



# Universidad del mar Campus Puerto Escondido

Clasificación de una nueva cepa de *Trichoderma* del clado  
Brevicompectum (fungi: Ascomycota) y caracterización  
inicial de su efecto en plantas

## TESIS

Que para obtener el Título Profesional  
de Licenciada en Biología

Presenta

Xunaxi Juquila Moreno López

Director

Dr. Luis David Maldonado Bonilla

Puerto Escondido, Oaxaca 2023

## RESUMEN

El género *Trichoderma* posee más de 300 especies divididas en 8 clados. Es grupo de gran relevancia y ampliamente estudiado debido a sus características, entre ellas el micoparasitismo, que permiten generar productos de control biológico, además de que algunas pueden promover el crecimiento vegetal. A pesar de su gran diversidad, en México no hay representatividad de todos los clados. Considerando las características morfológicas y algunos marcadores filogenéticos como el *ITS*, *tef1* y *rpb2*, en este trabajo se determinó una nueva cepa de *T. brevicompactum* denominada como 2IG2102. Esta cepa es antagónica sobre la cepa M5 de *Fusarium oxysporum* y acelera la germinación de semillas de jitomate y pepino. Además, atrofia el desarrollo postgerminativo de plantas de jitomate y es inocua en pepino. Al secuenciar y verificar la expresión del gen *tri5* se sugiere que los tricotecenos son moléculas que sintetiza este hongo para su interacción con otros organismos. La presente tesis caracteriza por primera vez una cepa de *Trichoderma* del clado Brevicompactum aislada en México, con potencial de producción de tricotecenos.

**Palabras clave:** antagonismo, control biológico, marcadores filogenéticos, micoparasitismo, *Trichoderma*, tricotecenos.

## ABSTRACT

The *Trichoderma* genus possesses over 300 species distributed into 8 clades. Due to its features, it is a wide studied group, among such features, the mycoparasitism allows the generation of biological control products, moreover, some of them promote plant growth. In spite of the diversity, there is no representativity of every clade in Mexico. Considering the morphological characteristics and some phylogenetic markers such as *ITS*, *tef1* and *rpb2*, the new strain of *Trichoderma brevicompactum* 2IG2102 was determined in this work. The strain is antagonistic towards the strain (M5) of *Fusarium oxysporum*, and accelerates the germination of tomato and cucumber seeds. Furthermore, it stunts the post-germinative development of tomato plants, but it is innocuous in cucumber. By sequencing and corroboration of the *tri5* gene expression, we suggest that trichothecenes are molecules that this fungus synthesizes for its interaction with other organisms. This thesis characterizes by first time, a strain of the Brevicompactum clade isolated in Mexico with potential for trichothecene production.

**Keywords:** Antagonism, biological control, mycoparasitism, phylogenetic markers, *Trichoderma*, trichothecenes.

## DEDICATORIAS

El presente trabajo de Tesis la dedico con todo mi amor y cariño:

A ti DIOS por haberme dado la vida y permitirme el haber llegado hasta este momento tan importante de mi formación profesional.

A mi querida y apreciada madre Sonia, por ser el pilar más importante que me ha acompañado durante todo mi trayecto estudiantil y de vida, que con su demostración de madre ejemplar, me ha enseñado a no desfallecer ni rendirme ante nada y siempre perseverar a través de sus sabios consejos, ha sabido formarme con buenos sentimientos, hábitos y valores, lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles.

A mis hermanas Perla y Cielo, a quienes quiero y admiro mucho, por siempre estar junto a mí brindándome su apoyo, muchas veces poniéndose en el papel de madres y amigas.

A mi abuelo Cecilio desde el cielo, por haber sido un padre para mí, que a pesar de haberlo perdido en esta etapa universitaria, siento que estás conmigo siempre, sé que este momento hubiera sido tan especial para ti como lo es para mí.

A mi familia en general, porque me han brindado su apoyo incondicional y por compartir conmigo buenos y malos momentos.

