

Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio en Ciencias Agropecuarias
Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte
Doctorado en Ciencias Agropecuarias



TESIS:

“Identificación de hongos asociados a enfermedades del duraznero (*Prunus persica* L.) y efectividad biológica de *Trichoderma* spp. para su control”

**Que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Agropecuarias**

PRESENTA:

M.C. ÁNGEL ROSARIO CEBALLOS CHÁVEZ

DIRECTORA DE TESIS:

DRA. BLANCA ELVIRA LÓPEZ VALENZUELA

CO-DIRECTOR DE TESIS:

DR. FERNANDO ALBERTO VALENZUELA ESCOBOZA

ASESORES:

DRA. GLENDA JUDITH LIZÁRRAGA SÁNCHEZ

DR. EVERARDO LÓPEZ BAUTISTA

DR. QUINTÍN ARMANDO AYALA ARMENTA



Dirección General de Bibliotecas
Ciudad Universitaria
Av. de las Américas y Blvd. Universitarios
C. P. 80010 Culiacán, Sinaloa, México.
Tel. (667) 713 78 32 y 712 50 57
dgbuas@uas.edu.mx

UAS-Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional Buelna

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.

Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial
Compartir Igual, 4.0 Internacional



DEDICATORIA

Esta tesis está dedicada en memoria de mi tía Rufina Ceballos Chaparro (†),
quién me impulsó en el campo del estudio y durante varios años me facilitó las
cosas compartiendo su hogar conmigo cuando necesité un lugar para hospedarme,
siempre confió en mí compartiendo conmigo su fuerza y fe puesta en Dios con
actitud siempre positiva durante todos sus últimos años de su vida. Su ejemplo me
mantuvo soñando cuando quise rendirme, sin duda alguna fue el pilar para que yo
continuara con mis estudios siempre estuvo ahí cuando la necesité y buscaba
alternativas a los problemas; ella era la persona que siempre quiso verme terminar
mi etapa estudiantil universitaria pero no logró verlo, fue quien me apoyó hasta el
último momento de su vida para que yo fuera un hombre de bien; Tu cariño y tu
carisma siempre serán recordados, alegraste mis días, mis mañanas, fuiste el alma
de mis batallas. Cuando la dificultad tocaba la puerta, tú la despedías con tu gran
sonrisa de esperanza. Ella es la persona a la que debo todos mis respetos y más
infinita admiración un abrazo y un beso hasta el cielo, no me queda más que
decirte gracias por lo que fuiste, eres y serás en mi futuro una persona muy especial
que siempre te recordare en lo que me quede de vida.



AGRADECIMIENTOS

Agradezco primeramente a **Dios** por bendecirme la vida, por guiarme a lo largo de mi existencia, ser el apoyo y fortaleza en aquellos momentos de dificultad y de debilidad, por permitirme culminar una nueva etapa de mi desarrollo como profesional y llenarme de nuevas experiencias que enriquecen mi vida.

A mis padres **Aureliano Ceballos Chaparro y María Irene Chávez Ruiz** por apoyarme en esta decisión de continuar con mis estudios de un posgrado a pesar de las dificultades que se me presentaron, por ser guía a lo largo de este camino estudiantil, por compartir mis horas grises, mis momentos felices, ambiciones, sueños e inquietudes y ser parte fundamental en mis actividades que se me presentan día con día. Gracias por ayudarme a salir adelante en la adversidad, por hacer de mi lo que ahora soy.

Agradezco a mi hermana **Karina Ceballos Chávez**, que siempre ha estado brindándome su apoyo con sus risas, regaños y por ser guía de este largo caminar llamada vida de estudiantes, porque a ser más que hermanos de sangre, hemos formado un lazo de la amistad más pura y sincera, gracias por todo hermana.

A la **Universidad Autónoma de Sinaloa, Colegio de Ciencias Agropecuarias y Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte** por darme la oportunidad de continuar con mi formación profesional en el Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias. El gran apoyo a mi directora de tesis de la Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte **Dra. Blanca Elvira López Valenzuela**, por ser el sostén académico durante mi estancia dentro del programa educativo, por su gran generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia científica en un marco de confianza, afecto y amistad, fundamentales para la concreción de este trabajo.

Así como a cada uno de los miembros de mi comité evaluador principalmente **Dra. Glenda Judith Lizárraga Sánchez, Dr. Fernando Alberto Valenzuela Escoboza, Dr. Everardo López Bautista y Dr. Quintín Armando Ayala Armenta**, por su gran aprendizaje dentro y fuera del programa lo que sin duda alguna fue parte fundamental para que este proyecto se llevara a cabo.

El gran apoyo a los elementos que conforman la **Universidad Tecnológica de la Tarahumara, Universidad Tecnológica de la Babicora, Centro de Investigación de Recursos Naturales (CIReNa), Unidad Villa López Chihuahua, Unidad Tecnológica Fitosanitaria Integral (UTEFI) y la Universidad Autónoma de Occidente**, por permitirme hacer uso de las instalaciones en tiempos extra clase, durante el programa educativo, así como también por su gran generosidad al brindarme la oportunidad de recurrir a su capacidad y experiencia en un marco de confianza, afecto y amistad, durante este proyecto.

Agradezco a la **Dra. Diana Miriam Mc caughey Espinoza, M.C. Selene Gerardo Lugo, M.C. Araceli Ruiz Fierro y M.C. Xitlalic Castillo Ruelas** por su apoyo incondicional en la escritura de artículos e información de índole científica, así como sus palabras de aliento para que este proyecto se realizará en tiempo y forma.

A los elementos de coordinación de posgrado **Dra. Soila M. Gaxiola Camacho, Dr. Fernando Alberto Valenzuela Escoboza, MVZ. Gabriela Juárez y Lic. Alberto Rojo** por todo su apoyo y paciencia en cada trámite o duda, aunque eso implicará que fuera después de horario laboral.

A mis amigos **Mtra. Leidy E. Chávez García, Lic. Zaira Moreno Lazos, Ing. Alba M. Rodríguez Molina, Ing. Rogelio Estrada Merino, M.E. Brenda Guaderrama Villagrán, Lic. Ramiro Lujan Holguín, Lic. Omar Rascón Esparza e Ing. Oscar Sánchez Villalobos** por su gran apoyo incondicional, amistad, comprensión y compañía durante mi estancia en la realización de análisis experimental y que hicieron que mis días fueran menos pesados, a pesar de no conocerlas se convirtieron en parte de mi vida diaria ganándose un buen lugar en mi corazón.

A mis compañeros y amigos de generación **Karen Rábago Zavala e Iris Alejandrina González Molotla** gracias por su compañerismo, por su apoyo y por cada risa, cada regaño que hizo más amena esta aventura de ser estudiantes, las aprecio mucho y espero que esta amistad continúe por muchos años más.

A todas las personas que no mencioné, pero no menos importantes que permitieron que este proyecto se llevara a cabo, les doy las más infinitas gracias por todo su gran apoyo.

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	ix
ÍNDICE DE FIGURAS	x
RESUMEN	xvii
ABSTRACT.....	xix
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
1.2.1. Antecedentes de <i>Prunus persica</i> L.....	3
1.2.2. <i>Prunus persica</i> L	5
1.2.3. Descripción botánica	5
1.2.4. Clasificación taxonómica del Durazno.....	7
1.2.5. Variedades	7
1.2.6. Información nutrimental.....	8
Figura 2. Corte interior y fisiología del fruto del duraznero variedad prisco.....	8
1.2.7. Plagas y enfermedades.....	8
1.2.8. <i>Monilinia</i> spp.	11
1.2.8.1. Taxonomía del género <i>Monilinia</i> spp.	12
1.2.8.2. Características morfológicas.....	12
1.2.8.3. Ciclo biológico.....	14
1.2.9. <i>Colletotrichum</i> spp.....	15
1.2.9.1. Taxonomía del género <i>Colletotrichum</i> spp.	17
1.2.9.2. Características morfológicas.....	17
1.2.9.3. Ciclo biológico.....	18
1.2.10. <i>Fusarium</i> spp.....	20
1.2.10.1. Taxonomía del género <i>Fusarium</i> spp.	21
1.2.10.2. Características morfológicas.....	21
1.2.10.3. Ciclo biológico.....	24
1.2.11. <i>Epicoccum</i> spp.	25
1.2.11.1. Taxonomía del género <i>Epicoccum</i> spp.....	27
1.2.11.2. Características morfológicas.....	28
1.2.11.3. Ciclo biológico.....	31
1.2.12. <i>Alternaria</i> spp.	32

