMOLYNE), siendo la dilución -2, todo este procedimiento se repitió hasta la dilución -9. El método utilizado para las diluciones decimales se encuentra en el manual de Valdés (1980) citado por Luna- Vega, A., et al. (2019)



Figura 8. Método de diluciones decimales

Fuente propia

### **3.1.6 Aislamiento**

Dentro del gabinete de seguridad biológica (LABCONCO) y en medio de dos lámparas de alcohol se tomó muestra de los tubos de ensayo con las diluciones -4, -5 y -6, para ello con la ayuda de una micropipeta se tomó 500µl de la dilución -4 y se añadió a la caja Petri con el medio PDA, otros 500µl al medio extracto de malta y por ultimo 500µl al medio solido Mcfaden y con ayuda de un asa "L" previamente esterilizada se esparció la primera muestra y entre cada cambio de muestra se colocó dentro de un vaso de precipitado con alcohol y se pasó en la llama de la lámpara de alcohol y se dejó enfriar antes de esparcir en la otra caja Petri, el procedimiento se repitió con las 3 diluciones y por duplicado. Se dejaron enfriar las cajas Petri con las muestras, se rotularon y se resguardaron en bolsas de polipapel, esperando al crecimiento de microorganismos en los medios.

### **3.1.7 Purificación**

Transcurrido los días, se verifico si hubo crecimiento de microorganismos, al presentarse dicho crecimiento se identificó cuantas colonias había en las cajas Petri. Y para poder purificar los hongos, primero se preparó nuevamente medio de PDA, siguiendo el proceso ya mencionado anteriormente, y una vez vertido el medio liquido en las cajas Petri esterilizadas previamente, se dejaron solidificar en el gabinete de seguridad biológica (LABCONCO). Una vez transcurrido el tiempo y solidificado el medio se prosiguió a la toma de muestra de las diferentes colonias, para ello, se colocó 2 lámparas de alcohol, y se quitó el flujo de aire del gabinete de seguridad biológica (LABCONCO) para evitar que las esporas de los diferentes hongos contaminaran la nueva placa con el medio PDA, con la ayuda de un cutter, primero pasándolo por alcohol y después por la llama de la lámpara de alcohol para así asegurar su esterilización, se realizó un corte (cuadrado) al aislamiento identificado, el cual se posiciono en el centro de la placa con medio solido de PDA, de tal manera que las esporas tocaran el medio, dicho procedimiento se llevó a cabo

con cada una de los aislamientos. Seguidamente se procedió a resguardar las cepas nuevas introduciéndolas a una estufa de cultivo (ECOSHEL), a una temperatura de 28°C, y se esperó hasta su crecimiento, el cual fue alrededor de 3 días.

Se realizó el mismo procedimiento anteriormente mencionado, para el patógeno *Rhizoctonia solani*.



Figura 9. Selección de hongos filamentosos para purificar.

Fuente propia.

### **3.1.8 Antagonismo contra *Rhizoctonia solani***

Para llevar a cabo el antagonismo se preparó nuevamente medio solido de PDA en cajas Petri, se dividió por la mitad la placa con el medio, esto con el fin de colocar una muestra del patógeno (*Rhizoctonia*) en un extremo y el hongo filamentosos aislado, para ello dentro del gabinete de seguridad biológica (LABCONCO) se llevó a cabo todo el procedimiento, primero con la ayuda de un cutter pasándolo por alcohol y después por la llama de la lámpara de alcohol, esto para asegurar su esterilización, se realizó un corte al aislamiento ya purificado, posicionándolo en el centro de un extremo de la placa con medio solido de PDA, de tal manera que las esporas tocan el medio, repitiendo dicho proceso con el patógeno, y así resguardarlos para esperar el crecimiento de ambos hongos. Durante los 6 días transcurridos se hicieron mediciones del crecimiento de los hongos y de la distancia entre cada uno.