A mi enamorado Iván por brindarme la fuerza que muchas veces me hizo falta y animarme siempre a salir adelante y superarme, por apoyarme y disfrutar mis triunfos como si fueran suyos.

A célula mi perrita por recibirme siempre con alegría, llenarme de felicidad, acompañarme en mis desvelos y en esos momentos de soledad, por enseñarme a disfrutar lo simple de la vida.

## AGRADECIMIENTOS

En primer lugar doy infinitamente gracias a Dios, por haberme dado fuerza y valor para culminar esta etapa de mi vida, por bendecirme siempre, por no soltar mi mano y por acompañarme todos los días.

Agradezco a mi amada madre, porque sin ella nada de esto hubiera sido posible, por haberme brindado su apoyo incondicional y confianza, por darme motivación, apoyo moral y económico, por esforzarse día con día para sacarme adelante. Sin duda alguna, en el trayecto de mi vida me ha demostrado su amor, corrigiendo mis faltas y celebrando mis triunfos.

A mis queridas hermanas, por ser mis cómplices de vida, por su apoyo, sus risas, por motivarme siempre a seguir adelante y que con sus consejos me ha ayudado a afrontar los retos que se han presentado a lo largo de mi vida.

A mi abuelo, por haber sido esa figura paterna en mi vida, por quererme y cuidarme como a una hija. Aunque hoy no está conmigo, siempre lo he sentido presente y sé que está orgulloso de la persona en la cual me he convertido.

Gracias a mi Alma Mater, la Universidad del Mar campus Puerto Escondido Oaxaca, por haberme aceptado como parte de ella y abierto las puertas de su seno científico para poder formarme como Licenciada en Biología, por haberme brindado tantas oportunidades y enriquecerme en conocimiento por medio de todas las personas que fueron partícipes de este desarrollo, ya sea de forma directa o indirecta, gracias a todos ustedes por hacer su aporte, que este preciso día se vería reflejado en la culminación de mi paso por la universidad.

Al laboratorio de genética ubicado en las instalaciones de la Universidad, por ser el lugar en donde se llevó a cabo la realización de la presente tesis.

A mi director de tesis el Dr. Luis David Maldonado Bonilla, sin usted y sus virtudes, su paciencia y constancia, este trabajo no lo hubiese logrado tan fácil. Sus consejos fueron

siempre útiles cuando no salían de mi pensamiento las ideas para escribir lo que hoy he logrado. Usted formó parte importante de esta historia con sus aportes profesionales que lo caracterizan. Muchas gracias por sus múltiples palabras de aliento, cuando más las necesite; por estar ahí cuando mis horas de trabajo se hacían confusas. Gracias por sus orientaciones.

A mis revisores de tesis, Dr. José Luís Villarruel Ordaz, Dr. Juan Manuel Villa Hernández, Dr. Rolando Cardeña López y Dra. Erika Antúnez Argüelles por su tiempo y por todas sus aportaciones y asesorías recibidas para la realización de esta tesis, les reconozco todas las enseñanzas que recibí de cada uno de ustedes, así como las contribuciones que han hecho para que esta tesis llegue a su culminación.

Al Dr. José Luís Villarruel Ordaz nuevamente por brindarme su tiempo y conocimiento sobre hongos para realizar parte de mi trabajo apoyándome en la Microscopía óptica. A la M.C. Ana Claudia Sánchez Espinosa por su gran apoyo al proporcionarme suelo para el crecimiento de mis plántulas.

A mis queridos profesores investigadores, por todas sus aportaciones, por sus enseñanzas, conocimientos compartidos, por su paciencia, tiempo, regaños, alegrías, pero sobre todo por brindarme un pedacito de su vida que me la llevo con todo cariño en mi mente y corazón. Gracias por haberme preparado para dar el 110% de mí en todos los aspectos y darme armas para defenderme en el mundo real, les recuerdo con mucho cariño y profunda admiración.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el financiamiento al proyecto otorgado al Dr. Luis David Maldonado Bonilla y titulado “Explorando la dinámica de la diversidad fúngica de la costa de Oaxaca”, CUP 2IG2102 (Esta tesis fue desarrollada como parte de este proyecto).