1.2.12.1. Taxonomía del género <i>Alternaria</i> spp.....	33
1.2.12.2. Características morfológicas.....	33
1.2.12.3. Ciclo biológico.....	34
1.2.13. Hongos foliares en poscosecha	36
1.2.14 Métodos de control para fitopatógenos foliares.....	36
1.2.14.1 Control químico.....	36
1.2.14.2. Prácticas culturales.....	36
1.2.14.3 Control biológico	37
1.2.15. El género <i>Trichoderma</i> spp. como especie antagónica de hongos fitopatógenos foliares	37
1.2.15.1. Clasificación taxonómica	38
1.2.15.2. Características generales del género <i>Trichoderma</i> spp.	39
1.2.15.3. Ciclo de vida	41
1.3. JUSTIFICACIÓN.....	42
1.4. HIPÓTESIS.....	43
1.5. OBJETIVO GENERAL.....	44
1.5.1. Objetivos específicos	44
1.6 ESTRATEGIA GENERAL	45
CAPÍTULO 2. IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN ANTAGÓNICA <i>in vitro</i> DE CEPAS DE <i>Trichoderma</i> spp. NATIVAS CONTRA FITOPATÓGENOS FOLIARES²	46
RESUMEN.....	46
ABSTRACT.....	47
2.1. INTRODUCCIÓN	48
2.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	50
2.2.1. Obtención de muestras vegetales para el aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp. ..	50
2.2.2. Aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp.....	51
2.2.3. Caracterización morfológica.....	52
2.2.4. Identificación molecular.....	52
2.2.4.1. Extracción de ADN, PCR y secuenciación.	52
2.2.5. Análisis filogenético.....	53
2.2.6. Cultivos duales.....	53
2.2.7. Análisis estadístico.....	54
2.3. RESULTADOS	55
2.3.1. Caracterización morfológica.....	55

2.3.2. Identificación molecular.....	56
2.3.2. Biocontrol de <i>Trichoderma asperelloides</i> en fitopatógenos.....	57
2.4. DISCUSIÓN.....	60
2.5. CONCLUSIONES.....	62
CAPITULO 3. DETERMINACIÓN DEL RANGO DE HOSPEDANTES EN FRUTALES DE IMPORTANCIA ECONÓMICA ASOCIADOS A FITOPATÓGENOS FOLIARES DEL DURAZNERO (<i>Prunus persica</i> L)¹.....	63
RESUMEN.....	63
ABSTRACT.....	64
3.1. INTRODUCCIÓN.....	65
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	67
3.2.1. Sitios de muestreo.....	67
3.2.2. Preparación del material vegetativo.....	68
3.2.3. Pruebas de patogenicidad.....	68
3.2.4. Valoración de la severidad de las enfermedades en frutos.....	69
3.2.5. Valoración de la severidad de las enfermedades en hojas de variedades de durazno.....	70
3.2.6. Incidencia de las enfermedades en hoja de variedades de durazno.....	71
3.2.7. Análisis estadístico.....	71
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	72
3.3.1. Prueba de patogenicidad en frutales.....	72
3.3.2. Prueba de patogenicidad en hojas.....	76
3.4. CONCLUSIONES.....	80
CAPITULO 4. REPRODUCCIÓN CONIDIAL DE <i>Trichoderma asperelloides</i> EN MEDIOS DE CULTIVO Y SUSTRATOS ORGÁNICOS³.....	81
RESUMEN.....	81
ABSTRACT.....	82
4.1. INTRODUCCIÓN.....	83
4.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	85
4.2.1. Lugar de estudio.....	85
4.2.2. Obtención de aislados.....	85
4.2.3. Obtención de sustratos.....	85
4.2.4. Preparación de medios de cultivo.....	85
4.2.5. Preparación de los sustratos.....	86
4.2.6. Inoculación de <i>Trichoderma asperelloides</i>	87

4.2.7. Conteo de conidios a través de diluciones seriadas.....	88
4.2.8. Análisis estadístico.....	88
4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	89
4.3.1. Concentración conidial de <i>Trichoderma asperelloides</i> en medios de cultivo.....	89
4.3.2. Análisis cuantitativo en los sustratos orgánicos comerciales sobre el crecimiento micelial de <i>Trichoderma asperelloides</i>	93
4.4. CONCLUSIONES	96
CAPÍTULO 5. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE HONGOS FITOPATÓGENOS FOLIARES ASOCIADOS AL CULTIVO DEL DURAZNERO (<i>Prunus persica</i> L) Y EFECTO DE CONTROL BIOLÓGICO⁴.....	97
RESUMEN.....	97
ABSTRACT.....	98
5.1. INTRODUCCIÓN.....	99
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	100
5.2.1. Recolección de muestras.....	100
5.2.2. Aislamiento y purificación.....	100
5.2.3. Caracterización morfológica y tasa de crecimiento micelial.....	101
5.2.4. Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación.....	102
5.2.5. Análisis filogenéticos.....	102
5.2.6. Confrontación en planta.....	103
5.2.7. Valoración de las variables de respuesta.....	103
5.2.8. Análisis estadístico.....	105
5.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	106
5.3.1. Aislamientos de hongos.....	106
5.3.2. Características Morfológicas y Culturales.....	107
5.3.3. Filogenia.....	110
5.3.4. Confrontación en plantas de un año de edad.....	112
5.3.4.1. Diámetro de hoja.....	112
5.3.3.2. Longitud de hoja.....	112
5.3.3.3. Altura.....	113
5.3.3.4. Severidad.....	114
5.3.3.5. Incidencia.....	115
5.4. CONCLUSIONES	116

CAPÍTULO 6. <i>Epicoccum</i> spp. y <i>Alternaria</i> spp. AGENTES FITOPATÓGENOS DEL CULTIVO DEL DURAZNERO (<i>Prunus persica</i> L) ASOCIADOS AL CONTROL BIOLÓGICO⁵.	117
RESUMEN.....	117
ABSTRACT.....	118
6.1. INTRODUCCIÓN.....	119
6.2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	120
6.2.1. Recolección de muestras.....	120
6.2.2. Aislamiento y purificación.....	120
6.2.3. Caracterización morfológica y tasa de crecimiento micelial.	121
6.2.4. Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación.	121
6.2.5. Análisis filogenéticos.....	122
6.2.6. Confrontación en planta.....	123
6.2.7. Valoración de las variables de respuesta.....	123
6.2.8. Análisis estadístico.....	124
6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	125
6.3.1. Aislamientos de hongos.....	125
6.3.2. Características Morfológicas y Culturales.....	126
6.3.3. Filogenia.....	128
6.3.4. Confrontación en plantas de un año de edad.....	130
6.3.4.1. Diámetro de hoja.....	130
6.3.4.2. Longitud de hoja.....	131
6.3.4.3. Altura.....	131
6.3.4.4. Severidad.....	132
6.3.4.5. Incidencia.....	134
6.4. CONCLUSIONES.....	135
CAPITULO 7. CONCLUSIONES GENERALES.....	136
CAPITULO 8. LITERATURA CITADA.....	138
CAPÍTULO 9. ANEXOS.....	169

ÍNDICE DE CUADROS

		pág.
Cuadro 1	Comparaciones de las diferencias morfológicas entre <i>Monilinia</i> spp.....	13
Cuadro 2	Ubicación de puntos de muestreo donde se recolectó el material vegetativo de raíz de cultivares, pertenecientes a los municipios de Guachochi y Morelos en Chihuahua.	50
Cuadro 3	Ubicación de sitios de recolección frutos y hojas en diferentes municipios del estado de Chihuahua, México...	67
Cuadro 4	Tratamientos para evaluar pruebas de patogenicidad en frutos de manzana, fresa, ciruela, pera y membrillo y en hojas de variedades amarillo, prisco y blanco de durazno.	69
Cuadro 5	Escala de severidad de la calidad en frutos postcosecha.	70
Cuadro 6	Escala de severidad en hoja desprendida de variedades de durazno.....	70
Cuadro 7	Porcentaje de incidencia en hoja desprendida de variedades de durazno.....	71
Cuadro 8	Valores máximos obtenidos en frutales por género de fitopatógenos foliares.....	72
Cuadro 9	Valores mínimos obtenidos en frutales por género de fitopatógenos foliares.....	75
Cuadro 10	Valores de severidad en variedades amarillo, prisco y blanco.....	77
Cuadro 11	Concentración conidial de <i>Trichoderma asperelloides</i> y pureza de sustratos comerciales para el uso agrícola.	94
Cuadro 12	Ubicación de sitios de recolección frutos y hojas sintomáticas en diferentes municipios del estado de Chihuahua, México.....	100
Cuadro 13	Escala de severidad en planta de durazno variedad prisco.....	104
Cuadro 14	Porcentaje de incidencia en hoja.....	104
Cuadro 15	Porcentaje de severidad en hoja.....	114
Cuadro 16	Ubicación de sitios de recolección frutos y hojas sintomáticas en diferentes municipios del estado de Chihuahua, México.....	120
Cuadro 17	Escala de severidad en planta de durazno variedad prisco.....	123
Cuadro 18	Porcentaje de incidencia en hoja.....	124
Cuadro 19	Porcentaje de severidad en hoja.....	133