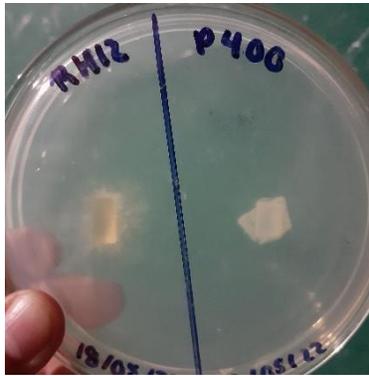


Figura 10. Antagonismo en placa contra *Rhizoctonia solani*

### 3.1.9 Técnica de microcultivo

Se cortó un pequeño bloque de agar papa dextrosa (PDA) previamente vertido en una caja de Petri, esto con la ayuda de un cutter. Sobre una segunda caja Petri se colocó un papel filtro y dos palitos cortados de un tamaño el cual encajara en la caja y sobre los mismos se colocó un portaobjetos, para posteriormente llevarlo a esterilización en autoclave (Tuttnaver) a una temperatura de 121°C durante 15 minutos. Después con ayuda del cutter se colocó el bloque de PDA en la superficie de los extremos del portaobjeto, con una aguja estéril se removi6 porciones pequeñas del aislamiento de los hongos y se inoculo en el bloque de PDA. Luego de la inoculación, se coloca un cubreobjetos estéril sobre la superficie del agar, y se dejó durante 3 días resguardados para esperar su crecimiento. Una vez que hubo crecimiento por debajo de la superficie del cubreobjetos, se retiró cuidadosamente este con unas pinzas estériles colocándolo sobre un portaobjetos con azul de metileno, el cual se observó en un microscopio digital (Quasar Qm10 Starter).

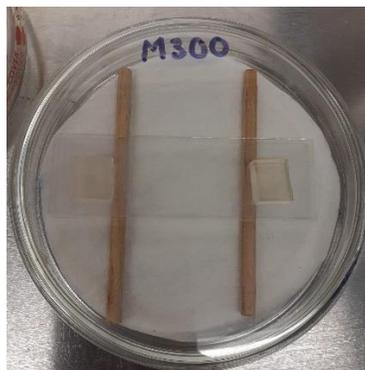


Figura 11. Técnica de microcultivo

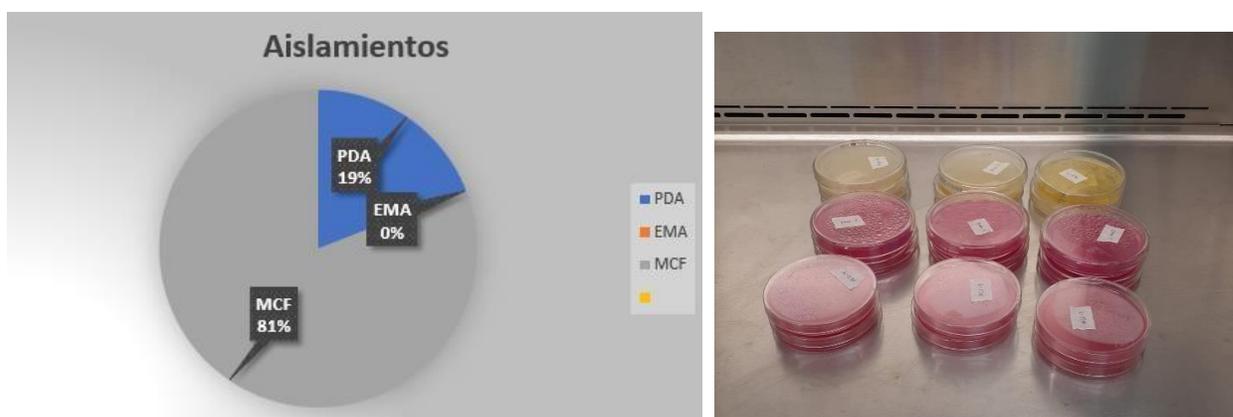
# **Capítulo IV**

## **Resultados**

## 4.1 Resultados y discusión

De acuerdo al número de aislados obtenidos por cada medio de cultivo podemos determinar que el medio PDA (Agar papa dextrosa) y MCF (McFadden) presentaron el número de aislamientos más alto de los 3, obteniendo un total de 21 aislamientos de hongos filamentosos correspondientes, mientras que del medio EMA (Extracto de malta) no hubo proliferación alguna.

Figura 12 . Aislamientos obtenidos.



Fuente propia

Como resultado de la purificación se seleccionó un total de 12 aislamientos, esto debido a la semejanza de manera macroscópica que presentaba un aislamiento con otro, dejando así 9 aislamientos fuera de observación.

