

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR
FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA PARACENTRAL
DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRONÓMICAS



TEMA:

CONTROL DE “MAL DE TALLUELO” EN PLÁNTULAS DE AGUACATE (*Persea americana*), EN LA MODALIDAD DE VIVERISTA, APLICANDO *Trichoderma harzianum* (Bio-Tric® 15WP) EN DIFERENTES CONCENTRACIONES.

REQUISITO PARA OPTAR AL GRADO DE:

INGENIERO AGRONOMO

REALIZADO POR:

Br. GERARDO ANTONIO RIVAS MARROQUÍN

Br. DANY ALEXANDER MARTÍNEZ GÁLVEZ

Br. ANGEL ARTURO GONZÁLEZ CHÁVEZ

San Vicente, 30 de septiembre de 2008

UNIVERSIDAD DE EL SALVADOR

RECTOR:

ING.AGR. Y LIC. RUFINO ANTONIO QUEZADA SANCHEZ

SECRETARIA GENERAL:

LIC. DOUGLAS VLADIMIR ALFARO CHAVEZ

FACULTAD MULTIDISCIPLINARIA PARACENTRAL

DECANO:

ING. AGR. M Sc. JOSE ISIDRO VARGAS CAÑAS

VICEDECANO:

MSc. ANA MARINA CONSTANZA

SECRETARIO:

ING. AGR. EDGAR ORANTES

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE CIENCIAS AGRONÓMICAS

ING. AGR. JORGE LUIS ALAS AMAYA

DOCENTES DIRECTORES:

ING. AGR. DAGOBERTO PÉREZ

Dr. Sc. MARTIN BRAUN

RESUMEN

El Salvador carece de información sobre el control de enfermedades fungosas tratadas con fungicidas a base de microorganismos como es el caso de *Trichoderma harzianum* (benéfico), que además de contribuir al control de la enfermedad, proporciona a la planta otros beneficios como la disponibilidad de materia orgánica y la absorción de nutrientes a la planta.

El objetivo principal de este trabajo fue encontrar dosis del producto para el control eficiente de la enfermedad y poder recomendarlo a nivel de vivero en el cultivo de Aguacate (*Persea americana*).

El estudio se realizó en los meses de Febrero a Junio de 2005, en el vivero mundo verde a un kilómetro del desvío a San Juan Opíco, carretera a Quezaltepeque, Departamento de la Libertad, a una elevación de 450 msnm, con temperatura promedio de 24.1°C , humedad relativa 74.4% anual.

El sustrato utilizado para el llenado de bolsas fue 50% de hojarasca de finca de café y 50% de tierra negra, similar al que utilizan para llenar las bolsas para los demás frutales.

El diseño experimental utilizado fue el de bloques al azar con 3 tratamientos y el testigo, y 6 repeticiones.

La cantidad de semilla fue de 480, a la cual se le dio un trato especial y este consistió en hacer un corte de candado para facilitar la germinación, la variedad no fue similar ya que en el tiempo en que se montó el ensayo la producción de Aguacate es muy baja, se recolectó de varios lugares, tales como mercados municipales, comedores.

Para el vivero de Aguacate se hizo una ramada, esta tenía una dimensión de 12 mt de largo por 8 mt de ancho, y la finalidad de esta fue proporcionar un ambiente favorable a la semilla para su germinación y emergencia.

La siembra se hizo por la mañana y a la misma hora, antes de este proceso se sumergieron 120 semillas en agua sin ningún tratamiento, llamado testigo, 120 semillas en una concentración de 20 gr. /gln de agua de Bio-Tric® 15WP, 120 semillas en una concentración 40 gr. /gln de agua de Bio-Tric® 15WP, 120 semillas en una concentración de 50 gr./galón de agua de Bio-Tric® 15WP durante un tiempo de 15 minutos.

La aplicación de los hongos patógenos (*Fusarium sp*, *Phytium sp*, *Sclerotium sp.*) se hizo inmediatamente después de la siembra.

El riego se aplicó en horas de la mañana y tarde, procurando que el sustrato quedara completamente húmedo.

El análisis de las muestras se realizó en los laboratorios de la Universidad de El Salvador.

De acuerdo a los resultados obtenidos se concluye que en los parámetros en estudio: el resultado fue no significativo, nos indica que no existió diferencia significativa entre los tratamientos; en la cantidad de plantas emergidas el mejor tratamiento fue T2 donde se reporto la mayor cantidad de plantas y el tratamiento que menos plantas germinaron fue el T3 o testigo.

AGRADECIMIENTOS.

- Gracias a la colaboración y esfuerzo de muchas personas, que directa o indirectamente hicieron posible que este trabajo de investigación se realizara.
- A nuestros padres, que con su apoyo, sacrificio y dedicación hicieron realidad nuestra superación y formación académica, que sin los cuales hubiese sido imposible alcanzarlo.
- A la Universidad de El Salvador y Facultad de Ciencias Agronómica, por su colaboración, dedicación y esfuerzo a nuestra formación profesional.
- A BIOTECNOLOGIA S.A. DE C.V. por proporcionarnos equipo, asesoría técnica, por lo cual nos sentimos agradecidos con tan prestigiosa institución.
- A nuestros asesores Ing. Agr. Dagoberto Pérez y al Dr. Martín Braun (biólogo), por su entrega, esfuerzo y excelente colaboración en el desarrollo y finalización del presente trabajo de investigación.
- Al Ing. Agr. Ramiro Guardado, por su valiosa colaboración al brindarnos su confianza y proporcionarnos todo lo necesario para la construcción y desarrollo de actividades para el vivero de Aguacate.
- A los compañeros y amigos que de una u otra forma colaboraron y nos apoyaron para culminar nuestra meta.
- A la Ing. Agr. Deysi de solano, por su valiosa colaboración en el análisis de las muestras y su interpretación, con lo cual hace un valioso aporte a la finalización de este trabajo de investigación.
- Al Ing. Agr. Rene francisco Vázquez, por asesorarnos en la parte estadística que contiene el presente documento.

DEDICATORIA.

- A DIOS TODO PODEROSO: por haberme dado la vida, sabiduría y salud para concluir con éxito mi carrera.
- A MI MADRE: Maura Rivas Romero, por su sacrificio, entrega y su amor que me brinda, sus sabios consejos que me dieron fortaleza en momentos difíciles, sin los cuales este éxito no hubiera sido posible.
- A MIS HERMANAS Y HERMANOS: que me apoyaron en todo momento difíciles, por su comprensión, por su aporte económico, por demostrarme su cariño en todo momento.
- A TODOS MIS AMIGOS: por su apoyo incondicional, sus consejos que cambiaron muchas cosas en mi vida.
- A TODOS MIS MAESTROS: por su apoyo y haber compartido sus conocimientos con nosotros, que sin estos no sería posible la culminación de nuestra carrera.
- A NUESTROS ASESORES: Ing. Agr. Dagoberto Pérez y al Dr. Martín Braun, por presentar una plena voluntad al solicitar su asesoría y compartir sus conocimientos en momentos oportunos.
- Al Ing. Agr. Rene Francisco Vázquez, por asesorarnos en la parte estadística, gracias a su colaboración desinteresada, teniendo como objetivo el ayudar a formar profesionales.
- Al Ing. Agr. Ramiro Guardado, por encontrar en él un amigo incondicional que nos apoyó en toda la fase de campo.

Gerardo Antonio Rivas Marroquín.

DEDICATORIA.

- A DIOS TODO PODEROSO: por haberme dado la vida, sabiduría y salud para concluir con éxito mi carrera.
- A MIS PADRES: MARINA CONCEPCION CHAVEZ DE GONZALEZ, ANTONIO DOMINGO GONZALEZ Por haberme guiado por el camino correcto, y haberme dado los sabios consejos para que fuera un hombre de bien.
- A MIS HERMANAS Y HERMANOS: que me apoyaron en todo momento difíciles, por su comprensión, por su aporte económico, por demostrarme su cariño en todo momento.
- A IVON: Por ser una persona tan especial en mi vida, que me ha dado apoyo, comprensión y amor en los momentos más adversos
- A TODOS MIS MAESTROS: por su apoyo y haber compartido sus conocimientos con nosotros, que sin estos no sería posible la culminación de nuestra carrera.
- A NUESTRO ASESORES: Ing. Agr. Dagoberto Pérez y al Dr. Martín Braun, por presentar una plena voluntad al solicitar su asesoría y compartir sus conocimientos en momentos oportunos.
- Al Ing. Agr. Rene francisco Vázquez, por asesorarnos en la parte estadística, gracias a su colaboración desinteresada, teniendo como objetivo el ayudar a formar profesionales.
- Al Ing. Agr. Ramiro Guardado, por encontrar en él un amigo incondicional que nos apoyo en toda la fase de campo.

Ángel Arturo González Chávez

DEDICATORIA.