ÍNDICE DE FIGURAS

		pág.
Figura 1	Fruto, hoja y flor de <i>Prunus persica</i> L. originarios del sur de Chihuahua.....	6
Figura 2	Corte interior y fisiología del fruto del duraznero variedad prisco.....	8
Figura 3	Síntomas en plantas del duraznero en el sur de Chihuahua. A) Hoja con formación de lesiones necroticas, B) Momificación en fruto caído, C) Flacidez y pudrición en planta y D) Gomosis en la planta del tallo variedad amarilla.....	10
Figura 4	Síntomas de campo en hospedante natural en frutos durazno de <i>Monilinia fructicola</i> (A1 y B1), <i>Monilia mumecola</i> (C1) y <i>Monilia yunnanensis</i> (D1)	11
Figura 5	Morfología de colonias, morfología de conidios y patrones de germinación de <i>Monilinia fructicola</i> de níspero (A1–A3) y <i>M. fructicola</i> (B1–B3), <i>Monilia mumecola</i> (C1–C3) y <i>Monilia yunnanensis</i> (D1–D3) de melocotón.....	12
Figura 6	Ciclo de la enfermedad de la podredumbre parda de frutos de hueso causada por <i>Monilinia fructicola</i>	14
Figura 7	Síntomas de la antracnosis del durazno en frutos y hojas. (a–f) Varios síntomas en frutos de <i>Prunus persica</i> (a–c, f) y <i>P. persica</i> var. <i>nucipersica</i> (d, e): (a,c–e) lesiones en frutos y (b,f) lesiones en frutos maduros de durazno; (g,h) síntomas de antracnosis en las hojas; (i) frutos jóvenes momificados; (j) ramita infectada.....	16
Figura 8	Características morfológicas de las principales especies de <i>Colletotrichum</i> en México. A) Conidios asexuales de <i>C. truncatum</i> ; B) Conidios asexuales de <i>C. gloeosporioides</i> ; C) Morfología colonial de <i>C. truncatum</i> en PDA; D) Morfología colonial de <i>C. gloeosporioides</i> en PDA; E) Morfología colonial de <i>Colletotrichum</i> sp. aislada de naranja.....	18
Figura 9	Ciclo de enfermedad de las enfermedades de antracnosis causadas por <i>Colletotrichum</i> sp.....	19
Figura 10	Síntomas de pudrición de frutos en duraznos (a) Se observaron síntomas de pudrición en frutos de durazno en un huerto; (b) prueba de patogenicidad en frutos de melocotón heridos con tapones de micelio (inoculados) que muestran síntomas 4 y 10 días después de la inoculación.....	20

Figura 11	Características morfológicas básicas de los hongos fusarioideos. A. Formas macroconidiales. A1. Esbelto sin curvatura significativa. A2. Curva con paredes paralelas. A3. Desigualmente curvo. A4. Más ancho en la parte media. A5. Más ancho en el tercio apical, en forma de cuña. A6. Más ancho en la porción basal. A7. Irregularmente claviformes e hinchados. A8. Alargado, en forma de látigo. A9. Distintivamente curvo. B. Ápice macroconidial. B1. Curvo. B2. Largo y cónico. B3. Puntigudo. B4. Desafilado. B5. Enganchado. B6. Alargada. C. Base macroconidial. C1. Obtuso, sin forma de pie. C2. papilado, sin forma de pie. C3. Poco desarrollado, en forma de pie. C4. Bien desarrollado, en forma de pie. C5. Alargado, en forma de pie. D. Fialides aéreas y organización microconidial. D1. Monofialida. D2–D5. Polifialidas. D2. Polifialida simple. D3–D4. Polyphialides con múltiples loci conidiogenous. D5. Polifialidas proliferativas simpodiales. D6, D7. Microconidios formando falsos cabezas D8, D9. Microconidios en cadenas (D8. Cadena seca. D9. Empalizada). E. Conidióforo esporoquial y células conidiógenas. F. Conidióforo aéreo con mesoconidia. G. Mesoconidia. H. Formas microconidiales. H1. Fusiforme. H2. Oval. H3. Obovoide. H4. Reniforme. H5. alantoideo. H6. Clave. H7. napiforme. H8. piriforme. H9. Limoniforme.....	22
Figura 12	Colonias típicas y macroconidias de aislados de <i>Fusarium</i> en medio agar papa-dextrosa y macroconidios en medio de carboximetilcelulosa después de 5 días de crecimiento. a) <i>F. equiseti</i> ; b) <i>F. oxysporum</i> ; c) <i>F. graminearum</i> ; d) <i>F. solani</i> ; e) <i>F. comune</i> ; f) <i>F. verticillioides</i> ; g) <i>F. proliferatum</i> ; h) <i>F. fujikuroi</i> ; i) <i>F. avenaceum</i> . Barra de escala = 20 µm.....	23
Figura 13	Ciclo de la enfermedad del marchitamiento por <i>Fusarium</i> en tomate.....	24
Figura 14	Patogenicidad de <i>E. sorghinum</i> utilizando tapones de micelio en heridas en caña de azúcar sembrada en planta siete días después de la inoculación.....	26
Figura 15	Ensayo de cultivo dual de aislados de <i>Epicoccum nigrum</i> contra <i>Botrytis cinerea</i> después de 5 días a 20°C.....	27
Figura 16	Cultivo de siete días de edad de <i>Epicoccum</i> fitopatógeno en sorgo (a, anverso; b, reverso) cultivadas en agar papa dextrosa.....	29

Figura 17	Morfología de la colonia, el micelio y la espora de <i>E. nigrum</i> . Anverso (A) y reverso (B) de 5 días de antigüedad en PDA. Imágenes de microscopía representativas de fragmentos de micelio y conidios en diferentes estados de madurez (C, D)...	29
Figura 18	Características morfológicas del hongo endófito <i>Epicoccum dendrobii</i> . A, Vista superior e inversa de una colonia de <i>E. dendrobii</i> en placas de agar papa dextrosa (PDA) después de 7 días. B, <i>Stromata</i> de <i>E. dendrobii</i> desarrollado en placas PDA. C, Vista frontal de un estroma. D, Vista lateral de un estroma. E, Conidióforos. F, Conidióforos con tabiques. G, conidióforo ramificado. H, Conidios jóvenes y maduros. Yo, Conidio. El asterisco indica una célula basal. Las puntas de flecha indican la superficie tuberculada. Barras = 10 µm.....	30
Figura 19	Resumen de la dinámica de las asociaciones planta-endofito. Las plantas prosperan al unísono con los endófitos (indicados por rojo, color azul, naranja y amarillo) y microbios rizosféricos (indicados por el color negro) en el medio ambiente. El destino o tipo de asociaciones plantendofitas, es decir, ya sea comensal (asociación neutral) o mutualista (asociación beneficiosa) o interacciones patógenas está determinado por varios factores, como el genotipo del huésped y del microbio, el estado nutricional, el título microbiano y las condiciones de estrés predominantes.....	31
Figura 20	Lesiones hundidas en frutos inmaduros de melocotón después de una infección natural. 2. Lesiones con grietas y gomosis en frutos maduros de durazno después de una infección natural. 3. Mancha grisácea circular (flecha blanca) y área necrótica a lo largo de la nervadura (flecha negra) que ocurre naturalmente en la hoja. 4. Mancha marrón hundida con zona fusiforme roja, el síntoma inicial en una ramita después de una infección natural. 5. Agrietamiento severo y necrosis con gomosis en ramitas naturalmente infectadas. 6. Conidios de aislado de melocotón de <i>Alternaria alternata</i> formados en medio líquido de albaricoque. 7. Lesión hundida con grietas en frutos maduros después de la inoculación de frutos inmaduros con con suspensiones de <i>A. alternata</i> en un disco de papel.....	32
Figura 21	Morfología del género <i>Alternaria</i> . A) Conidióforo macronematoso con una rama dando origen a los poroconidios. B) Conidióforo corto no ramificado con un	

	dictioconidio. C) Conidios con septos transversales, longitudinales y oblicuos. D) Conidióforos a partir del micelio. E) Conidios con septos transversales. F) Conidios en cadenas con sucesión acrópeta.....	34
Figura 22	Desarrollo y síntomas de enfermedades causadas por <i>Alternaria</i>	35
Figura 23	Cepa de <i>Trichoderma asperelloides</i> aislada de raíz de <i>Prunus persica</i> L variedad amarillo.....	39
Figura 24	<i>Trichoderma viride</i> , 2. <i>T. atroviridae</i> , 3. <i>T. harzianum</i> , 4. <i>T. inhamatum</i> , 5. <i>T. aureovirida</i> , 6. <i>T. koningii</i>	40
Figura 25	Ciclo de vida asexual de <i>Trichoderma</i> spp.....	41
Figura 26	Mapa del sur de Chihuahua, México, que muestra los sitios de recolección de material vegetativo de los aislados de <i>Trichoderma</i> spp. obtenidos.....	51
Figura 27	Morfología típica del género <i>Trichoderma</i> spp. a los 9 días de crecimiento.....	56
Figura 28	Árbol filogenético del género <i>Trichoderma</i> , inferido por Máxima Verosimilitud a partir del alineamiento concatenado de la zona ITS y la secuencia parcial del gen característico del factor de elongación (TEF). La escala representa las sustituciones del promedio por sitio. Los datos bootstrap $\geq 50\%$ se muestran arriba de las ramas, junto a los internodos.....	57
Figura 29	Biocontrol <i>in vitro</i> de <i>Trichoderma asperelloides</i> aisladas de áreas templadas contra hongos fitopatógenos.....	58
Figura 30	Porcentaje de inhibición de <i>Trichoderma</i> sp. (1=CP-G-M-R-T, 3=SP-M-M5-R-T, 5=LJ-M-M2-R-T y 8=CP-G-R-T) contra fitopatógenos (<i>Fusarium</i> sp., <i>Alternaria</i> sp., <i>Monilinia</i> sp., <i>Epicoccum</i> sp. y <i>Colletotrichum</i> sp.) de <i>Prunus persica</i>	59
Figura 31	Síntomas asociados a hongos fitopatógenos foliares en frutos de fresa, pera, ciruela, manzana y membrillo, con valores máximos de patogenicidad.....	73
Figura 32	Síntomas asociados a hongos fitopatógenos foliares en frutos de fresa, pera, ciruela, manzana y membrillo, con valores mínimos de patogenicidad.....	75
Figura 33	Lesiones de hongos fitopatógenos foliares asociados al cultivo de durazno en las variedades amarillo, prisco y blanco del sur de Chihuahua.....	78