En las siguientes tablas se muestra el crecimiento circunferencial y el antagonismo tomando 3 aislamientos de hongos filamentosos, los cuales fueron en las que mejor se pudo presenciar dicho antagonismo contra *Rhizoctonia solani*, las mediciones se registraron durante 5 días después de la siembra en placas de ambos hongos.

Tabla 5. Prueba de antagonismo en placa de agar (Día 1)

<b>Placa</b>	<b>Circunferencia radial de hongo filamentoso</b>	<b>Circunferencia radial de Rhizoctonia</b>	<b>Antagonismo de</b>
P360	1.47cm	1.05cm	1cm*
I750	0.85cm	1.32cm	1cm*
D800	1.6cm	0.77cm	1.1cm*

Fuente propia

Tabla 6 Prueba de antagonismo en placa de agar (Día 2)

<b>Placa</b>	<b>Circunferencia radial de hongo filamentoso</b>	<b>Circunferencia radial de Rhizoctonia</b>	<b>Antagonismo de</b>
P360	2.4cm	1.35cm	2.4cm*
I750	2.45cm	1.47cm	2.45cm*
D800	2cm	1.57cm	2cm*

Fuente propia

Tabla 7. Prueba de antagonismo en placa de agar (Día 3)

<b>Placa</b>	<b>Circunferencia radial de hongo filamentoso</b>	<b>Circunferencia radial de Rhizoctonia</b>	<b>Antagonismo de</b>
P360	2.7cm	1.62cm	2.7cm*
I750	2.67cm	1.52cm	2.67cm*
D800	2.63cm	1.9cm	2.63cm*

Fuente propia

Tabla 8. Prueba de antagonismo en placa de agar (Día 4)

<b>Placa</b>	<b>Circunferencia radial de hongo filamentoso</b>	<b>Circunferencia radial de Rhizoctonia</b>	<b>Antagonismo de</b>
--------------	---	---	-----------------------

P360	3.15cm	1.65cm	3.15cm*
I750	2.77cm	1.62cm	2.77cm*
D800	2.72cm	2.1cm	2.72cm*

Fuente propia

Tabla 9. Prueba de antagonismo en placa de agar (Día 5)

Placa	Circunferencia radial de hongo filamentoso	Circunferencia radial de Rhizoctonia	Antagonismo de
P360	3.45cm	1.65cm	3.45cm*
I750	2.77cm	1.62cm	2.77cm*
D800	3.3cm	2.1cm	3.3cm*

Fuente propia

\*Aislamientos que pasaron por encima sin dejar crecer al patógeno (*Rhizoctonia solani*)

Mostrando un rápido crecimiento por parte de los aislamientos P360 de 1.47cm en el primer día alcanzo a medir 3.45cm al quinto día, por otro lado I750 el primer día fue de 0.85cm concluyendo en el quinto día con un radio de 2.77cm, mientras que *Rhizoctonia solani* crecía a un ritmo un poco menos apresurado, permitiendo así la confirmación del antagonismo de los 3 aislamientos contra *Rhizoctonia solani*, esto se puede observar mediante la formación de halos de inhibición generados por los aislamientos (Figura 13A -C).

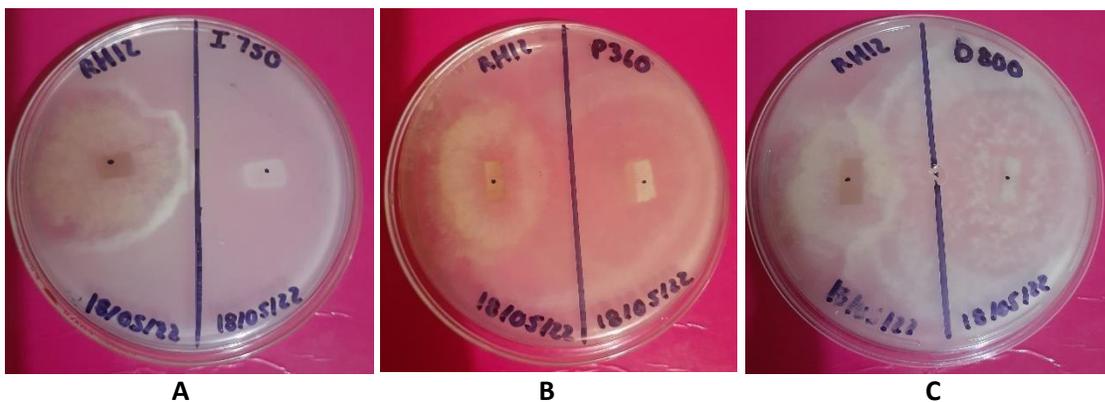


Figura 13. A- C. Antagonismo contra *Rhizoctonia Solani* reverso de la placa.