A todos mis compañeros y amigos de la Universidad, los cuales estimo y respeto profundamente, gracias por esas noches de desvelos divertidas y no tan divertidas, porque sé que con ustedes pasé el mayor tiempo y que de ustedes aprendí muchas cosas,

que a pesar de los buenos y no tan buenos momentos vividos les doy las gracias por regalarme su sinceridad y tiempo, gracias por reír conmigo y gracias por haber estado ahí para celebrar cada uno de nuestros logros.

Una vez más, gracias a todos los que me brindaron su ayuda en este proyecto de tesis.

Infinitamente gracias.

## ÍNDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	1
1.1 El género <i>Trichoderma</i> Pers.....	1
1.2 Taxonomía de <i>Trichoderma</i> .....	2
1.3 Criterios moleculares para la identificación de las especies de <i>Trichoderma</i> .....	3
1.4 <i>Trichoderma</i> spp. como biocontrolador .....	5
1.5 <i>Trichoderma</i> spp. y su interacción con plantas .....	6
<b>II. ANTECEDENTES</b> .....	8
2.1 Clado Brevicompectum actualmente clado 6.....	8
2.2 Tricotecenos.....	9
2.3 Biosíntesis de tricotecenos .....	11
<b>III. JUSTIFICACIÓN DEL ESTUDIO</b> .....	14
<b>IV. OBJETIVOS</b> .....	15
4.1 Objetivo general.....	15
4.2 Objetivos específicos .....	15
<b>V. HIPÓTESIS</b> .....	16
<b>VI. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	17
6.1 Selección y aislamiento de la cepa 2IG2102.....	17
6.2 Observaciones al microscopio óptico de muestras de micelio. ....	17
6.3 Amplificación y secuenciación capilar del <i>ITS</i> , <i>tef1</i> y <i>rpb2</i> . ....	18
6.4 Análisis de las secuencias <i>ITS</i> , <i>tef1</i> y <i>rpb2</i> . ....	19
6.5 Pruebas de confrontación entre la cepa 2IG2102 y la cepa M5.....	20
6.5.1 Pruebas de confrontación directas .....	20
6.5.2 Pruebas de confrontación indirecta.....	22



6.6 Amplificación y secuenciación del gen <i>tri5</i> .....	22
6.7 Análisis de la secuencia del gen <i>tri5</i> .....	23
6.8 Análisis de la expresión del gen <i>tri5</i> .....	23
6.9 Evaluación del efecto de la cepa 2IG2102 en plantas de jitomate y pepino.....	25
6.9.1 Desinfección de semillas .....	25
6.9.2 Inoculación de conidios de la cepa 2IG2102 en semillas .....	25
6.9.3 Inoculación en raíz de plantas completas.....	26
<b>VII. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>27</b>
7.1 Morfología de 2IG2102.....	27
7.2 Identificación molecular de la cepa 2IG2102 basado en secuencias de código de barras de ADN.....	29
7.3 Evaluación del poder antagónico de 2IG2102.....	33
7.3.1 Ensayos de antagonismo directo <i>in vitro</i> .....	33
7.3.2 Ensayo de antagonismo indirecto .....	37
7.4 El gen <i>tri5</i> de 2IG2102 codifica una tricodieno sintasa funcional. ....	38
7.5 Expresión del gen <i>tri5</i> en el micelio de la cepa 2IG2102.....	42
7.6 <i>Tb</i> de la cepa 2IG2102 altera germinación y desarrollo postgerminativo de 2 especies vegetales .....	44
<b>VIII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>53</b>
<b>IX. PERSPECTIVAS.....</b>	<b>54</b>
<b>X. LITERATURA CITADA .....</b>	<b>55</b>
<b>XI. ANEXOS .....</b>	<b>65</b>
A.1 Secuencias obtenidas en este trabajo.....	65