Figura 34	Crecimiento micelial <i>in vitro</i> de cepas de <i>Trichoderma asperelloides</i> sobre medios de cultivo.....	86
Figura 35	Crecimiento <i>in vitro</i> de <i>T. asperelloides</i> en medios de cultivo durante 7 días de desarrollo de la cepa 1. *a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P\leq 0.05$)	90
Figura 36	Crecimiento <i>in vitro</i> de <i>T. asperelloides</i> en medios de cultivo durante 7 días de desarrollo de la cepa 3. *a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P\leq 0.05$)	90
Figura 37	Crecimiento <i>in vitro</i> de <i>T. asperelloides</i> en medios de cultivo durante 7 días de desarrollo de la cepa 5. *a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P\leq 0.05$)	91
Figura 38	Crecimiento <i>in vitro</i> de <i>T. asperelloides</i> en medios de cultivo durante 7 días de desarrollo de la cepa 8. *a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P\leq 0.05$)	91
Figura 39	Reproducción masiva de <i>Trichoderma asperelloides</i> almacenados en bolsas de polietileno y contenedores de cristal de sustratos orgánicos comerciales.....	93
Figura 40	Síntomas en fruto y hoja de durazno asociados a hongos fitopatógenos foliares observados en campo.....	107
Figura 41	Morfología de <i>F. sambuninum</i> a-b) colonia de frente y reverso, c) micelio septado, d) Macro y microconidios, e) Mesoconidios, f) fiálides, g) conidióforos en cadena, h) Conidióforos ramificados y esporodoquios, i) clamidosporas y filamentos.....	108
Figura 42	Morfología de <i>C. gloesporoides</i> a-b) colonia de frente y reverso, c) micelio liso granulado, d) conidios, e) conidiomas, f) peritecios, g) ascas con ascosporas, h) ascosporas inmaduras durante la división, i) ascosporas maduras libres...	109
Figura 43	Morfología de <i>M. frutícola</i> a-b) colonia de frente y reverso, c) micelio liso hialino, d) conidios en cadena e) formación de apotecios relleno de ascosporas.....	110
Figura 44	Árbol filogenético de los géneros <i>Monilinia</i> , <i>Fusarium</i> y <i>Collectotrichum</i> , a) inferido por Máxima Verosimilitud a partir del alineamiento concatenado de la zona ITS y b, c) la cadena parcial del gen característico del factor de elongación (TEF). La escala representa las sustituciones del promedio por sitio.	

	Los datos bootstrap $\geq 84\%$ se muestran arriba de las ramas, junto a los internodos. Las especies estudiadas en esta investigación se exponen en negritas y subrayadas.....	111
Figura 45	Diámetro de hoja por género evaluado vs <i>T. asperelloides</i> en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$)	112
Figura 46	Longitud de hoja por género evaluado vs <i>T. asperelloides</i> en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$)	113
Figura 47	Altura por género evaluado vs <i>T. asperelloides</i> en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$)	113
Figura 48	Síntomas en fruto y hoja de durazno asociados a hongos fitopatógenos foliares observados en campo.....	125
Figura 49	Morfología de <i>Alternaria</i> sp. y <i>A. alternata</i> a-b) colonia de frente y reverso, c) micelio septado, d) esporulación de conidios, e) septos transversales, f) septos longitudinales, g) septos oblicuos.....	127
Figura 50	Morfología de <i>E. italicum</i> y <i>poae</i> a-d) colonia de frente y reverso, e) fragmentos de micelio liso binucleados <i>E. italicum</i> f) esporas, g) clamidosporas, h) picnidios, i) conidios en cadena de <i>E. poae</i> , j) conidios produciendo esporodoquios...	128
Figura 51	Árbol filogenético de los géneros <i>Alternaria</i> y <i>Epicoccum</i> , a) inferido por Máxima Verosimilitud a partir del alineamiento concatenado de la zona ITS y b, c) la cadena parcial del gen característico del factor de elongación (TEF). La escala representa las sustituciones del promedio por sitio. Los datos bootstrap $\geq 54\%$ se muestran arriba de las ramas, junto a los internodos. Las especies estudiadas en esta investigación se exponen en negritas.....	129
Figura 52	Diámetro de hoja por género evaluado vs <i>T. asperelloides</i> en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$)	130
Figura 53	Longitud de hoja por género evaluado vs <i>T. asperelloides</i> en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas,	

	indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$)	131
Figura 54	Altura por género evaluado vs <i>T. asperelloides</i> en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$)	132
Figura 55	Síntomas por fitopatógenos en planta de durazno de un año de edad a) Invasión de tallo por <i>A. alternata</i> , b) Lesiones sobre la hoja por <i>A. alternata</i> C) Lesiones sobre el follaje de <i>E. Poae</i>	133

RESUMEN

El duraznero (*Prunus persica* L.) es una de las especies de frutales caducifolias originario de Persia domesticado en China, que más se cultivan tanto en las zonas templadas (latitudes entre 30° a 55°) en el hemisferio norte, como en las zonas de alta montaña de los trópicos y subtropicos (30° a 45C°) en el hemisferio sur. En México este frutal se produce en 26 de las 32 entidades federativas que componen el país, dado a que es el principal frutal de hueso de importancia económica, sin embargo, en la última década se ha reducido la producción en más de 27.3% debido a la presencia de fitopatógenos que afectan desde la germinación hasta en la vida de anaquel, siendo el Reino Fungí uno de los más dañinos para este frutal. Por lo tanto, el objetivo de esta investigación fue identificar los géneros y especies de fitopatógenos que causan enfermedades en el cultivo de durazno (*P. persica* L.) en el sur de Chihuahua y caracterizarlos en relación patogénica, rango de hospedantes y susceptibilidad al efecto antagónico de *Trichoderma* spp. a nivel *in vitro* como en planta. Se inició con el aislamiento y descripción de la morfología de los hongos antagónicos y fitopatógenos presentes en la zona de estudio, enseguida se identificaron a nivel molecular los fitopatógenos causales de enfermedades y antagónicos presentes en la región. Se probó la actividad antagónica *in vitro* de cepas de *Trichoderma* spp. contra fitopatógenos nativos mediante confrontación dual, una vez determinado los géneros de mayor virulencia se evaluó la patogenicidad de los aislados fungosos seleccionados en laboratorio frente *Trichoderma* spp. en plantas de un año de edad de durazno de la variedad prisco, bajo condiciones de invernadero, luego se procedió a probar la patogenicidad en hospedantes de importancia económica de la región en fruto de manzano (*Malus domestica* (B.), fresa (*Fragaria* spp.), ciruela (*Prunus domestica* (L.), pera (*Pyrus communis* (L.) y membrillo (*Cydonia oblonga* (M.) y en hoja de variedades amarillo, prisco y blanco, finalmente se evaluó la actividad biológica a través de la reproducción conidial de *Trichoderma* spp. en medios de cultivos y sustratos orgánicos. Se logró identificar 10 cepas de hongos fitopatógenos correspondientes a cinco géneros descritos como *Monilinia frutícola* H., *Alternaria alternata* (K.), *Fusarium sambucinum* (L.), *Collectotrichum gloesporoides* (S) y *Epicoccum italicum* (L.) y *poae*, todos los aislados mostraron una alta inhibición

del crecimiento micelial contra los cinco géneros considerando que la estirpe 3 (SP-M5-R-T) de *T. asperelloides* presentó un alto potencial para el control *in vitro* frente a los fitopatógenos. La variedad amarilla del duraznero es considerada la más susceptible a todos los aislados patogénicos; así mismo, *A. alternata*, *C. gloesporoides* y *M. fruticola* fueron los fitopatógenos más agresivos. Todos los hongos presentaron incidencia en hojas, por lo que se consideran variedades extremadamente susceptibles. El fruto de fresa es el más susceptible ante los fitopatógenos foliares del durazno mientras que la manzana mostró mayor resistencia al presentar menor porcentaje de severidad. En cuanto a los bioensayos evaluados en invernadero se presentó incidencia en todas las unidades experimentales, además de presentar de una hasta más de 10 lesiones ubicándose en la escala de severidad 1-4, considerando a *E. poae* como uno de los hongos con mayor afectación al cultivo del duraznero. En todos los sustratos se presentó viabilidad para la reproducción conidial del hongo y se demostró que las semillas de trigo y los granos de arroz son una fuente ideal para su crecimiento a temperaturas cálidas ($17.5^{\circ}\text{C} \pm 2$) y frías ($7^{\circ}\text{C} \pm 2$), ya que se obtuvo el 100% de reproducción conidial y 87.5 % de crecimiento micelial en medios de cultivo. De acuerdo a las variables de respuesta evaluadas se considera que *T. asperelloides* presenta un alto potencial para el control *in vitro* como *in vivo* frente a los fitopatógenos foliares en plantas de durazno de un año de edad.