En la Figura 14: A- C se presenta el antagonismo de aislamiento de los hongos filamentosos contra *Rhizoctonia solani*, evidentemente se aprecia como cada aislamiento no deja proliferar al patógeno y pasa sobre este, creando así un antagonismo de manera exitosa y deseada.

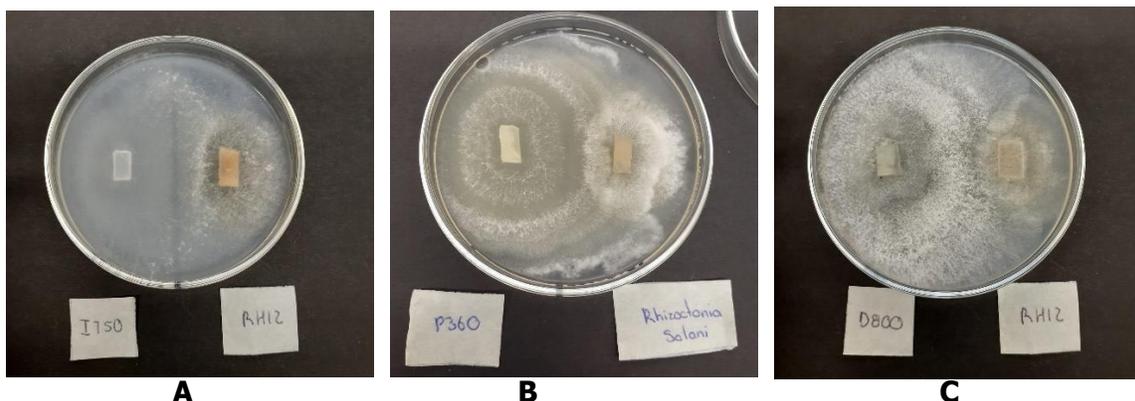


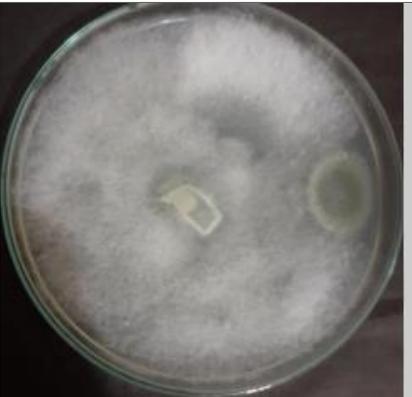
Figura 14. A- C. Antagonismo contra *Rhizoctonia Solani* anverso de la placa.

En la tabla 10 se presentan algunas imágenes y la descripción de aislamientos, donde se tuvo en cuenta las características macroscópicas. (Guzmán, 1997).

Tabla 10. Descripción macroscópica de aislamientos.

Aislamiento	Descripción	Imagen
<b>M300</b>	Aislamiento de crecimiento moderado, de forma irregular, con superficie apenas elevada, de margen entero. Presenta una textura aterciopelada algodonosa. De color crema suave.	

<b>I750</b>	Aislamiento de crecimiento rápido, de superficie plana y margen entero. Presentando una textura aterciopelada, y un crecimiento invasivo.	
-------------	---	--

<b>A150</b>	Aislamiento de crecimiento rápido, de forma circular, presenta una textura algodonosa, apenas elevada con un margen entero.	
<b>P360</b>	Aislamiento de crecimiento rápido y forma circular, presenta una textura aterciopelada apenas algodonosa y elevada, con un margen entero y un crecimiento invasivo. Con tonalidad blanca en los primeros días para posteriormente tornarse verde.	
<b>D800</b>	Aislamiento de crecimiento rápido e invasivo, de forma circular, con textura granulosa apenas elevada, con margen entero, y una coloración que va de blanco a verde.	

En la tabla 11 se presentan algunas imágenes y microfotografías observadas en un microscopio digital (Quasar Qm10 Starter) con aumento de 40X de aislamientos de hongos. Teniendo en cuenta las características macroscópicas y microscópicas.