- A DIOS TODO PODEROSO: por haberme dado la vida, sabiduría e inteligencia y salud para concluir con éxito mi carrera.
- A MI PADRES: Blanca Estela Gálvez de Martínez y Silfredo Martínez Larios por su apoyo económico y por su comprensión y cariño que me han brindado en todo el transcurso de mi vida, por los consejo que me ayudaron para poder terminar mi carrera con éxito.
- A ANA RUTH ORTEGA ORELLANA: Por ser una persona que estuvo en las buenas y las malas y que siempre me animo y me ayudo con su apoyo y comprensión en los momentos difíciles.
- A TODOS MIS MAESTROS: por su apoyo y haber compartido sus conocimientos con nosotros, que sin estos no seria posible la culminación de nuestra carrera.
- A NUESTRO ASESORES: Ing. Agr. Dagoberto Pérez y al Dr. Martín Braun, por presentar una plena voluntad al solicitar su asesoría y compartir sus conocimientos en momentos oportunos.
- Al Ing. Agr. Rene francisco Vázquez, por asesorarnos en la parte estadística, gracias a su colaboración desinteresada, teniendo como objetivo el ayudar a formar profesionales.
- Al Ing. Agr. Ramiro Guardado, por encontrar en el un amigo incondicional que nos apoyo en toda la fase de campo.

Dany Alexander Martínez Gálvez

INDICE

Contenido.	Página.
I- INTRODUCCION.....	1
II- MARCO TEORICO.....	2
2.1. Origen y distribución del aguacate (<i>Persea americana</i>).....	2
2.2. Descripción botánica.....	2
2.2.1. Raíz.....	2
2.2.2. Tallo.....	2
2.2.3. Hojas.....	2
2.2.4. Flor.....	3
2.2.5. Fruto.....	3
2.2.6. Semilla.....	3
2.3. Descripción taxonómica del aguacate.....	3
2.4. Cultivo del aguacate.....	4
2.5. Preparación del suelo.....	4
2.6. Recolección de la semilla.....	4
2.7. Manejo y tratamiento de la semilla.....	5
2.8. Siembra de la semilla de aguacate.....	5
2.9. Plagas y enfermedades.....	6
2.9.1. Plagas.....	6
2.9.1.1. Trips. (<i>Trips sp.</i>).....	6
2.9.1.2. Agalla de las hojas (<i>Trioza anceps</i>).....	6
2.9.2. Enfermedades.....	6
2.9.2.1. Antracnosis (<i>Collectotrichum gloesporioides</i>).....	6
2.9.2.2. Tristeza o Marchitamiento (<i>Phytophthora cinnamomi</i>).....	7
2.10. Mal del Talluelo en viveros de aguacate (<i>Fusarium sp</i> , <i>Phytium sp</i> , <i>Sclerotium sp.</i>).....	7
2.10.1. Control de Mal del Talluelo (<i>Fusarium sp</i> , <i>Phytium sp</i> , <i>Sclerotium sp.</i>) en aguacate.....	8
2.11. Control biológico.....	9
2.12. <i>Trichoderma sp</i>	10
2.12.1. Clasificación taxonómica de <i>Trichoderma harzianum</i>	10
2.12.2. Aspectos generales de <i>Trichoderma harzianum</i>	10

Contenido.	Página.
2.12.3. Modo de acción de <i>Trichoderma harzianum</i>	11
2.12.4. Aspectos a tomar en cuenta para el uso de <i>Trichoderma harzianum</i>	12
2.12.5. Metodología de aplicación al suelo de <i>Trichoderma harzianum</i>	13
2.12.5.1. En viveros, al medio o sustrato que se usa para producir plántulas.....	13
2.12.5.2. Aplicación inoculativa.....	14
2.12.5.3. Aplicación inundativa.....	14
III-MATERIALES Y METODOS.....	15
3.1. Localización del ensayo.....	15
3.2. Construcción de ramada para el montaje del ensayo.....	15
3.3. Preparación del sustrato para el llenado de bolsas.....	16
3.3.1. Desinfección del sustrato.....	17
3.4. Recolección y selección de la semilla.....	17
3.5. Descripción de los tratamientos.....	17
3.5.1 Tratamiento de <i>Trichoderma harzianum</i> (Bio-Tric® 15wp) con dosis de 20gr /gl de agua (T1).....	17
3.5.2. Tratamiento de <i>Trichoderma harzianum</i> (Bio-Tric® 15wp) con dosis de 40gr /gl de agua (T2).....	17
3.5.3. Tratamiento de <i>Trichoderma harzianum</i> (Bio-Tric® 15wp) con dosis de 50gr /gl de agua (T3)	18
3.5.4. Tratamiento testigo (T4).....	18
3.6. Preparación del medio para la reproducción de hongos fitopatógenos.....	18
3.7. Repique de hongos fitopatógenos.....	19
3.8 Preparación de la semilla y siembra.....	20
3.9. Riego.....	21
3.10. Muestreos para identificar la presencia de Mal de Talluelo.....	21
3.11. Toma de muestras de suelo para determinar la presencia de hongos fitopatógenos y del hongo antagonista	21
3.12. Preparación de instrumentos de laboratorio.....	22
3.13. Procedimiento para el análisis de muestras	22
3.14. Metodología estadística.....	24

Contenido.	Página.
3.15. Factor en estudio.	24
3.16. Variables evaluadas	24
3.17. Diseño estadístico.....	25
3.18. Modelo estadístico.....	25
IV- RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	26
4.1. Plantas atacadas por Mal del Talluelo y microorganismo encontrado.....	26
4.2. Fechas de emergencia de las plántulas	27
4.3. Plantas emergidas.....	27
4.4. Plantas sanas.....	29
V- CONCLUSIONES.....	30
VI- RECOMENDACIONES.....	31
VII- BIBLIOGRAFÍAS.....	32
VIII- ANEXOS.....	34
8.1. Cuadros.....	34
8.2. Figuras.....	36

Lista de cuadro.

Cuadro.		Pagina.
1	Fitopatógenos controlados por <i>Trichoderma sp.</i> (Fintrac-Idea 2003).....	11
2	Tratamientos y dosis de <i>Trichoderma harzianum</i> (Bio-Tric® 15WP) que se utilizaron en el ensayo.....	18
3	Hongos encontrados en los análisis de las muestras.....	24
4	Porcentaje de plántulas emergidas, para cada uno de los tratamientos en los diferentes muestreos realizados.....	28
5	Cuadro de ANVA para la variable cantidad de plantas germinadas.....	28
A-1	Presupuesto que se utilizo para el desarrollo de la investigación.....	34

Lista de figura.

Figura.		Pagina.
1	Forma como se hace el corte de candado.....	5
2	Signo de <i>Trichoderma sp</i> observado al microscopio, Fintrac-Idea 2003.....	12
3	Ramada para el montaje del ensayo.....	16
4	Substrato usado para el llenado de bolsas, extraído de finca de café.....	16
5	Proceso por el que se obtuvo la concentración deseada de hongos fitopatógenos.....	23
6	Comportamiento de los diferentes tratamientos en el porcentaje de emergencia, desde los 20 hasta los 40 días después del transplante.....	28
A-1	Planta atacada por hongos	36
A-2	Aguacate en fincas de café.....	36
A-3	Planta dañada por malas prácticas de manejo de viveros.....	36
A-4	Croquis del lugar donde se desarrollo el montaje del ensayo.....	37
A-5	Distribución de los tratamientos evaluados.....	38
A-6	Preparación de PDA	38
A-7	Asesoría técnica brindada por Investigador de BIOTECNOLOGÍA S.A. DE C.V.....	38

I- INTRODUCCION

La producción de plántulas de aguacate (*Persea americana*) a nivel de vivero se ve limitada muchas veces por problemas de enfermedades fungosas, lo cual incrementa el costo de producción y son responsables de grandes pérdidas (Fig. A-1). Muchas atacan a nivel de plántulas, tal es el caso de la enfermedad llamada “Mal del Talluelo o Estrangulamiento del Cuello”, principalmente si no se cuenta con medidas de control preventivo, que ayuden a disminuir o evitar el daño. (MAG, 2002)

Para controlar enfermedades existen en el mercado muchos productos químicos sintéticos que elevan los costos de producción, además contamina en gran escala al medio ambiente, por tal razón es necesario buscar otras medidas de control para estas enfermedades. (Hernández, 1996).

En los últimos años se han tratado enfermedades fungosas con hongos antagonistas; se trata de microorganismos que son benéficos para las plantas. El hongo *Trichoderma harzianum*. Ha sido utilizado para controlar enfermedades en muchas especies de plantas hortícolas, pero aun no se cuenta con información suficiente que demuestre la eficiencia para el control del mal del talluelo en aguacate; es ahí la importancia del estudio, específicamente en la enfermedad antes mencionada. (Guardado, 2005).

En este trabajo se evaluaron 3 dosis diferentes de *Trichoderma harzianum* (20, 40 y 50 gr/gl de agua) haciendo diferentes tratamientos para el control del mal del talluelo y saber las cantidades adecuadas para su control, haciendo uso de 480 semillas de aguacate, para esto se inocularon las semillas con los hongos patógenos que provocan el mal del talluelo.

Esta información servirá de guía para el manejo de la enfermedad ya mencionada y también para investigaciones posteriores en otras especies de frutales; haciendo un aporte a nuestra agricultura.