Palabras clave: Antagonista, fitopatógenos, hospedante, identificación, patogenicidad, duraznero, variables de respuesta, sustrato.

ABSTRACT

The peach tree (*Prunus persica* L.) is one of the species of deciduous fruit trees native to Persia domesticated in China, which is most cultivated both in temperate zones (latitudes between 30° to 55°) in the northern hemisphere, as well as in high altitude areas. mountain of the tropics and subtropics (30° to 45C°) in the southern hemisphere. In Mexico, this fruit tree is produced in 26 of the 32 states that make up the country, given that it is the main stone fruit tree of economic importance. However, in the last decade production has been reduced by more than 27.3% due to the presence of phytopathogens that affect everything from germination to shelf life, with the Fungi Kingdom being one of the most harmful to this fruit tree. Therefore, the objective of this research was to identify the genera and species of phytopathogens that cause diseases in the peach crop (*P. persica* L.) in southern Chihuahua and characterize them in pathogenic relationship, host range and susceptibility to the effect. antagonist of *Trichoderma* spp. at the *in vitro* and plant level. It began with the isolation and description of the morphology of the antagonistic and phytopathogenic fungi present in the study area, then the disease-causing and antagonistic phytopathogens present in the region were identified at a molecular level. The *in vitro* antagonistic activity of strains of *Trichoderma* spp. against native phytopathogens through dual confrontation, once the genera with the highest virulence were determined, the pathogenicity of the fungal isolates selected in the laboratory was evaluated against *Trichoderma* spp. in one-year-old peach plants of the Prisco variety, under greenhouse conditions, then the pathogenicity was tested in hosts of economic importance in the region in apple fruit (*Malus domestica* (B.)), strawberry (*Fragaria* spp.), plum (*Prunus domestica* (L.)), pear (*Pyrus communis* (L.)) and quince (*Cydonia oblonga* (M.)) and in leaves of yellow, prisco and white varieties, finally evaluated the biological activity through conidial reproduction of *Trichoderma* spp. in culture media and organic substrates. It was possible to identify 10 strains of phytopathogenic fungi corresponding to five genera described as *Monilinia frutícola* (H.), *Alternaria alternata* (K.), *Fusarium sambucinum* (L.), *Collectotrichum gloesporoides* (S.) and *Epicoccum italicum* (L.) and *poae*, all isolates showed high growth inhibition mycelial against the five genera considering that lineage 3 (SP-M-M5-R-T) of *T. asperelloides* presented a high

potential for in vitro control against phytopathogens. The yellow variety of the peach tree is considered the most susceptible to all pathogenic isolates; Likewise, *A. alternata*, *C. gloesporoides* and *M. fruticola* were the most aggressive phytopathogens. All fungi had an incidence on leaves, which is why they are considered extremely susceptible varieties. The strawberry fruit is the most susceptible to peach foliar phytopathogens, while the apple showed greater resistance by presenting a lower percentage of severity. Regarding the bioassays evaluated in the greenhouse, there was an incidence in all the experimental units, in addition to presenting from one to more than 10 lesions, located on the severity scale 1-4, considering *E. poae* as one of the fungi with the greatest impact. to peach cultivation. Viability for conidial reproduction of the fungus was present in all substrates and it was demonstrated that wheat seeds and rice grains are an ideal source for its growth at warm ($17.5^{\circ}\text{C} \pm 2$) and cold ($7^{\circ}\text{C} \pm 2$) temperatures. 2), since 100% conidial reproduction and 87.5% mycelial growth in culture media were obtained. According to the response variables evaluated, it is considered that *T. asperelloides* has a high potential for in vitro and in vivo control against foliar phytopathogens in one-year-old peach plants.

Keywords: Antagonist, phytopathogens, host, identification, pathogenicity, peach tree, response variables, substrate.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. INTRODUCCIÓN

El duraznero (*Prunus persica* L.) es una de las especies de frutales caducifolias que más se cultivan tanto en las zonas templadas (latitudes entre 30° a 55°) en el hemisferio norte, como en las zonas de alta montaña de los trópicos y subtropicos (30° a 45°C) en el hemisferio sur (Cancino et al., 2018). Siendo China el principal país productor, seguido de China continental, Italia, Turquía, Grecia, España, Estados Unidos e Irán, posicionando a México en el lugar número 12 de producción de durazno a nivel mundial (FAOSTAT, 2024), obteniendo un total de 238,181.60 t cosechadas en el ciclo 2022, los principales estados productores son: Zacatecas, Chihuahua, Michoacán, Estado de México y Puebla, aportando un 76.76% de la producción nacional (SIAP, 2024), donde destacan los cultivares de pulpa adherida al hueso blanca, amarilla, rojiza y prisco, mientras las variedades más comunes se encuentran la Diamante, Criollo, Alaska, Blanquillo criollo, Blanco nectarín, Perla, Virgen, abollado, San Juan, Tlaxcala y Fred siendo la más especial la Betarraga (Fernández et al., 2011; Mayorga et al., 2011; Calderon-Zavala et al., 2021).

La producción de este frutal se ve afectada por enfermedades que limitan su producción, entre las más importantes se encuentran: de origen fungoso la Pudrición blanca de raíces, (*Armillaria mellea* (C.)), Pudrición suave (*Ganoderma lucidum* (C.)), Marchitez del durazno (*Verticillium albo-atrum* (N.)), Tiro de munición (*Coryneum beijerinckii* (O.)) Verrucosis (*Taphrina deformans* (B.)), Cenicilla (*Sphaeroteca pannosa* (B.)), Pudrición café, momificación del fruto, (*Monilinia frutícola* (H.)) Roya (*Tranzschelia discolor* (F.)) y de origen bacteriano Agalla de la corona (*Agrobacterium tumefaciens* (S.)), Gomosis, cáncer o cancro del tallo (*Pseudomonas syringae* (V.)) (Anderson & Ullrich, 1979; Santoyo, 2012), cabe mencionar que todas estas enfermedades están determinadas por factores de clima, suelo, variedades, portainjertos y manejo del huerto; la combinación entre estos factores marcará la diferencia entre un cultivo sano o con gran diversidad de problemas; cuando se presentan de forma desfavorable estos seis factores, las probabilidades de éxito son prácticamente nulas. Sin embargo,

si se prevén y se consideran de forma positiva cada uno de estos factores (suelo y clima adecuado, conocimiento de plagas y enfermedades y el uso de variedades resistentes), (Soria, 2010; FPS, 2012; Murray & Altson 2020).

En el estado de Chihuahua aún no existen reportes científicos sobre enfermedades patógenas en el cultivo de durazno en alguna de sus etapas fenológicas, así como en el proceso de postcosecha del cultivo; sin embargo, existe la presencia de patógenos intestinales en los frutos de exportación de acuerdo al diagnóstico de la calidad microbiológica de frutas y hortalizas en Chihuahua, que ha determinado la presencia de bacterias como *Escherichia coli* (M.), *Salmonella* (L.), y *Listeria monocytogenes* (M.), donde el agente causal de la mayoría de los brotes fue *Salmonella* spp. (Quezada et al., 2008). Por lo antes mencionado, es pertinente continuar con investigaciones basadas sobre los fitopatógenos que afectan a este cultivo en sus diferentes etapas de crecimiento incluyendo la producción hasta postcosecha, por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue Identificar los géneros y especies de fitopatógenos que causan enfermedades en el cultivo de *Prunus persica* L. en el sur de Chihuahua y caracterizarlos en relación patogénica, rango de hospedantes y susceptibilidad al efecto antagonico de *Trichoderma* spp. a nivel *in vitro* como en planta.

1.2. REVISIÓN DE LITERATURA

1.2.1. Antecedentes de *Prunus persica* L.

El duraznero es una de las especies frutales caducifolias más populares que se cultivan en las zonas templadas de todo el mundo. Su nombre científico, *Prunus persica* (L.) Batsch, en 1885, sugiere que sería originario de Persia lo que, actualmente, se conoce como Irán, pero en la literatura China del 2000 A.C., se hacían descripciones de sus flores y frutos maduros, por lo cual, hoy es aceptado, que su origen está en dicho país (Pinzon et al., 2014). En México se introdujo con la llegada de los españoles hace más de 450 años. En 1927, se establecen plantaciones de durazno con fines comerciales, con un total de 1, 579 ha a nivel nacional (Larqué et al., 2009).