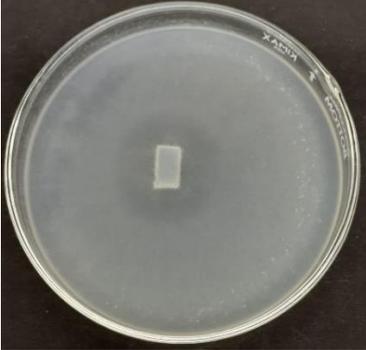
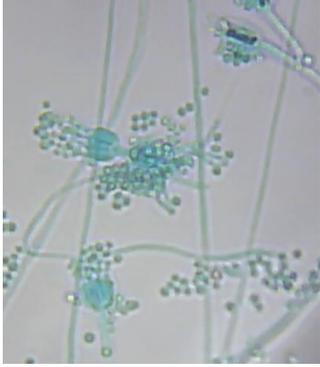
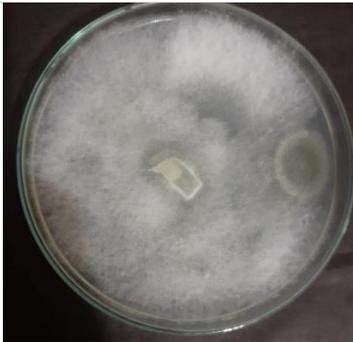
<p>Aislamiento: I750          Temperatura ambiente          Posible <i>Penicillium</i> sp.</p>		
<p>Aislamiento: D800          Temperatura ambiente          Posible <i>Trichoderma</i> sp.</p>		
<p>Aislamiento: A150          Temperatura ambiente          Otro</p>		
<p>Aislamiento: P360          Temperatura ambiente          Otro</p>		

Tabla 11. Ejemplos de los diversos hongos filamentosos aislados.

De acuerdo a sus características morfológicas macro y microscópicas la clasificación se llevó a cabo por las estructuras y el color de las colonias para el género de

Trichoderma spp, el aislamiento D800 por las características observadas durante su fase de crecimiento y siendo observadas al microscopio puede ser un posible Trichoderma harzianum, por la presencia de una mezcla de coloración blanquecina y verdosa, y microscópicamente se observa una estructura muy similar a la de una cepa de Trichoderma ya identificada, pero para la identificación de estas cepas se necesitan técnicas más afondo como lo son claves taxonómicas, secuenciación de DNA para la determinación de especie. Por lo que solo se reportan como algún tipo de Trichoderma.

# **Capítulo V**

## **Conclusiones**

## **5.1 Conclusiones del proyecto**

El presente estudio permitió la selección de aislamiento de hongos filamentosos utilizando diferentes medios selectivos, donde se obtuvo un total de 21 aislamientos los cuales después de un proceso de purificación fueron seleccionados 12, esto debido a la semejanza de manera macroscópica que presentaban algunos aislamientos entre ellos, para finalmente a partir de la prueba de antagonismo en placa de agar, llevando a cabo durante 5 días un registro de crecimiento de circunferencia radial del hongo filamentosos, la circunferencia radial de *Rhizoctonia solani* al igual que el antagonismo presentado, se obtuvo 5 aislamientos los cuales mostraron ser capaces de servir como antagonistas contra el hongo patógeno *Rhizoctonia Solani*, en caso del aislamiento D800 presentó características macro y microscópicas semejantes a la especie de género *Trichoderma* spp, el cual ha sido muy estudiado dejando varios antecedentes de proyectos realizados y comprobados, pero para poder una identificación de este aislamiento y saber en qué especie entra se necesitan técnicas más afondo para su determinación, mientras que por otro lado el aislamiento I750 muestra ser un posible *Penicillium* spp, esto debido a las características macro y microscópicas observadas. Para el resto de los aislamientos no se consiguió una posible relación con cepas de hongos filamentosos ya identificados, pero mostraron como resultado un antagonismo contra el hongo patógeno de interés, permitiendo que este proyecto sirva para dar paso a su continuidad para ser estudiado, al igual, llevándolo a cabo a experimentación en plantas de jitomate las cuales están infestadas por dicho patógeno.