II- MARCO TEORICO

2.1. Origen y distribución del aguacate. (*Persea americana*).

Su origen se da en las zonas montañosas de Guatemala, México y El Caribe, esta considerado el centro de origen del genero *Persea*, clasificándose según el centro de origen en tres razas Antillanas, Mexicana, Guatemalteca. En la actualidad el aguacate se encuentra distribuido en todas las zonas tropicales y subtropicales del mundo. (Wolfe, 1969).

2.2. Descripción botánica.

2.2.1. Raíz.

El sistema radicular tiene una raíz corta y débil, carecen de pelos absorbentes y su crecimiento es superficial, en el aguacate la eficiencia de la raíz se ve limitada por la carencia de pelos absorbentes y el empleo de micorrizas, constituyen una alternativa, el tipo de suelo es fundamental para el establecimiento ya que en suelos arenosos las raíces se profundizan más y por lo tanto hay mayor resistencia al viento. (CENTA, 2003).

2.2.2. Tallo.

Su corteza es áspera, y a veces surcada en forma longitudinal, sus ramas son bajas, extendidas de forma globulosa o de campana, gruesas, cilíndricas, al principio tienen una apariencia de color verde-amarillentas, después se tornan de un color negro opacas y con poco brillo y con cicatrices abundantes, delgadas y frágiles, se rompen fácilmente con la carga de la cosecha y la acción del viento. (CENTA, 2003).

2.2.3. Hojas.

El árbol de aguacate posee hojas alternas, aglutinadas en las puntas de las ramas, el ápice es agudo, las nervaduras laterales constan de 4-10 pares transparentes de color amarillo pálido y tienen una forma de red densa, pecioladas, oblongas o elípticas–lanceoladas hasta ovaladas, mide 8-40cm de largo desde la base aguda o truncada, cuando las hojas son jóvenes presentan un color rojizo y pasado el tiempo se vuelven de un color verde oscuro y con brillo. (CENTA, 2003).

2.2.4. Flor.

Se presentan en grandes cantidades de inflorescencias en racimos axilares, color verde amarillento, flores hermafroditas, densamente pubescentes, pedicelos cortos. Existen dos tipos de flores las cuales se han denominado grupo "A" y grupo "B" y se describen a continuación: grupo "A" se abren por primera vez por la mañana como femeninas, por la tarde del día siguiente se abren como masculinas, grupo "B" se abren por primera vez en la tarde como flores femeninas, en la mañana del día siguiente abren como masculinas. (CENTA, 1986).

2.2.5. Fruto.

Es una drupa globosa generalmente periforme, oviforme, o globosa de color verde amarillento hasta marrón y púrpura. La piel puede diferir según la raza, estas pueden ser notablemente gruesa y quebradiza (Guatemalteca), delgada (Mexicana), gruesa similar al cuero (Antillana), rica en aceite conteniendo hasta un 25-28%. A pesar de la inflorescencia solo un 1% fructifican. (CENTA-FRUTALES, 2002).

2.2.6. Semilla.

La semilla puede ser grande mediana o pequeña dependiendo de la variedad, es ovalada parecida a la forma que tiene un durazno, a veces suele ser monoembrionica. (Frutales, 2001).

2.3. Descripción taxonómica del aguacate.

Clase: Dicotyledóneas.

Orden: Ranales.

Familia: Lauraceae.

Genero: Persea.

Especie: americana. (Frutales, 2001)

2.4. Cultivo del aguacate.

El aguacate es parte de la dieta alimenticia de muchas personas en las zonas rurales, los cuales obtienen sus frutos de árboles que se encuentran dispersos en parcelas de usos múltiples, como en cultivos de hortalizas, fincas de café, etc. (Fig. A-2). Por otra parte el aguacate es considerado como una de las especies de frutas ricas en contenido de aceite, en especial la raza mexicana con un 18 – 26%. En la actualidad el cultivo de aguacate se da a nivel mundial y su consumo va en

aumento; el árbol del aguacate por lo general es alto, y a veces erecto alcanzando una altura de 6 a 20 metros de altura. (MAG, 2002).

2.5. Preparación del suelo.

Para el establecimiento de la plantación se permite la utilización de maquinaria agrícola si el terreno lo permite de lo contrario solo se limita a la limpieza del terreno y el ahoyado para la siembra de las plantas, al momento de hacer la práctica del ahoyado se tiene que tomar en cuenta la calidad del suelo tomando como principios fertilidad, textura, estructura, presencia o no de materia orgánica, topografía del terreno, entre otras características; las dimensiones de los hoyos varían de 0.60x0.60x0.60m hasta 0.80x0.80x0.80m (ancho, largo, profundidad respectivamente). Cuando se tiene suelos de mala calidad es recomendable utilizar las dimensiones de hoyos más grandes, ya que nos permite la remoción del suelo y la incorporación de materia orgánica. (CENTA, 1986).

2.6. Recolección de la semilla.

Es recomendable que para esta práctica se tomen medidas muy estrictas, ya que de esta dependerá el éxito o fracaso de la plantación, las cuales se mencionan a continuación: la semilla debe de ser recolectada de un solo árbol, este tiene que estar libre de plagas y enfermedades, el fruto tiene que presentar un aspecto que comúnmente en el campo se le conoce como sazón, el tamaño debe ser uniforme; aunque en la realidad esto no se cumple ya que la forma como obtienen la semilla los viveristas es recolectándola de mercados municipales, comedores y frutos en descomposición. (Calatrava, 1992).

2.7. Manejo y tratamiento de la semilla.

Después de recolectada la semilla se debe evitar su deshidratación ya sea exponiéndola directamente al sol o a temperaturas altas, si la siembra no se realiza el mismo día que se recolecta la forma mas fácil de conservarla es envolviéndola en hojas de papel húmedo, esto no significa que se pueden mantener durante un periodo largo, se aconseja para un periodo corto.

Para muchos viveristas este proceso se limita a la aplicación de fungicidas antes de sembrarla, sin embargo existe el riesgo de dañar los cotiledones e incluso inducir a que los hongos adquieran resistencia a los fungicidas cuando se aplica en forma irresponsable. Para facilitar la germinación de la semilla existe un método efectivo

conocido como “Corte de Candado” consiste en hacer un corte a la parte mas aguda de la semilla. (Wolfe, 1969). Fig. 1

Fig. 1 Forma como se hace el corte de candado.

2.8. Siembra de la semilla de aguacate.

Es recomendable hacer la siembra a principios de la estación lluviosa cuando no se cuenta con riego, los distanciamientos varían según las variedades y el asocio de otros cultivos, siendo los distanciamientos mas usados de 6x7m entre surco y planta respectivamente; en asocio con el cultivo del café es 8x10m entre surco y planta respectivamente. (Barahona, 1982).

2.9. Plagas y enfermedades.

2.9.1. Plagas.

2.9.1.1. Trips. (Trips sp).

Son insectos muy pequeños de color blanco, amarillo pálido a castaño oscuro, pueden medir de 0.3 a 1.4mm de longitud, el daño lo causan cuando se alimenta de los tejidos tiernos ya sea de brotes foliares, florales, hojas y frutos tiernos, la característica principal del daño es la caída de los frutos cuando están pequeños y en casos extremos las heridas provocadas dan paso a la formación de roña lo cual daña la apariencia del fruto.

La forma más adecuada para el control de esta plaga es hacer uso de los enemigos naturales, como Crisopas y chinches de ojos anchos; es aconsejable hacer muestreos y no aplicar productos químicos sintéticos que puedan eliminar estos controladores biológicos.

Control químico. Se puede realizar aplicando Cypermetrina, 0.2 a 0.4 L/ha y Endosulfan, de 1.5 a 2 L/ha. (CENTA, 1986).

2.9.1.2. Agalla de las hojas (Trioza anceps).

La hembra tiene una longitud de 3mm, el daño lo ocasiona al depositar sus huevecillos en le envés de las hojas, al eclosionar las ninfas succionan la savia e inyectan toxinas, que inducen la formación de agallas, reflejando una baja en la producción en todas las zonas del país y se da con mas frecuencia en cultivares criollos y poco en cultivares mejorados; para el control de esta plaga se debe eliminar plantas hospederas alternas al cultivo, control químico aplicar Parathion Metilico 50%. Se recomienda suspender las cosechas 3 meses después de aplicarlo (CENTA, 2003).

2.9.2. Enfermedades.

2.9.2.1. Antracnosis (*Collectotrichum gloesporioides*).

Esta enfermedad ataca a toda la planta, en las hojas viejas se identifica como manchas de color café-grisáceas irregulares luego aparece en hojas tiernas, ramillas y flores, llegando a secarlas y es causante de grandes perdidas.

Las condiciones favorables para que el hongo se disemine son la humedad excesiva, malas prácticas agrícolas; para prevenir esta enfermedad no se tiene que mezclar material sano con infestado, cuando la enfermedad ya se encuentra presente en el cultivo se deben hacer aplicaciones de Oxiclورو de Cobre de 1.4 a 2.5kg/ha. (Agrios, 2001).