El durazno (*P. persica*) a nivel mundial ocupa el segundo lugar entre los cultivos de frutales con hueso, después de la nectarina y el lugar 12 de frutales; *P. persica* es una de las 200 especies de este género donde al menos 34 de éstas producen fruta comestible. El durazno es altamente adaptable y se cultiva en un amplio rango de suelos y condiciones ambientales (SNAVMP, 2019). En 2023, la producción de durazno en México fue de 238,181.60 t, en una superficie cultivada de 33,219.05 ha. Chihuahua es el segundo estado productor de este fruto aportando el 14.33% de la producción total nacional, superado por Zacatecas con un 35.56%, siguiendo Michoacán con 13.42%, Estado de México 7.22% y Puebla con 6.23% (SIAP, 2024).

Entre las variedades de durazno que más se cultivan se encuentran Red Top, Flavor Crest, Rich Lady, White Lady, Snow Giant, September Snow, Sugar Lady Cristalino, Queen crest, Zee diamond, Rich lady, Elegant ladyy Royal glory (SNAVMP, 2019). En el contexto nacional, los principales cultivares de exportación son: Regio, Sol, Madrugada, Michele, Aurora, Dorado, Irina, Escarcha; el primero se ha mantenido como el principal cultivar de exportación durante muchos años (Fernández et al., 2011).

Estudios realizados en México en el año 2009 afirman que la rentabilidad, competitividad y ventajas comparativas del cultivo de durazno (*P. persica*) en la región suroeste de México es positiva, tanto en términos privados como económicos, para el sistema de producción al carecer de apoyos (incentivos) a la remuneración de factores

de la producción, lo cual implica que la actividad es una alternativa rentable para los productores de la región en términos del ingreso que se genera (Rebollar et al., 2009).

A nivel mundial se han reportado problemas fitosanitarios en el cultivo de durazno principalmente en Ecuador donde se han realizado estudios sobre las enfermedades postcosecha en cultivo de *P. persica*, por lo que fue posible identificar a los hongos filamentosos que están causando síntomas de pudrición en frutos de la variedad diamante. Adicional a ello, se identificó morfológica y molecularmente a los hongos aislados, identificando los géneros *Monilinia*, *Alternaria*, *Diaporthe*, *Botrytis*, *Fusarium* y *Rhizopus* mediante observación microscópica de sus estructuras sexuales y asexuales. Además, se determinó que la mayoría de duraznos sintomáticos colectados estaban infectados con *M. fructicola* y *A. alternata*, con porcentajes de 35% y 29 % respectivamente (Quinchuki & Khaterine, 2017).

Recientemente se ha observado la presencia de del hongo *T. deformans* afectando el cultivo de durazno en Georgia ocasionando la enfermedad de verrucosis del duraznero, presentando síntomas de células de las hojas infectadas para multiplicar rápidamente y al azar, agrandándose, deformación y la abolladura, partes de la hoja infectada distorsionada suelen ser coloradas de amarillo o rojo, que finalmente se vuelven marrones y se caen. Las frutas jóvenes infectadas pueden también caerse prematuramente o se muestra síntomas parecidas a la verruga cuando sean maduras. El árbol generará nuevas hojas hacia fuera para reemplazar las hojas caídas, lo cual puede resultar en una reducción de la cosecha. La incidencia de la enfermedad es más alta y más perceptible en las condiciones húmedas, durante las temperaturas frescas, expansión de las hojas jóvenes es más lenta, dejando que el período de infección sea más largo, en las temperaturas más altas, infección puede ocurrir, pero los síntomas no desarrollan por la expansión rápida de las hojas; una vez que las hojas hayan expandido completamente, llegan a ser resistentes al patógeno (Nischwitz et al., 2017).

De acuerdo a los Muarry & Altson 2020, dan a conocer las enfermedades con mayor severidad presentes en plantas y frutos de Durazno en Estados Unidos, de las cuales se desenlazan la Plaga *Coryneum* (Tiro de munición) cuyos síntomas son manchas redondas, taponadas o hundidas en las frutas, ramitas muertas, agujeros en las hojas, brotes muertos que exudan goma, Gomosis desarrollando síntomas de

exudación gelatinosa en la corteza: clara, lechosa y de color ámbar, Chancro Perenne presentando síntomas de exudación de color ámbar, descamación de la corteza, tejido necrótico (marrón) justo debajo de la corteza (derecha inferior, Oídio amarillamiento, distorsión, retraso en el crecimiento, reducción de rendimiento, manchas oxidadas en la fruta (oídio del durazno), residuo de polvo blanco (mezcla de micelio y esporas de hongos), entre otras serie de plagas que afectan a este cultivo caducifolio, cabe mencionar que este estudio se llevó a cabo en campos experimentales de traspatio bajo condiciones climatológicas ambientales.

Son necesarias estrategias de control para las enfermedades causadas tanto por hongos como bacterias por lo que es importante, conocer el agente causal y el ciclo de la enfermedad también es importante. Precisamente, conociendo la interacción planta/patógeno y su variación funcional, de acuerdo con los factores ambientales es obligado para un control integral.

1.2.2. *Prunus persica* L

El género *Prunus*, perteneciente a la familia de las rosáceas, incluye un gran número de especies de árboles frutales conocidos como “frutos de hueso” debido a que la semilla está encerrada en un endocarpio duro, lignificado y pétreo. El melocotón se ha propuesto como planta modelo para la familia Rosaceae debido a un período de juventud relativamente corto (2 a 3 años) en comparación con la mayoría de las otras especies de árboles frutales (Ricci et al., 2020).

1.2.3. Descripción botánica

El género *Prunus* pertenece a la familia Rosaceae y a la subfamilia Prunaea, y está compuesto por alrededor de 343 especies que se distribuyen en cinco subgéneros, a saber, *Padus*, *Amygdalis*, *Cerasus*, *Prunophora* y *Laurocerasus* de árboles y arbustos caducifolios y perennes en crecimiento principalmente en las regiones templadas del hemisferio norte.

Este género habita en las zonas montañosas y templadas frías a regiones climáticas submontanas del país en un rango altitudinal entre 760 y 4000 msnm.

Los frutos de muchas especies silvestres son buena fuente de vitaminas y minerales y recogidos de sus hábitats naturales por locales habitantes para cumplir con su requerimiento nutricional diario (Balkrishan et al., 2021).

Árboles o arbustos, a veces espinosos. Hojas simples, enteras o serrado con (2-4) glándulas en la base o en el pecíolo, estípulas caducifolio, raramente persistente, flores solitarias, en fascículos o racimos, generalmente bisexuales (Figura 1). Tubo del cáliz obcónico o campanulado, lóbulos del cáliz 5 o 6, rara vez 4 o más, caduco. Pétalos 5 o 6, rara vez 4 o más, a veces apenas diferentes de los sépalos, blancos o rosados. Los estambres son de 10 a 35. Carpelo único, rara vez 2 o más, libre, encerrado por el cáliz tubo. Ovario óvulos superiores 2, estilos terminales. drupa de fruta, mesocarpio seco o carnososo, endocarpio óseo o leñoso. Semillas sin endospermo. Presencia de un par de glándulas (a veces 1 o 3) cerca de la cumbre del pecíolo o hacia la base de la hoja es la característica vegetativa útil del género *Prunus* L. (Balkrishan et al., 2021).



Figura 1. Fruto, hoja y flor de *Prunus persica* L. originarios del sur de Chihuahua.

Las principales características que definen al duraznero o melocotón es una drupa con 4 a 10 cm de diámetro, de colores rojizos y amarillos y forma ovoide, puede presentar exocarpo tomentoso, su peso cambia para cada variedad. El duraznero es uno de los frutales comúnmente sembrados en zonas de trópico alto (o clima frío), debido a que posee ventajas comparativas con los que se siembran en las zonas templadas (Africano et al., 2015).

Las frutas pueden ser clasificadas en dos grupos, ácidas y no ácidas, dependiendo de su valor de pH: las frutas por debajo de pH 3.9 se consideran ácidas y las de pH por encima de 4.0, no ácidas (Dirlewanger et al., 1998).

El durazno se describe como una especie diploide ($2n=16$), caducifolio con un tamaño medio con una altura hasta de 8 metros, considerándose como planta arbustiva

redonda con diámetro de 3-5 m. Se conducen en un sistema de vaso o globo, o en el sistema de palmeta. Su vida es relativamente corta, hasta máximo 30 años, que dura en cultivos comerciales solamente de unos 12 a 15 años y la producción de fruto inicia al segundo o tercer año.

La hoja puede ser plana, con márgenes enteros u ondulados, y aserrados. La presencia de hojas más angostas, similares a las del sauce, está asociada con árboles pequeños y más débiles que árboles con otro tipo de hojas.

El hueso (semilla con el endocarpio) puede ser adherido a la pulpa, separado de la pulpa (melocotones o freestone) o semiadherido.

Las flores hermafroditas y períginas, sentadas o con un pedúnculo corto, abren antes que las hojas. Los pétalos son de colores rosados a rojos. La corola puede ser en forma de rosa con pétalos grandes, o en forma de campana con pétalos pequeños, en esta última, las anteras emergen de la corola antes de la antesis completa. Cada flor tiene entre 20 y 30 estambres. Las anteras son de color rojizo, excepto las que tienen esterilidad masculina (Cárdenas & Fischer, 2013).