## **5.2 Aportaciones originales**

El aislamiento y selección de hongos filamentosos los cuales sean benéficos para el control biológico contra el hongo patógeno *Rhizoctonia solani* sirven de alternativa para evitar el uso indiscriminado de fertilizantes en los cultivos de jitomate, los cuales dejan repercusiones no solo al medio ambiente, sino también a la salud del consumidor final.

### **5.3 Limitaciones del modelo planteado**

Las limitaciones que se presentaron durante la realización de este proyecto fueron la falta de material de laboratorio, así como reactivos indispensables para la preparación de medios sólidos selectivos.

### **5.4 Recomendaciones**

Se recomienda dar continuidad a este proyecto, tomándolo como base y así llevar a cabo su aplicación en campo, es decir, ponerlo a prueba en plantas de jitomate para así verificar que los hongos filamentosos benéficos aislados y seleccionados tienen aplicación en campo con efecto antagónico para *Rhizoctonia solani*.

# **Capítulo VI**

## **Competencias desarrolladas**

## **6.1 Competencias desarrolladas y/o aplicadas**

Las competencias que se desarrollaron a lo largo de la elaboración del trabajo presentado fueron las siguientes:

- Responsabilidad.
- Organización.
- Trabajar en tiempo y forma.
- Aprender a establecer tiempos para la realización de la metodología.
- Manejo de material y equipo de laboratorio.
- Preparación de medios selectivos.
- Habilidad de adaptabilidad al entorno en donde se trabajó y a horarios.
- Fortalecimiento de conocimientos adquiridos en las asignaturas de la carrera en el laboratorio de microbiología.
- Implementación de estrategias para la búsqueda de información en diversas fuentes confiables.
- Aprender técnicas para el aislamiento de hongos filamentosos en medios de cultivos selectivos y técnica de microcultivo.
- Mantener un ambiente inocuo en el laboratorio para la realización de metodología.

# **Capítulo VII**

## **Fuentes de información**

## 6.1 Fuentes de Información

Agrios, G. (1997). Control de enfermedades vegetales. Patologías de la planta- San Diego, 200-216.

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

Barnett, H. Hunter, B. (1982). Illustrated genera of imperfect fungi. Third edition. Burgess publishing. Mineapolis, Minesota. USA 241 pp.

Benbrook, C. M.; E. Groth; J. M. Halloran; M. K. Hansen; S. Marquardt. 1996. Pest Management at the Crossroads. Consumers Union, Yonkers, New York, U.S.A.: 276 p.

BioCen (2018). Manual de medios de cultivo. Bejucal, Mayabeque, Cuba,

Ceresini, P. (1999). Rhizoctonia spp pathogen Profile. Soilborne plant pathogens offered on spring R. solani.

Cestoni, F; De Jovel, G; Urquilla, A. 2006. Perfil de negocios de tomate cherry o cereza hacia el mercado de los Estados Unidos (en línea). El Salvador. 73 p. Consultado 5 feb. 2015.

Cong et al., (2019). Fermentación de cultivo mixto entre *Rhizopus nigricans* y *Trichoderma pseudokoningii* para controlar el marchitamiento del pepino. *Fusarium. Crop Protection*, 261-2194.

Díaz, C. 2007. Caracterización Agro cadena de Tomate. Dirección Regional Central Occidental. M.A.G. Grecia, Costa Rica. 46 p.

Escobar, P., Montealegre, J. y Herrera, R. (2004). Respuesta in vitro de cepas de *Trichoderma harzianum* frente a FE3+, salinidad, pH y temperatura, con el fin de ser utilizado en control biológico de *Rhizoctonia solani* y *Fusarium solani* en tomate. *Boletín micrológico* , 19 (0).

García, R. (2004). *Botrytis cinérea* en el cultivo de Rosa híbrida en la zona florícola sur del Estado. México: Universidad Autónoma del Estado de México.

Gómez Ing. Agr. M, 2000, Importancia del arbolado en el entorno urbano y rural Cátedra de Parques y Jardines Universidad Nacional de San Luis. (mgomez@fices.unsl.edu.ar).

Guédez, C., Cañizalez, L., Castillo, C., & Olivar, R. (s/f). Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma harzianum* para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium oxysporum* en plantas de tomate.

Hancock J, S. T. (2008). Fresas. *Temperature Fruit Crop Breeding*, 393-437.