2.9.2.2. Tristeza o Marchitamiento (*Phytophthora cinnamomi*)

Esta enfermedad es considerada como una de las más devastadora del cultivo de aguacate en todo el mundo, el primer síntoma se manifiesta por un leve marchitamiento a causa de las pudriciones de las raíces absorbentes y secundarias, provocando una baja absorción de agua y nutrientes del suelo, otra característica de esta enfermedad es el amarillamiento de las hojas a la vez que pierden rigidez, al final la planta muere paulatinamente; para evitar esta enfermedad se debe procurar que los suelos donde se siembren las plántulas el agua se pueda drenar con facilidad, utilizar patrones que sean resistentes a la enfermedad, para aplicar el control curativo se recomienda el uso de Metalaxil (Ridomil) ya sea al suelo o al follaje con fosetil-Al (Aliett). (Harman, 2001).

2.10. Mal del Talluelo en viveros de aguacate (*Fusarium* sp, *Phyitium* sp, *Sclerotium* sp).

Esta enfermedad puede causar grandes pérdidas si no se sigue un estricto manejo, que se inicia desde la preparación de la semilla, desinfección del sustrato para el llenado de bolsas, hasta la venta de los plantines a los productores, el daño de esta enfermedad se incrementa durante la estación lluviosa y es cuando se hacen aplicaciones mas constantes de fungicidas (Guardado, 2005).

Las enfermedades producidas por hongos constituyen una fuerte limitante en la producción de aguacate y es por ello que se hace necesario conocer sobre esta, y sobre todo saber las posibles soluciones; la propagación de las enfermedades se da principalmente por cultivar material contaminado, malas prácticas de manejo de viveros (Fig. A-3); es una de las más problemáticas en cuanto a su diseminación y contaminación, es la llamada “Mal del talluelo” los cuales son un complejo grupo de hongos: *Fusarium* sp, *Phytium* sp, *Sclerotium* sp, *Rhizoctonia* sp, *Phytophthora* sp. (Calatrava, 1992).

El “Mal del talluelo” ataca a varias especies de frutales, tal es el caso de las plántulas de café en estado de vivero o semillero, el daño es ocasionado antes o después de emergida la plántula, este es similar al que ocurre en las plántulas de aguacate, estrangulamiento del cuello o base de la planta el cual impide el paso de los nutrientes y agua hacia el resto de la planta, por lo cual muere; cuando hay presencia de la enfermedad en viveros, se debe arrancar y quemar el material infestado. (González, 2001)

Algunos hongos pueden producir pudriciones en la base del cuello, para que el hongo pueda penetrar a la planta es necesario que tenga una puerta de entrada como una herida causada por malas practicas agrícolas, lesiones por insectos, etc. La aparición de la enfermedad es favorecida por terrenos húmedos (Calatrava, 1992).

Entre las principales enfermedades del aguacate se encuentra las producidas por hongos, como la pudrición del sistema radicular producida por *Phytophthora* sp. Es considerada como la principal limitante de la producción de aguacate en los trópicos húmedos, iniciando desde la fase de vivero. (Ruehle, 1974)

2.10.1. Control de Mal del Talluelo (*Fusarium* sp, *Phytium* sp, *Sclerotium* sp.) en aguacate.

Históricamente se ha manejado que para el control de enfermedades, se ha hecho uso de fungicidas (Productos a base de cobre y otros), a tal grado que algunos

fitopatógenos desarrollan resistencia a algunos productos químicos sintéticos, lo que implica el uso de nuevas formas de combatir las enfermedades; en los últimos años se han realizado estudios que comprueban la efectividad que tiene el uso de microorganismos para el control de otros microorganismos, que al comparar beneficios con productos químicos sintéticos, resulto mas factible la primera opción de las dos antes mencionadas. (Hernández, 1996).

2.11. Control biológico.

Durante los pasados 25 años pocas áreas de investigación dentro de la fitopatología han atraído más interés que el uso de microorganismos para el control de fitopatógenos; el gran interés despertado por el control biológico de patógenos de plantas es una respuesta en gran parte a la creciente preocupación de la sociedad acerca del uso de pesticidas químicos. Los altos niveles de contaminación de muchos países están cada día más conciente de la problemática de muchos pesticidas químicos en términos de su impacto en el medio ambiente, así como en los agricultores y los consumidores de productos agrícolas. Sin embargo antes de que el control biológico llegue a ser un componente importante en el manejo de enfermedades de plantas, este debe ser efectivo, confiable, consistente y económico. Es importante resaltar que, además de la actividad antagónica, un buen agente de control debe tener la habilidad de sobrevivir en el hábitat donde es aplicado. Se ha demostrado que *Trichoderma* sp, actúa contra un amplio rango de hongos fitopatógenos transmitidos por suelo y aire. Ha sido usado en el campo e invernadero contra pudriciones en un rango de especies, causada por *Fusarium* sp, *Rhizoctonia* sp, *Phyitium* sp, *Sclerotium* sp. El biocontrol actualmente ocupa un lugar importante dentro de las prácticas de manejo de enfermedades de las plantas causadas por los patógenos antes mencionados. (Awad, 1993).

El control biológico consta de diversos métodos para suprimir muchas enfermedades de las plantas, ya sea agregando antagonistas a los patógenos en los agro ecosistemas (Lara, 1996, citado por Hernández, 1996).

Las características para que un organismo sea utilizado como controlador biológico de enfermedades fungosas son:

- Eficaz: Requiere alcanzar un grado de control al menos similar al obtenido con productos químicos, es decir superior al 90%.
- Inofensivo: Tanto para el hombre como para el organismo vegetal en que se aplica.
- Estable: Que pueda conservar su actividad biológica a temperatura ambiente por el tiempo necesario hasta que sea utilizado.
- Concentrado: Que contenga al menos 1010 conidias de *T. harzianum* por gramo de materia seca de formulación, con el fin de utilizar entre 1 a 10 kilos de productos por hectárea tratada.
- Aspergible: Que pueda ser aplicado sobre el organismo vegetal con métodos tradicionales de aplicación de productos químicos. Para ello el producto debe tener un diámetro de partícula inferior a los 150 μm (Fintrac-Idea. 2003).

2.12. Trichoderma sp.

Trichoderma sp es un genero de hongo benéfico que se encuentra naturalmente en todos los suelos, de este genero se aíslan varias sepas, resultando la mas común *Trichoderma harzianum* al aplicar este hongo a las semillas, medios de vivero y plantaciones, este coloniza las raíces formando una capa protectora, brindándoles protección, además este hongo forma una simbiosis en donde vive y se alimenta del exudado producido por las raíces, estimula el desarrollo de la planta, y se desarrolla en condiciones favorables tales como \rightarrow suelos con pH de 4 a 8 y temperaturas de 0 $^{\circ}\text{C}$ a 42 $^{\circ}\text{C}$. (Fintrac-Idea, 2003).

2.12.1. Clasificación taxonómica de *Trichoderma harzianum*.

Clase:	Deuteromicetes.
Orden:	Moniliales.
Familia:	Moniliaceae.
Genero:	<i>Trichoderma</i> .
Especie:	<i>harzianum</i> .

(Alexopoulos, K. 1994; citado por Hernández, A. B. 1996).

2.12.2. Aspectos generales de *Trichoderma harzianum*.

Trichoderma harzianum es un tipo de hongo anaerobio facultativo que se encuentra naturalmente en un número importante de suelos agrícolas y otros tipos de medios. Pertenece a la subdivisión Deuteromycotina que se caracterizan por no poseer o no presentar un estado sexual determinado. (Harman, 2001).

2.12.3. Modo de acción de Trichoderma harzianum.

Trichoderma harzianum tiene diversas ventajas como agente de control biológico, pues posee un rápido crecimiento y desarrollo, aparte de esto produce una gran cantidad de enzimas, insensibles con la presencia de hongos fitopatógenos. Puede desarrollarse en una amplia gama de sustancia, lo cual facilita su producción masiva para su uso en la agricultura. Su gran tolerancia a condiciones ambientales extremas y a hábitat donde hongos causan enfermedades le permiten ser eficientes agentes de control, de igual forma puede sobrevivir en medios significativos de pesticidas y otros químicos.

Además su gran variedad se constituyen en un reservorio de posibilidades de control biológico bajo diferentes sistemas de producción y cultivos.

El hongo Trichoderma harzianum es un Bio-Regulador y Antagonista natural de los fitopatógenos Rhizoctonia solani, Fusarium oxysporum, Fusarium rosseum, Botrytis cinerea, Sclerotium rolfsii, Sclerotinia spp, Alternaria spp.

El hongo Trichoderma harzianum actúa como agente de control biológico, disminuyendo o eliminando la necesidad de tratar con fungicidas químicos (cuadro 1.)

Cuadro: 1. Fitopatógenos controlados por Trichoderma sp. (Fintrac-Idea 2003).
(Fintrac-Idea, 2003).

El género agrupa a 33 especies, el hongo se identifica como una mota de color verde, habita en el suelo. Visto al microscopio parece un árbol pequeño, que produce esporas asexuales o conidias, las cuales son similares a semillas, que aseguran la sobrevivencia del hongo en la próxima generación, y lo que da la apariencia de mota son ramificaciones del cuerpo del hongo llamado micelio. Trichoderma sp produce en el micelio, unos ensanchamientos, que luego toman formas globosas u ovoide llamadas clamidiosporas, las cuales son bastante tolerantes a condiciones ambientales adversas y con consideradas estructuras de sobre vivencia, ya que pueden perdurar a través del tiempo. Fig. 2.