1.2.4. Clasificación taxonómica del Durazno

Nombre común: Melocotón. otros nombres comunes: Durazno Amarillo, Durazno (en Centroamérica); Camuezo (Colombia); Carozo (Chile), Pavía (Colombia, España), Peach (inglés), Melocotonier (francés). otros nombres: Bresquilla, Prisco, Pérsico, Albérchigo, Alperche, Peladillo, Prescal, Nectarina, Peixago, Peixeguero, Presseguer

El Melocotón (*Prunus persica* L. Batsh) se clasifica botánicamente como:

Clase: Dicotyledoneae

Familia: Rosacea

Subfamilia: Prunoidea

Género: *Prunus persica* (Pinzon et al., 2014).

1.2.5. Variedades

En México, las variedades de durazno (*P. persica* L.) de alta productividad son aquellas con alto requerimiento de frío. Las variedades que presentan un menor requerimiento de frío tienden a tener niveles de producción y calidad inferiores, son menos precoces y sus

frutos tienen un alto potencial de oxidación. Además, estos frutos suelen tener un bajo contenido de sólidos solubles, baja firmeza y una forma inadecuada (con punta y sutura pronunciadas). Las principales variedades de durazno son: Diamante, San Juan, Regio, Toro, Diamante mejorado, Diamante especial, Oro Azteca, Variedad Tlaxcala y Fred, las cuales presentan una textura vellosa y una coloración que va desde el amarillo claro hasta naranja intenso; además tienen un sabor dulce agradable al gusto y una textura suave (Calderón et al., 2021).

1.2.6. Información nutrimental

El durazno es apetecido por su agradable sabor, propiedades organolépticas y propiedades medicinales; el consumo de este fruto aporta vitamina A, B1, B2, C, fósforo, calcio entre otros elementos y vitaminas esenciales. Durante la maduración del fruto también se llevan a cabo procesos de síntesis de compuestos volátiles (Figura 2), reducción del contenido de proteínas e incremento en la capacidad antioxidante del fruto (Africano et al., 2015)

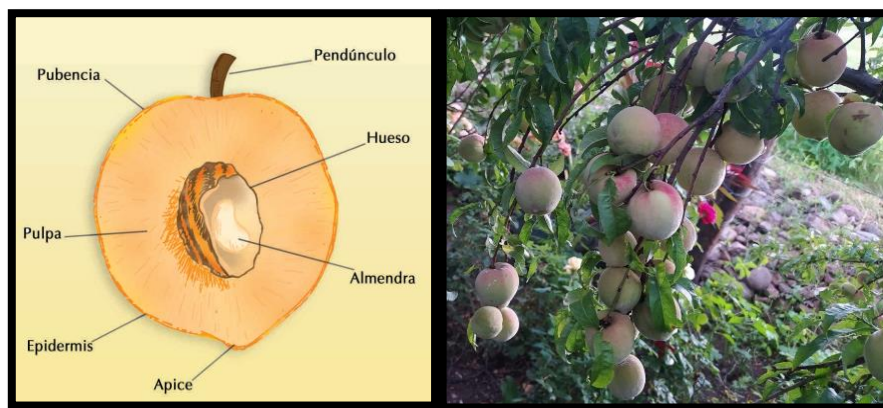


Figura 2. Corte interior y fisiología del fruto del duraznero variedad prisco

1.2.7. Plagas y enfermedades

Respecto a la presencia de especies de plagas tanto polífagas como especializadas existen aumentos periódicos de su números y especies como *Laspeyresia* han dañado constantemente las plantaciones de durazno. Los insectos del orden *Lepidoptera* en específico *Grapholitha* (B.) molesta es la más dañina en huertos de melocotoneros. La propagación de plagas como *Anarsia lineatella* se observa en brotes

principalmente en plantaciones más antiguas, sin embargo, en algunos países esto fitófago es la especie dominante, en comparación con otros miembros de esta orden, de acuerdo a observaciones realizadas en huertos de melocotoneros en los subtrópicos húmedos existen alrededor de 18 especies de plagas, mientras que más del 43.7% de las especies nocivas son polífagas (Yudytska & Klechkovskyi, 2021). Además, los pulgones, son el grupo más grande de plantas que se alimentan del floema, sabe que deprime el crecimiento de las plantas y causa una gran pérdida de productividad de los cultivos *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) es una plaga principal de *P. persica* Batsch (Rosaceae) como plantas hospedantes primarias en Europa (Grechi et al., 2008).

Los ácaros son artrópodos muy pequeños que están más estrechamente relacionados con las garrapatas que los insectos, pasan el invierno como adultos en la base de los árboles, o en la cobertura del suelo, y pueden convertirse en un problema durante las condiciones cálidas y secas a mediados y finales de verano cuando se reproducen rápidamente. Estos succionan la savia y la clorofila de las hojas causando un aspecto punteado, los principales síntomas son: hojas punteadas, pérdida del vigor del árbol (Acuña, 2010; Mondino et al., 2010).

Las principales enfermedades que afectan el cultivo de duraznero en nuestro país son la podredumbre morena ocasionada por *M. fructicola*, el torque o rulo ocasionado por *Alternaria* sp. (podrición del fruto), *A. mellea* (C.) y *Aspergillus* sp (P.), (podrición del fruto, podrición de raíces), *Botrytis cinérea* (P.) (podrición del fruto, tizón de la flor), *Cladosporium carpophilum* (T.) (Sarna del duraznero), *Macrophomina phaseolina* (T), *Sclerotium bataticola* (T), *Rhizoctonia bataticola* (T) (podrición carbonosa de raíces), *T. deformans* (B.) (Roya), *V. albo-atrum* (N.) (Verticilosis), *Coryneum beijerinckii* (D) (tiro de munición) (Acuña, 2010) y la bacteriosis ocasionada por *Xanthomonas arboricola* pv. Pruni (B.). En los últimos años ha incrementado la importancia de la viruela de la púa ocasionada por *Phomopsis amygdali* (D), la que causa la muerte de ramas productivas. Otras enfermedades que afectan al cultivo son la agalla de corona ocasionada por *A. tumefaciens* (S.) y los nódulos radiculares ocasionados por nemátodos del género *Meloidogyne* (K.). Las enfermedades causadas por virus y organismos afines (Figura 3) (Acuña, 2010; Mondino et al., 2010).

Sin embargo, en los últimos años este frutal se ha visto afectado por una serie de enfermedades provocadas por el Reino Fungí, el cual ha venido a traer grandes pérdidas económicas en su producción superando el 33%.

El tiro de munición es una enfermedad de hongos común en Utah. Ataca capullos latentes de hojas, brotes de flores, hojas, frutos y ramitas. Las primeras lesiones visibles ocurren en las hojas jóvenes como pequeñas manchas redondas y bronceadas que con el tiempo se caen, dejando agujeros redondos. Las lesiones circulares se desarrollan en la fruta que primero aparecen como manchas rojizas (mostradas a la derecha, arriba), y más tarde como protuberancias ásperas y taponadas. A veces están hundidas (a la derecha, abajo). Cuando los capullos infectados mueren, exudan goma, y las ramas pueden morir, los principales síntomas son: manchas redondas, taponadas o hundidas en las frutas, ramitas muertas, agujeros en las hojas, brotes muertos que exudan goma (Murray & Altson, 2020).



Figura 3. Síntomas en plantas del duraznero en el sur de Chihuahua. A) Hoja con formación de lesiones necroticas, B) Momificación en fruto caído, C) Flacidez y pudrición en planta y D) Gomosis en la planta del tallo variedad amarilla.

1.2.8. *Monilinia* spp.

Monilinia causa la podredumbre parda de fruta de hueso en muchas áreas de producción del mundo, incluyendo Asia, Europa, África, América del Norte, América Central, el Caribe, América del Sur y Oceanía. El hongo puede causar flortizón, cancro de la rama y pudrición de la fruta (Figura 4) antes y después de la cosecha.

Se han estudiado muchos enfoques para controlar la enfermedad, incluida la resistencia de los cultivares, el uso de agentes de biocontrol, factores físicos y reducción del inóculo, pero las más efectivas son las aplicaciones de fungicidas antes y después de la cosecha (Chen et al., 2012).



Figura 4. Síntomas de campo en hospedante natural en frutos durazno de *Monilinia fructicola* (A1 y B1), *Monilia mumecola* (C1) y *Monilia yunnanensis* (D1)

1.2.8.1. Taxonomía del género *Monilinia* spp.

El género a veces se divide en dos secciones según si poseen disyuntores: estructuras pequeñas en hongos maduros que ayudan a dispersar las esporas.

Hay alrededor de treinta especies conocidas en este género. La mayoría de los estudios de los hongos se centra en sus efectos patogénicos hacia las manzanas, las peras y otras frutas (USDA, 2013).