Sneh, B. Burpee, L, and Ogoshi, A. 1991. *Identification of Rhizoctonia species* APS press. USA.

Hernández Pérez, D., Castellanos, MD, Ramos, RQ, Santos Bermúdez, R., Portal González, N., & Herrera, L. (s/f). Control de *Rhizoctonia solani* en frijol común con rizobacterias y productos naturales Control de *Rhizoctonia solani* en frijol común con rizobacterias y productos naturales.

Hoyos-Carvajal, L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, I., & Orduz, S. (2008). Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. *Agronomía colombiana*, 26 (3), 451–458.

Infoagro Systems S.L. 2016. El cultivo de tomate: Parte I. (en línea). Madrid, España. s.p. Consultado 20 oct. 2016. Disponible en [http://www.infoagro.com/documentos/el\\_cultivo\\_del\\_tomate\\_parte\\_i\\_.asp](http://www.infoagro.com/documentos/el_cultivo_del_tomate_parte_i_.asp)

INTA (Instituto Nicaragüense de Tecnología Agropecuaria). 2014. Manejo integrado de plagas. Cultivo de tomate: Guía MIP (en línea). Managua, Nicaragua. 66 p. Consultado 10 may. 2016. Disponible en <http://www.inta.gob.ni/biblioteca/images/pdf/guias/GUIA%20MIP%20tomate%202014.pdf>

León, R., Pino, S., Martínez, B., Liriano, R., & Nuñez, B. (2011). Aislamiento y selección de cepas de *Trichoderma* y su efecto antagonista frente a *Sclerotium rolfsii*, *Rhizoctonia* sp. y *Fusarium* sp.

Martínez, B., Reyes, Y., Infante, D., González, E., Baños, H., & Cruz, A. (s/f). SELECCIÓN DE AISLAMIENTOS DE *Trichoderma* spp. CANDIDATOS A BIOFUNGICIDAS PARA EL CONTROL DE *Rhizoctonia* sp. ES ARROZ .

Narayanasamy, P. (2013). Mecanismos de acción de los agentes de control biológico de hongos. *Biological Management of Diseases of Crops*, Vol 15, 99-200.

Pérez Martínez, B.G. 2009. Obtención de biol a partir de gallinaza y estiércol bovino. Tesis Ing. Agr. Ambato, Ec., Universidad Técnica de Ambato. 4 p.

Pimentel, D. 1993. Cultural Control for Insect Pest Management. p. 35- 38. In: S. Corey et al. (eds.), *Pests Control & Sustainable Agriculture*. CSIRO, Melbourne, Australia

Reyes Duque, Y. (2012). AISLAMIENTOS DE *Trichoderma* spp. PROMISORIOS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DEL TIZÓN DE LA VAINA (*Rhizoctonia solani* Kühn) EN ARROZ. *Revista de protección vegetal*, 27 (1), 68–68.

Romero R, 2004, Manejo integrado de plagas, universidad autónoma de chapingo México, primera edición, pag: 7-23

Semillaria. 2015. Clasificación taxonómica de tomate (en línea). s.p. Consultado 10 may. 2016. Disponible en <http://semillaria.es/index.php/cultivos-ok/29-cultivos/94-taxonomia>.

Suárez, D.A. 2005. Aromáticas y medicinales. En línea. Consultado 27 de enero del 2011. Disponible en <http://www.inta.gov.ar/manfredi/info/boletines/extension/villadolores/an1n3oregano.htm>.

Tovar, J (2008). Evaluación de la capacidad antagonista "in vivo" de aislamientos de *trichoderma* spp frente al hongo fitopatogeno *rhizoctonia solani*.

Youssef, K. e. (2019). Efecto sinérgico de una nueva formulación basada en nanocompuestos de quitosano/ sílice contra el moho gris de las uvas de mesa y su posible modo de acción. *International Journal of Biological Macromolecules*, 247- 258.