La mayoría de las células poseen numerosos núcleos (heterocarióticas), algunas células pueden llegar a tener más de 100. Varios factores asexuales como la combinación parasexual, mutación y otros procesos contribuyen a la variación de este género.

Especies de *Trichoderma* sp ampliamente difundidas en la comunidad microbiana de los suelos y con marcadas propiedades antagonistas, poseen representantes caracterizados por su alta producción de sustancias. (Harman, 2001).

Figura: 2. Signo de *Trichoderma* sp observado al microscopio, Fintrac-Idea 2003

2.12.4. Aspectos a tomar en cuenta para el uso de *Trichoderma harzianum*.

Trichoderma harzianum es un organismo vivo por lo cual se debe de tener ciertos cuidados en su manejo y aplicación.

Se debe manejar refrigerado cuando este almacenado para no perder viabilidad de las esporas, de no ser así podría durar entre 2 – 3 meses, hay que recordar que a mediada que pasa el tiempo pierden viabilidad las esporas. (Sthefanova, 1995).

Cuando se hace una mezcla para aplicar el producto diluido no debe de estar más de 4 horas sin aplicarlo.

Se puede aplicar a las semillas con tratamiento de fungicidas como Captan, Apron y/o Demosan.

Se puede aplicar con los insecticidas y fertilizantes comunes.

Se puede aplicar con los fertilizantes en la solución arrancadora.

Cuando se aplica foliarmente se debe usar un adherente el cual es indispensable con el uso de este producto.

Cuando se aplica *Trichoderma harzianum* foliar se debe aplicar en horas frescas de la mañana (hasta las 9:00 o 10:00 a.m.) o preferiblemente en horas de la tarde (después de las 3:00 p.m.).

Cuando aparecen plantas marchitas, se debe aplicar un fungicida al alrededor de la parte afectada en forma drench y 7 días después aplicarle a estas plantas

Trichoderma sp para volver a establecer el hongo y que siga protegiendo el cultivo.

Cuando hay plantas infectadas por *Sclerotium* sp. la aplicación de *Trichoderma harzianum* debe de chorrear el tallo de estas así como las plantas adyacentes .

Trichoderma sp posee resistencia innata a la mayoría de los agroquímicos incluyendo a algunos fungicidas. Sin embargo, el nivel de resistencia difiere entre cepas. Algunas líneas han sido seleccionadas o modificadas para ser resistentes a agroquímicos específicos. La mayoría de productores de cepas de este hongo destinadas a control biológico posee información relacionada con la susceptibilidad o resistencia a un amplio rango de agroquímicos. Esto con el fin de que estos aislantes sean compatibles con métodos de control aplicados, los cuales incluyen control químico. (Harman, 2001).

2.12.5. Metodologías de aplicación al suelo de Trichoderma harzianum.

2.12.5.1. En viveros, al medio o sustrato que se usa para producir las plántulas.

El medio o sustrato el cual se inocula antes de sembrarse; por ejemplo para producir las plántulas para 1 hectárea se le mezcla $\frac{1}{4}$ kg de Bio-Tric® 15WP. Para que el producto quede uniformemente distribuido, mida cuanta agua requiere para humedecer esa cantidad de medio, puede realizarlo por partes. Por ejemplo, para 20 litros de agua, agregar Bio-Tric® 15WP en 10 litros de agua (en una cubeta), agité (por lo menos 3 minutos), una vez bien agitado agregar (de preferencia, no es obligatorio) 150 gr. de azúcar más 5 gr. de vitamina. Agregar fertilizante al medio cuando así es requerido. Agitar nuevamente y agregar el faltante de agua para completar los 20 litros y agité de nuevo. (BIOTECNOLOGIA S.A. DE C.V.)

2.12.5.2. Aplicación inoculativa.

Es la aplicación inicial, en la cual se llevan las estructuras de propagación de Trichoderma harzianum al suelo del cultivo. (Fintrac-Idea 2003)

2.12.5.3. Aplicación inundativa.

Son las aplicaciones subsecuentes donde se “inunda” el suelo con Trichoderma harzianum, este método es recomendable por que permite que se establezca en el suelo y alcance un gran número de esporas, que garanticen no solo el control de la enfermedad sino también controlar todas las estructuras de supervivencia de los fitopatógenos alojados en el suelo. (Fintrac-Idea 2003)

III-MATERIALES Y METODOS

3.1. Localización del ensayo.

El presente trabajo de investigación se desarrolló en dos etapas: La primera consistió en la fase de campo, esta se realizó en el Departamento de La Libertad Municipio de San Juan Opíco carretera a Quezaltepeque Km. 34. (Fig. A-4), en el vivero Mundo Verde, propiedad del Ing. Ramiro Guardado, el lugar se localiza geográficamente a 13° 46' 58" Latitud norte, 89° 21' 51" longitud oeste y 450 msnm, en donde tiene una producción anual de plantas ornamentales de 50,000 y frutales de 40,000, además de producir otras especies haciendo un total de plantas

anualmente de 100,000 aproximadamente.

Las características climáticas del lugar son:

- Humedad relativa promedio anual: 74.4%
- Precipitación pluvial anual media: 1644mm.
- Temperatura promedio máxima: 32.5°C.
- Temperatura promedio mínima: 18.4°C.
- Temperatura promedio anual: 24.1°C.

(SNET, 2006).

3.2. Construcción de ramada para el montaje del ensayo.

La construcción de la ramada tuvo como objetivo proporcionar un ambiente adecuado para favorecer la germinación de la semilla y la proliferación de los hongos, el área que se utilizó fue de 12m de largo por 8m de ancho (Fig. A-5) haciendo un total de 96m². Para mantener la humedad y controlar la cantidad de radiación solar se utilizó malla de polietileno la cual fue facilitada por el propietario del vivero, además de lo antes mencionado la ramada tuvo también como propósito brindar protección contra los daños físicos que causan animales como aves, perros y personas ajenas a la investigación. Fig. 3

Figura: 3. Ramada para el montaje del ensayo .

Los materiales utilizados en la elaboración de la ramada fueron:

- Malla tejida de polietileno con un 70% de radiación solar.
- Postes de vara de bambú de 3m de alto.
- Alambre galvanizado.

3.3. Preparación del sustrato para el llenado de bolsas.

El sustrato se preparó utilizando 50% de tierra negra y 25% de hojarasca de finca y 25% de cascarilla de café para poder favorecer la germinación de la semilla y el desarrollo de las plantas como también el de los hongos. Fig. 4

Las bolsas utilizadas para el ensayo fueron de polietileno, la cantidad que se usó fue de 480 y sus dimensiones eran de 9"X 12".

Figura: 4. sustrato usado para el llenado de bolsas, extraído de finca de café.

3.3.1 Desinfección del sustrato.

Para esta actividad se utilizó el método físico de agua hervida, utilizando una cantidad de agua de 250L, colocando 125L en un barril el cual se ocupó leña para que este pudiera alcanzar el punto de ebullición, este proceso se realizó en dos tandas para completar la cantidad de agua requerida. Se aplicó una cantidad de agua de 500ml por bolsa y después se protegió con un plástico negro para cada tratamiento, el objetivo de esta práctica fue mantener alta la temperatura por un periodo de tiempo más prolongado y hacer más eficaz el proceso de desinfección.

3.4. Recolección y selección de la semilla.

Las semillas fueron recolectadas en diferentes partes como: tiendas, comedores regionales, mercados municipales, etc. De estas 650 semillas se hizo una selección de 480 para escoger las mejores que cumplieran con los requisitos siguientes:

-Tamaño uniforme.

-Libre de plagas y enfermedades.

-Buena apariencia y sin rasgos de resequedad.

La cantidad exacta de semilla fue de 480

3.5. Descripción de los tratamientos. (Fig. A-5)

3.5.1. Tratamiento de *Trichoderma harzianum* (Bio-Tric® 15WP) con dosis de 20gr /gl de agua (T1)

Consistió en colocar 20 unidades experimentales (bolsas) llenas del sustrato, las cuales se sembraron, previamente seleccionadas y tratadas con *Trichoderma harzianum* (Bio-Tric® 15WP) en dosis de 20gr /gl de agua, durante un periodo de 15 minutos luego se sembraron.

3.5.2. Tratamiento de *Trichoderma harzianum* (Bio-Tric® 15WP) con dosis de 40gr /gl de agua (T2).

Se colocaron 20 unidades experimentales (bolsas) llenas del sustrato, las cuales se sembraron, previamente seleccionadas y tratadas con *Trichoderma harzianum* (Bio-Tric® 15WP) en dosis de 40gr/gl de agua, durante un periodo de 15 minutos, luego se sembraron.

3.5.3. Tratamiento de *Trichoderma harzianum* (Bio-Tric® 15WP) con dosis de 50gr /gl de agua (T3).

Para este se colocaron 20 unidades experimentales (bolsas) llenas del sustrato, las cuales se sembraron, previamente seleccionadas y tratadas con *Trichoderma harzianum* (Bio-Tric® 15WP) en dosis de 50gr/gl de agua, durante un periodo de 15 minutos, luego se sembraron.

3.5.4. Tratamiento testigo (T4)

Este tratamiento consistió en colocar 20 unidades experimentales (bolsas) las cuales no recibieron ningún tipo de control con *Trichoderma harzianum* (Bio-Tric® 15WP), solamente se inoculó el sustrato por el complejo del hongo del mal del talluelo, la distribución de los tratamientos y sus dosificaciones se pueden apreciar en el cuadro 2.

Cuadro: 2. Tratamientos y dosis de *Trichoderma harzianum* (Bio-Tric® 15WP) que se utilizaron en el ensayo.

TRATAMIENTOS

DOSIS gr/gl de agua.

T1	20
T2	40
T3	50
T4	0

3.6. Preparación del medio para la reproducción de hongos fitopatógenos.

Fue necesario obtener colonias puras del complejo de hongos que producen mal del talluelo (*Fusarium* sp, *Phyitium* sp, *Sclerotium* sp); a continuación se detallan los pasos realizados para la preparación del arroz en los botes para la inoculación de los hongos:

1. Se pesaron 2lb de arroz comercial.
2. El arroz se colocó en un recipiente con agua y se mantuvo sumergido durante 15 minutos.
3. Transcurrido el tiempo se eliminó el agua, y se colocó en una zaranda de 0.5 ml durante un periodo de 20 minutos.
4. Se tomaron 6 envases de vidrio con capacidad de 400ml y se les colocó 150gr de arroz a cada uno.
5. Los envases de vidrio conteniendo el arroz se colocaron en el autoclave.
- 6.

Preparación de las cajas de petri con el medio PDA para inocular los hongos

1. Luego se prosiguió a lavar 48 cajas petri.
2. Se colocaron las cajas de petri en el autoclave durante 15 minutos a una temperatura de 121°C, esto con el propósito de esterilizar.
3. Se preparó el PDA (agar-patata-glucosa) disolviendo 40gr de polvo de PDA en un litro de agua desmineralizada, y se esterilizó junto con las cajas de petri en el autoclave.
4. Se dejó enfriar por un período de 20 minutos.
5. Se colocó una cantidad de PDA de 20ml por caja.
6. Se dejaron reposar durante un período de 24 horas, esto con el propósito de que el PDA tomara una consistencia más sólida. (Fig. A-6)

3.7. Repique de hongos fitopatógenos.

Para realizar el repique de los hongos fue necesario utilizar cajas petri con cultivos de colonias puras, las cuales fueron proporcionadas por BIOTECNOLOGIA S.A. DE C.V. para lo cual se requirió de 16 cajas petri con PDA (4 para *Fusarium* sp, 4 para *Phytium* sp, 4 para *Sclerotium* sp, 4 para *Rhizoctonia* sp); el repique se realizó en una cámara de flujo laminar en la que se procedió a desinfectar las asas introduciéndolas en un recipiente que contenía alcohol etílico al 70%, luego se expuso a la llama del mechero hasta el punto de incandescencia, para lograr una completa desinfección (Fig. A.7); cuando todo el equipo estuvo listo se desarrolló el procedimiento, que consistió en extraer 15mm cuadrados aproximadamente del hongo patógeno de las cajas petri que contenían las colonias puras, haciendo uso

de las asas para luego hacer la inoculación en las cajas petri, se dejaron a crecer las cepas durante el periodo de 5 días a una temperatura de 26 °C antes de aplicarlo a las semillas de aguacate también se inocularon los botes de arroz con las cepas.

3.8. Preparación de la semilla y siembra.

Para que la semilla tuviera las condiciones necesarias para la germinación, tuvo que brindársele una serie de tratamientos; primeramente se seleccionó las que no presentaban daños físicos, signos de deshidratación, plagas y enfermedades; posteriormente se dividieron las 480 semillas (total de semilla para el ensayo) en cuatro grupos, quedando de 120 semillas cada uno; se sumergieron 120 semillas en un balde que contenía una solución de *Trichoderma harzianum* (Bio-Tric® 15WP) con dosis de 20gr/gl de agua, este proceso fue similar para las concentraciones de 40 y 50gr/gl de agua respectivamente, en el tratamiento testigo solo se limitó a sumergirlas en un balde que contenía agua; después de realizar los procesos mencionados anteriormente se realizó la siembra de la semilla.

La Preparación de hongos fitopatógenos para la inoculación de los tratamientos usados en la investigación se hizo lo siguiente. En un balde se depositaron 12L de agua, luego se agregaron 100gr de arroz y 12 cajas petri con PDA que estaba inoculado con *Fusarium* sp; y 10 cajas de petri con *Sclerotium* sp; 10 cajas petri con jugo de tomate y con 1.5% de agar conteniendo *Phytium* sp.

Todos los hongos ya mencionados se mezclaron hasta obtener una concentración de hongos homogénea, de esta concentración se aplicó 20ml por bolsa, haciendo uso de una jeringa.

Ya establecido el ensayo no se permitió la entrada de personas extrañas al área de estudio (ramada), para evitar salida o entrada de patógenos del área de estudio.

Para esta actividad se contó con el apoyo del microbiólogo Martín Braun investigador de BIOTECNOLOGIA, S.A. DE C.V (Fig. A-7).

3.9. Riego.

El riego se inicio 3 días antes de la siembra con una frecuencia de 2 veces por día, el primero de 8:00 a 9:00am y el segundo de 15:00 horas en adelante.

Inmediatamente después de la siembra se procedió a regar haciendo uso de una

regadera manual y procurando que el sustrato quedara húmedo para favorecer las condiciones de propagación de los hongos, se tomo la temperatura durante todo el proceso, siendo esta en promedio de 25.1°C, estas fueron tomadas a las 9:00AM, 12:00M y 15:00 horas respectivamente.

3.10. Muestreos para identificar la presencia de Mal del Talluelo.

Los muestreos para identificar la presencia de Mal del Talluelo se realizaron diariamente y consistió en observar cada planta emergida, verificando la presencia o ausencia de la enfermedad; los muestreos se realizaron aproximadamente 3 meses después de la siembra.

3.11. Toma de muestras de suelo para determinar la presencia de hongos fitopatógenos y del hongo antagonista.

El tiempo esperado para tomar las muestras fue de 82 días después de la siembra, hasta cuando las plántulas formaron un tejido duro lo cual ya no era propicio para que la enfermedad se desarrollara.

La toma de muestra se inicio con el tratamiento testigo y consistió en extraer una libra de sustrato aproximadamente y colocarlo en una bolsa plástica, el primer tratamiento en ser muestreado fue el testigo, luego se tomaron las muestras de los tratamientos T1, T2, T3. Cada muestra se identificó según el tratamiento donde se tomó; para que todas las plantas tuvieran la misma probabilidad de ser muestreadas se hizo al azar, haciendo un total de 20 muestras (una por repetición), esta práctica se realizó en horas frescas de la mañana (8-9:30am) y luego fueron llevadas a los laboratorios de BIOTECNOLOGIA, S.A. DE C.V. donde se depositaron en un refrigerador para que se mantuvieran húmedas y temperatura adecuada, se tomaron 24 muestras.

3.12. Preparación de instrumentos de laboratorio.

El análisis de las muestras se desarrolló en el laboratorio de protección vegetal de la Facultad de Ciencias Agronómica, de la Universidad de El Salvador. Se inició preparando todo el equipo y materiales, a continuación se describen los pasos que se dieron para el desarrollo de esta actividad.

- 1- Se lavó todo el instrumento de laboratorio los cuales fueron: 24 erlenmeyers, 88 pipetas, 48 tubos de ensayo 12 rastrillos de vidrio
- 2- Se secaron cuidadosamente, las pipetas y rastrillos se envolvieron en papel periódico; se colocaron 90cc de agua destilada en cada uno de los erlenmeyers y se taparon con papel bond, se colocaron 9cc de agua destilada en cada tubo de ensayo.
- 3- Después de lavar y preparar el equipo se introdujo en el autoclave, este procedimiento tuvo un tiempo de 5 horas.

3.13. Procedimiento para el análisis de las muestras.

Después de esterilizar todo el equipo se continuó con el análisis de las muestras, las cuales se describen en los pasos siguientes:

- 1- Se pesaron 10gr de muestra de suelo para introducirlo en cada erlenmeyers que contenían 90cc de agua destilada, se tapó y rotuló con el número de la muestra de la que se extrajo, este proceso se repitió con el resto de los erlenmeyers, a estos se les denominó 10-1.
- 2- A 24 tubos de ensayo se les colocó 9cc de agua destilada luego se identificó con el número de las muestras de la cual fué extraída, de la muestra que contenía 10-1 (erlenmeyers), se extrajo 10ml de muestra y se le agrego a los 24 tubos de ensayo antes mencionados, se les denominó 10-2 ; el proceso para obtener la concentración de 10-3 fue similar al proceso efectuado anteriormente, la diferencia radica en que para este caso la muestra de 10ml se extrajo de la concentración 10-2 , denominada 10-3 , de esta última concentración obtenida se extrajo una cantidad de 10ml de muestra y se colocó en la caja petri previamente identificada con el número de la muestra, la solución colocada en la caja petri, fué dispersa homogéneamente en toda la superficie del agar; este proceso se repitió para las 24 muestras. Fig. 4
- 3 Al finalizar el desarrollo de esta actividad las cajas se dejaron en el laboratorio, el crecimiento de los hongos fue revisado diariamente, observándose la presencia o ausencia de los hongos fitopatógenos y *Trichoderma harzianum*.