# **Capítulo VIII**

## **Anexos**

**TECNOLÓGICO NACIONAL DE MÉXICO INSTITUTO  
TECNOLÓGICO SUPERIOR DE TEZIUTLÁN**

**CARTA DE CESIÓN DE DERECHOS**

En la Ciudad de Teziutlán, Puebla., el día 23 del mes de septiembre del año 2022, el (la) que suscribe **Marimar Cantellano Jarillo** alumno (a) de la carrera de **Ingeniería en Industrias Alimentarias** con número de control **17TE0586**, adscrito al Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán, manifiesta que es autor(a) intelectual del presente trabajo de Tesis de licenciatura bajo la dirección de la **Dra. Jacquelin León Báez** cedan los derechos del trabajo titulado. **“Aislamiento y selección de hongos filamentosos para el control biológico de Rhizoctonia Solani en plantas de jitomate.”** al Instituto Tecnológico Superior de Teziutlán y a los directores del proyecto para su difusión, con fines académicos y de investigación.

Marimar Cantellano Jarillo  
Nombre y firma del alumno  
(a)

Vo. Bo

MBP. Jacquelin León Báez  
Director (a) de Tesis



Asunto: Asignación de Asesor(a), Comisión Revisora y Entrega de Trabajo Profesional y Dictamen

Teziutlán, Puebla, 15 de septiembre de 2022

Asesor(a): LEON BAEZ JACQUELIN  
Integrante de Comisión Revisora: HERNANDEZ HERNANDEZ MARLEN  
Integrante de Comisión Revisora: GONZALEZ RIOS LILLIAN PATRICIA  
Presentes

Por este medio me permito informar que ha sido asignado como asesor(a) y comisión revisora del trabajo profesional que se convertirá en Tesis de:

Alumno (a):	CANTELLANO JARILLO MARIMAR Apellido paterno/materno/nombre (s)		
Número de Control:	17TE0586	Licenciatura o Posgrado:	INGENIERIA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS
Plan:	2010	Correo Electrónico:	17TE0586@teziutlan.tecn.mx
Cuyo tema es:	AISLAMIENTO Y SELECCION DE HONGOS FILAMENTOSOS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE RHIZOCTONIA SOLANI EN PLANTAS DE JITOMATE 25 palabras (máximo)		

Se ha enviado a su correo institucional el trabajo profesional o de grado, por lo cual la comisión revisora tendrá 5 días hábiles para realizar las observaciones al alumnado, el(la) interesado(a) tendrá igualmente 5 días para corregir y las enviará al correo electrónico institucional de la comisión revisora, agradezco de antemano su valioso apoyo en esta importante actividad para la formación profesional de licenciatura o de grado de nuestro alumnado egresado.

### Dictamen de Comisión Revisora y Aprobación para Grabación

Siendo el día: **24 de septiembre de 2022** se reunieron los miembros de la comisión para revisar el trabajo asignado y una vez analizado se decidió liberarlo y aprobarlo para su grabación y programación de examen profesional.

  
LEON BAEZ JACQUELIN  
Nombre y Firma del(la) Asesor(a)

  
HERNANDEZ HERNANDEZ MARLEN  
Nombre y Firma del Integrante de la Comisión Revisora

  
GONZALEZ RIOS LILLIAN PATRICIA  
Nombre y Firma del integrante de la Comisión Revisora

  
SANCHEZ PEREZ MYRIAM  
Subdirección Académica

ccp. Expediente

Rosa G

R07/05/2021

Folio:



F-SAC-18

CARTA DE AUTORIZACIÓN DEL(LA) AUTOR(A) PARA LA CONSULTA Y  
PUBLICACIÓN ELECTRÓNICA DEL TRABAJO DE INVESTIGACIÓN

El que suscribe:

**MARIMAR**

**CANTELLANO**

**JARILLO**

Con Número de  
Control **17TE0586**

Perteneciente  
al Programa **INGENIERÍA EN INDUSTRIAS ALIMENTARIAS**  
Educativo

Por este conducto me permito informar que he dado mi autorización para la consulta y publicación electrónica del trabajo de investigación en los repositorios académicos.

Registrado con  
el producto: **TESIS**

Cuyo Tema es:

**AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE HONGOS FILAMENTOSOS PARA EL CONTROL BIOLÓGICO DE RHIZOCTONIA SOLANI EN PLANTAS DE JITOMATE.**

Correspondiente al periodo:

**AGOSTO-DICIEMBRE 2022**

Y cuyo(a) director(a) de tesis es:

**M.B.P. JACQUELIN LEÓN BÁEZ**

ATENTAMENTE

MARIMAR CANTELLANO JARILLO  
Nombre y firma

Fecha de emisión: **23/SEPTIEMBRE/2022**  
c.c.p. Subdirección Académica