Concentración 10-1 10-2 10-3 caja petri con PDA 10-3

Figura. 5: Proceso por el que se obtuvo la concentración deseada de hongo fitopatógenos.

El crecimiento de los hongos se comenzó a observar a partir de los 4 días pero no presentaba suficiente crecimiento para poder tomar muestra y hacer la identificación de los hongos encontrados; al octavo día se tomó muestra de los hongos encontrados, al momento de revisar las cajas se observó que las características y coloración de los hongos eran similares por lo tanto no se examinaron todas las cajas en el microscopio, en el cuadro 3 se describen los hongos encontrados en las cajas petri examinadas.

Cuadro. 3. Hongos encontrados en los análisis de las muestras.

Tratamientos por repeticiones	Hongos encontrados
-------------------------------	--------------------

T1R3	Trichoderma harzianum y Aspergillus sp.
------	---

T2R5	Trichoderma harzianum
------	-----------------------

T3R5	Trichoderma harzianum
------	-----------------------

T4R3	Trichoderma harzianum y Aspergillus sp.
------	---

3.14. Metodología estadística

Con el propósito de conocer cual de los tres tratamientos evaluados es el que proporciona el mejor nivel de control del Mal del Talluelo, fue necesario utilizar el análisis estadístico para realizar una comparación entre sí, por medio de cantidad de plantas atacadas por el Mal de Talluelo.

3.15. Factor en estudio.

El factor de estudio del ensayo fue la cantidad de plantas atacadas por el Mal de Talluelo con cuatro tratamientos, T1 (20gr/gl de agua), T2 (40gr/gl de agua), T3 (50gr/gl de agua) de Trichoderma harzianum (Bio-Tric® 15WP), T4 (testigo) utilizando seis repeticiones para cada uno.

3.16. Variables evaluadas.

Para determinar el nivel de control de Mal del Talluelo por medio de *Trichoderma harzianum* se tomaron cuenta las siguientes variables:

- 1- Numero de plantas atacadas por Mal del Talluelo y microorganismos encontrados.
- 2- Fecha de emergencia de las plantas.
- 3- Cantidad de plantas emergidas
- 4- Plantas sanas.

3.17. Diseño estadístico.

En este experimento se utilizó el diseño estadístico de bloques al azar con 4 tratamientos y 6 repeticiones.

Cada repetición consistió en 20 unidades experimentales (bolsas). Cada bolsa contenía una semilla de aguacate.

3.18. Modelo estadístico.

El modelo estadístico que se utilizó, es el diseño de bloques al azar, permite analizar la variación experimental que se expresa de la siguiente manera:

$$Y_{ij} = M + T_i + E_{ij}$$

Donde: Y_{ij} = Representa las características bajo estudio observado en las parcelas "j" donde se aplicó el tratamiento i.

M = Media experimental.

T_i = Error del tratamiento

E_{ij} = Error experimental (i,j).

$i = 1, 2, \dots$ = Número de tratamientos

$j = 1, 2, \dots$ = Número de repeticiones de cada tratamiento

IV- RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1. Plantas atacadas por Mal del Talluelo y microorganismo encontrado.

El ataque de Mal del Talluelo en las plántulas de aguacate no se manifestó, posiblemente se debe a que *Trichoderma harzianum* tuvo un efecto positivo en el control de hongos fitopatógenos aplicados a los tratamientos, ya que se encontró presente en todos los tratamientos evaluados.

En ninguno de los tratamientos se encontraron los hongos fitopatógenos inoculados (*Fusarium* sp, *Phyitium* sp, *Sclerotium* sp.). Este resultado se debió a la agresividad mostrada *T. harzianum* al no permitir el crecimiento de dichos hongos ya que su virulencia es tal que se encontró en muestras tomadas en los tratamientos testigos (sin inoculación con hongos fitopatógenos), lo cual demuestra que hubo un mal manejo en la distribución y en el manejo de los tratamientos ya que el hongo antagonista pudo desplazarse desde los tratamientos (T1, T2 y T3) hasta las repeticiones testigo (T4), esto demuestra la agresividad que posee *Trichoderma harzianum* para diseminarse en el medio donde se encuentre, lo cual coincide con lo expresado por Fintrac-Idea, 2003.

Otra hipótesis que manejamos es que los patógenos aplicados no tenían la agresividad para que se diera el mal del talluelo, ya que éstos fueron extraídos de

otros lugares con condiciones ambientales diferentes a las que se tenían en el lugar donde se desarrollo la investigación.

La infestación de los tratamientos testigos pudo darse en diferentes momentos de manejo del experimento: durante la fase de inoculación con los hongos fitopatógenos en el resto de tratamientos, durante los riegos que se realizaron periódicamente por medio del salpique o arrastre de partículas de suelo infestadas; durante la limpieza, ya que cuando esta labor se realizó no se percato de hacerlo por tratamiento, ya que lo mejor hubiese sido tratarlos por separado; durante los muestreos ya que hubo necesidad de verificar periódicamente la presencia de los hongos fitopatógenos siendo necesario entrar en contacto con el suelo, momento en el cual pudo haber infestación por medio de las herramientas utilizadas.

4.2. Fecha de emergencia de las plántulas

La fecha de emergencia de las plántulas no fue homogénea, ya que en el primer muestreo realizado a los 20 días después de la siembra solo el tratamiento 2 manifestó un porcentaje significativo de germinación; además los tratamientos uno y tres también habían iniciado la emergencia a diferencia del tratamiento testigo que no había iniciado dicho proceso (cuadro 5) esta variación se debió al efecto mostrado por *Trichoderma harzianum* quien posiblemente incidió que esas concentraciones aceleraran dicho proceso, afirmando lo planteado por Fintrac-Idea. 2003.

Es de mencionar que dentro del ensayo no se tenía semilla de una sola variedad ya que ésta fue recolectada de diferentes lugares y zonas del país.

A los 40 días después de la siembra se encontró que el tratamiento de 40 gr. /gln de agua (T2) mostró una mayor cantidad de plantas emergidas (79.16%), el resto de los tratamientos mostró un comportamiento parecido al tratamiento testigo que osciló entre 60% y 62.5% para los tratamiento y 63.3% para el testigo. La tendencia del proceso germinativo muestra como el tratamiento 2 sobresale a nivel de medias con respecto al resto de tratamientos (figura 5).

En general se considera que los porcentajes de emergencia obtenidos son bajos debido a que el tiempo en que se montó el ensayo, específicamente en el mes de abril, cuando la producción de aguacate es escasa en el país, esto dificultó la recolección de la semilla e hizo que esta práctica se realizara en diferentes lugares y

fechas; por lo tanto se recolectaron de diferentes variedades, esta variación se dio posiblemente por que la semilla no fue recolectada del mismo árbol, ya que según Calatrava, 1992. Existen variedades de aguacate cuyo tiempo de germinación de la semilla varía.

El período de tiempo en que se recolectó la semilla fue de cinco días.

4.3. Plantas emergidas.

Con respecto a la cantidad de plantas emergidas no hubo diferencia estadística significativa entre los tratamientos (cuadro 6), pero al observar y analizar los porcentajes de emergencia a los 40 días después de la siembra; el tratamiento de 40 g de Bio-Tric® 15WP por galón de agua (T2) mostró un mayor porcentaje de plantas emergidas (79.16%), mientras que en el resto de los tratamientos, no lograron el 64% de emergencia; al final del ensayo el tratamiento dos mostró una superioridad de 15.86% con el mas próximo que fue el testigo (T4). (cuadro 5).

Cuadro 4. Porcentaje de plántulas emergidas, para cada uno de los tratamientos en los diferentes muestreos realizados.

Tratamiento	Muestreo realizados en DDS*				
	20	25	30	35	40
T1	2.50	23.30	43.33	60.00	62.50
T2	12.50	40.83	62.50	75.83	79.16
T3	0.83	15.83	36.66	56.66	60.00
T4	0.00	25.00	35.00	57.75	63.30

*DDS: Días después de la siembra

Figura 5. Comportamiento de los diferentes tratamientos en el porcentaje de emergencia, desde los 20 hasta los 40 días después del transplante.

Cuadro 6. Cuadro de ANVA para la variable cantidad de plantas germinadas.

F. de V.	G.L	S.c	C.m	F.Cal	F.Tab 5%
Bloques	(6-1) = 5	0.67	0.13	0.87	2.90
Dosis	(4-1) = 3	1.49	0.49	3.27	3.29
EE	15	2.28	0.15		

4.4. Plantas sanas.

Todas las plántulas emergidas no presentaron síntomas de daños causados por enfermedades; las plantas se dejaron hasta que alcanzaron lignificación del tallo, el cual impide el daño que causa el mal del talluelo. Cuando se tomaron las muestras de suelo para analizarlas a nivel de laboratorio no se encontró presencia de los hongos patógeno en dicha muestras es por eso que en base a los resultados obtenidos en esta investigación se plantea lo siguiente:

Trichoderma harzianum es la especie de hongo antagonista que mejor resulta en el control de enfermedades fungosas, pero existen otras especies nativas que se encuentran en los suelos de forma natural, la diferencia entre especies es la efectividad y agresividad que poseen; en la investigación el trichoderma aplicado se encontró en todas las muestras tomadas incluso en el tratamiento testigo (sin *trichoderma harzianum*), con base a lo anterior se puede decir que existe la posibilidad de que *Trichoderma harzianum* infestó también a los testigos a través de los mecanismos señalados anteriormente, o que en el sustrato utilizado para el llenado de las bolsas ya existía alguna especie de trichoderma y por eso se encontró en todas las muestras; esto no es posible afirmarlo científicamente ya que no se realizó un análisis del sustrato utilizado para verificar la presencia o ausencia de hongos antagonistas como *Trichoderma* sp.

A nivel de laboratorio *trichoderma harzianum* presentó un alto poder de diseminación y se deben tener normas estrictas para evitar que llegue a lugares no deseados.

V- CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos y las condiciones en que se realizó la investigación se concluye lo siguiente:

- Los hongos fitopatógenos aplicados (*Fusarium* sp, *Phytium* sp, *Sclerotium* sp.), no produjeron la enfermedad de Mal del Talluelo en las plántulas de aguacate, pero si se encontró *Trichoderma harzianum*, por lo tanto se comprobó la agresividad de dicho hongo.
- No se encontró diferencia estadística significativa entre los tratamientos evaluados, pero al observar los porcentajes de emergencia, se demuestra la superioridad del tratamiento dos (40 g de Bio-Tric® 15WP por galón de agua), comparado con los otros tratamientos.
- *Trichoderma harzianum* es un hongo agresivo por lo tanto es necesario aislarlo y evitar que haya infestaciones, posiblemente esto es lo que sucedió en los tratamientos evaluados, ya que *Trichoderma harzianum* se encontró en todas las muestras, por lo tanto la enfermedad no se reporto en el ensayo.

VI- RECOMENDACIONES

- Esta comprobada la capacidad de diseminación que posee *Trichoderma harzianum* en donde existen las condiciones necesarias, por lo tanto se recomienda

que al trabajar con este hongo se tomen medidas estrictas para prevenir la infestación en lugares no deseados.

- Se recomienda la dosis de 40 g de Bio-Tric® 15WP por galón de agua, para hacer tratamientos de hongos fitopatógenos principalmente al sustrato antes de sembrar la semilla de aguacate, tomando en cuenta que *Trichoderma harzianum* actúa de forma preventiva y no curativa.
- para evitar posibles contaminaciones, se recomienda hacer un análisis previo en el lugar y sustrato a utilizar, para garantizar la ausencia de *Trichoderma harzianum* en el lugar donde se establezca este tipo de investigaciones.
- Evaluar la efectividad de *Trichoderma harzianum* en diferentes zonas del país para verificar su comportamiento.
- Hacer las aplicaciones de los hongos en horas frescas ya sea por la mañana o por la tarde.
- Transferir este tipo de tecnologías a los productores sobre el uso de productos biológicos para controlar hongos que atacan a los cultivos; la forma más común y sencilla de hacer esta transferencia es por medio de parcelas demostrativas con enfoque de escuelas de campo y mip.
 - Montar ensayos durante la época de cosecha de aguacate.
- Se recomienda usar semilla de una sola fuente o árbol, la cual se encuentre libre de plagas y enfermedades.

VII- BIBLIOGRAFÍA

Agrios, G.N, 2001. Fitopatología. México D.F. Ed. 2, Pág. 277-283.

Awad, R. 1993. Secado y formulación de *Trichoderma harzianum* para control biológico de pudrición de la raíz. Pontificia, Universidad Católica de Chile, Pág. 163.

- Barahona, C.M. 1982. Fruticultura General, Chile, Vol. N° I, Pág. 71-79.
- Calatrava, J. 1992. El aguacate. Tenerife México. Pág. 183.
- CENTA. 1986. Evaluación de veinte cultivares criollos de aguacate. Edic. N° 17 San Andrés, La Libertad. Pág. 16-19.
- CENTA-FRUTALAES. 2002. Boletín de Mercado del Aguacate. Nueva San Salvador, El Salvador. Vol. N° 4, Pág. 5-19.
- CENTA. 2003. Cultivo del Aguacate. San Andrés, La Libertad. Vol. N° 20. Pág. 23-24
- Echandi, E. 1971. Manual de Laboratorio para fitopatología General. México. Pág. 13-24.
- FINTRAC-IDEA. 2003. El uso de Trichoderma sp. Zamorano. Boletín N° 17.
- Frutales. 2001. Guía técnica del cultivo de aguacate. Nueva San Salvador. Vol. 10. Pág. 20-23.
- González, O. 2,001. Introducción a la fitopatología. México, Pág. 42-50.
- Guardado, R. 2005. Manejo Integrado de Enfermedades. Chiapas, México Vol. 1.
- Harman, U. 2001. Fitopatología, Guía práctica de reconocimiento de patógenos. Morelia, México, Pág. 98.
- Hernández, A. B. 1996. Fitopatología. Laredo México, Pág. 20-22.
- MAG. 2002. Mercado del Aguacate. Sitio del Niño, La Libertad, El Salvador, Pág. 12.
- Ruehle, G.D. 1974. La industria del Aguacate. Universidad de Florida, EUA. Pág. 75-89.

SNET. 2006 (Sistema Nacional de Estudios Territoriales) Quezaltepeque; La Libertad; El Salvador.

Sthefanova, N.M; Sandoval, R.L. 1995. Efectividad de biopreparados de *Trichoderma* spp en le control de hongos fitopatógenos del suelo. La Habana, Cuba. Instituto de Sanidad Vegetal (INISAV).

Wolfe, H.S. 1969. Cultivo del Palto en el Perú. Ed. MAP. Estación experimental Agrícola La Molina, Perú. Pág. N° 35-37.

VIII- ANEXOS

8.1. Cuadros.

Cuadro A-1. Presupuesto que se utilizó para el desarrollo de la investigación.

MATERIALES Y EQUIPO	UNIDAD	CANTIDAD	PREC/UNI	TOTAL
Bio – Tric® 15WP	Kg.	¼	\$18.00	\$18.00

Patógenos	Espacies.	4	\$10.00	\$40.00
Semillas	C/U	500	\$0.05	\$25.00
Tierra m.3	2	\$30.00	\$60.00	
Bomba rociadora.	Uso	1	-	-
azadones	Uso	1	-	-
Cumas	Uso	3	-	-
Palas	Uso	3	-	-
Manguera	Uso	1	-	-
Bolsas polietileno	C/U	500	\$0.04	\$20.00
Transporte de materiales y equipo	Viajes	2	\$20.00	\$40.00
Transporte de los tesistas	Viajes	90	\$6.00	\$180.00
Impresiones del documento	C/U	8	\$6.00	\$48.00
Tiraje del documento final	C/U	9	\$11	\$99.00
Fotocopias	C/U	100	\$0.03	\$3.00
Estadía	Días	65	\$6.00	\$390.00
Uso de computadora	Horas	20	\$0.75	\$15.00
Uso de cámara digital y otros	C/V	6	\$6.00	\$36.00
Lactofenol (colorante para hongos)	ml	50	\$12.00	\$12.00
Laminillas	C/U	24	\$0.80	\$19.20
Microscopio	Uso	1	-	-
Mechero	Uso	3	-	-
Asas	Uso	3	-	-
Gabachas	C/U	3	\$15.00	\$45.00
Alcohol 90% L	4	\$2.75	\$11.00	
Rastrillos	Uso	12	-	-
Agitador eléctrico	Uso	1	-	-
Autoclave	Uso	6	-	-
Tubos de ensayo con gradillas	Uso	80	-	-
Pipetas	Uso	80	-	-
Probetas	Uso	24	-	-
Barriles	Uso	3	-	-
Cubetas	Uso	6	-	-
Agua destituidas	Uso	1 ½	\$16.55	\$16.55
PDA	MI	250	\$0.48	\$120.00

Cajas petri	Uso	72	-	-
Cuadernos	C/U	2	\$1.75	\$3.50
Papel bond	Resma	½	\$3.00	\$3.00
Alcohol al 70%	L	1	\$2.25	\$2.25
Ácido láctico (ml)	Uso	20	\$6.00	\$6.00
Arroz	L	6		
Botellas de vidrio.	Uso	24	\$0.25	\$6.00
TOTAL				\$1,725.00

8.2. Figuras.

Fig. A-1 Planta atacada por hongos. Fig. A-2 Aguacate en fincas de café.

Fig. A-3 Planta dañada por malas
prácticas de manejo de
viveros.

Fig. A-4 Croquis del lugar donde se desarrollo el montaje del ensayo.

Fig. A-5 Distribución de los tratamientos evaluados.

Fig. A-6 Preparación de PDA.

Fig. A-7 Asesoría técnica brindada por
Investigador de BIOTECNOLOGIA.
S.A. DE C.V.