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Leotiomycetes

Orden: Helotiales

Familia: Sclerotiniaceae

Género: *Monilinia*

1.2.8.2. Características morfológicas

Monilinia es un género de hongos de la familia Sclerotiniaceae. La principal característica diagnóstica de los Discomycetes es que el apotecio o cuerpo fructífero se origina a partir de pseudoesclerocios formados en fruta momificada parcial o totalmente enterrada en el suelo, o en escombros donde se producen esporas sexuales (ascosporas). Las colonias tienen tasas de crecimiento más bajas, los anillos y arcos negros característicos están asociados con los pétalos de las rosetas de la colonia. *M. fructicola* muestra un crecimiento tasa que va de 9 a 20 mm por 24 h con un promedio de aproximadamente 13 mm (Martini y Mari, 2014). El micelio produce cadenas de conidias elípticas tipo *Monilia* sobre hifas ramas dispuestas en penachos (esporodoquios). El hongo también produce microconidios (spermatia) en cadenas en condioforos en forma de botella (Cuadro 1). Los microconidios no germinan, pero parecen estar involucrados en la fertilización del hongo. La etapa sexual, el apotecio, se origina de pseudoesclerocios formados en frutos momificados enterrados total o parcialmente en el suelo o los escombros. Más de 20 se pueden formar apotecios en una momia (Figura 5). El interior o la superficie superior del apotecio está revestida con miles de ascos intercalados con

hifas estériles (paráfisis). Cada ascus contiene ocho ascosporas unicelulares (Agrios, 2005 y Baltazar et al., 2023).

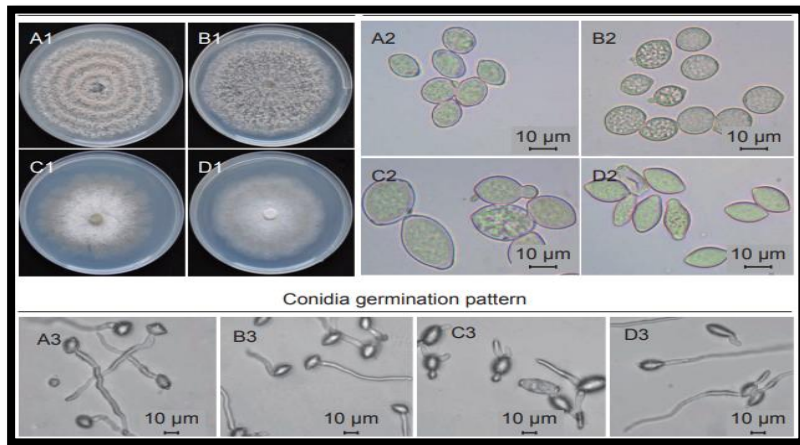


Figura 5. Morfología de colonias, morfología de conidios y patrones de germinación de *Monilinia fructicola* de níspero (A1–A3) y *M. fructicola* (B1–B3), *Monilia mumeicola* (C1–C3) y *Monilia yunnanensis* (D1–D3) de melocotón.

Cuadro 1. Comparaciones de las diferencias morfológicas entre *Monilinia* spp. (Iqbal et al., 2022).

Especies	Diámetro de colonia (24 horas)	Forma de la colonia	Márgenes de la colonia	Color de colonia	Crecimiento de la colonia	Forma de espora	Esporulación	Tubo de germinación	Referencias
<i>M. fructicola</i>	9-20mm	Margen completo	No serulado	De pardo a verdoso	Crecimiento radial continuo	En forma de limón	En toda la superficie	Largo y ramificado lejos de la espora	(Martini & Mari, 2014)
<i>M. laxa</i>	2-11 mm	Margen lobulado	serulado	Marrón grisáceo o avellana	El crecimiento radial se detiene periódicamente	Elipsoide, ovoide o limoniforme	En cultivos más antiguos, se desarrollaron mechones de micelio aéreo donde la esporulación ocurre	Corto ramificado cerca de la espora	(Lahlali et al., 2020)
<i>M. frutigena</i>	0-12 mm	Margen completo	No volado pero completo	Creimoso/ beige o amarillento	Tasa de crecimiento baja a moderada	Micelio aéreo cilíndrico o en forma de limón	Formado en anillos concéntricos en los que la esporulación ocurre	Largo y ramificado lejos de la espora	(Vasić et al., 2016)
<i>M. polistroma</i>	4-9mm	Margenes completos	No volado pero completo	Creimoso/ beige o amarillento	Tasa de crecimiento moderada	Forma cilíndrica o de limón	Aparente esporulación de mechones de micelio	Largo y ramificado generalmente desarrollados lados puntiagudos de conidios	(Yin et al., 2015)

1.2.8.3. Ciclo biológico

Monilinia posee dos fases, una sexual o ascospórica y otra asexual. Durante el invierno el patógeno sobrevive en frutos momificados, pedúnculos infectados y canchros formados en infecciones de años anteriores y, luego de iniciada la floración se lo encuentra en pedúnculos, anteras, flores y brotes muertos. En primavera el aumento de la temperatura, elevada humedad relativa o lluvias y el hospedante receptivo favorecen el inicio del proceso de infección. Se forman los conidios, que, al ser dispersados por la lluvia y el viento, alcanzan a las flores y, tras invadir ovario y pedúnculo la infección avanza sobre el brote. Las flores marchitas quedan cubiertas por una masa de conidios, importante fuente de inóculo capaz de producir nuevas infecciones con condiciones ambientales favorables. Los frutos pueden ser infectados inmediatamente después del cuajado, manifestándose la enfermedad antes o después de la cosecha (Figura 6). La infección del fruto se produce directamente a través de la cutícula, en la base de los tricomas o a través de rajaduras y heridas que pueden ser causadas por insectos como mosca de los frutos, abejas, hormigas, entre otros (Piwowarczuk, 2017).

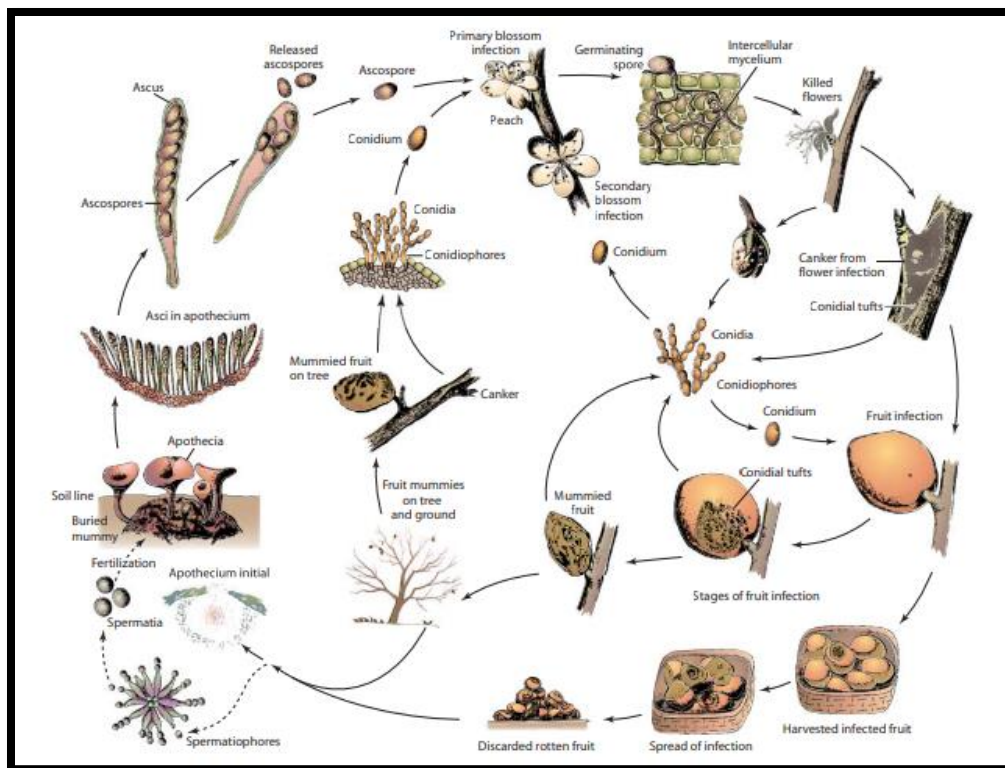


Figura 6. Ciclo de la enfermedad de la podredumbre parda de frutos de hueso causada por *Monilinia fructicola*

1.2.9. *Colletotrichum* spp.

La más importante de las pudriciones del fruto de *Colletotrichum* son las que se dan en las frutas tropicales, como el aguacate, banano, cítricos, café, mango, papaya y otros. De las antracosis en fruta de clima templado, podredumbre amarga de manzana y la podredumbre madura de la uva son las más importantes. La antracosis del mango ocurre en todos los trópicos, es causado por al menos tres especies de *Colletotrichum*: *C. gloeosporioides*, *C. gloeosporioides* var. *minor* y *C. acutatum* (S.). La enfermedad aparece como tizón de la flor, como tizón de la hoja y cuando las condiciones de humedad son favorables, como la muerte regresiva de los árboles. La antracosis es particularmente grave y puede destruir la cosecha total como una enfermedad poscosecha al florecer el tizón mata flores individuales o afecta partes o la inflorescencia completa, las hojas infectadas se desarrollan de forma irregular manchas negras necróticas que a menudo se unen y forman grandes áreas necróticas ramitas jóvenes también pueden ser invadidos, lo que resulta en la muerte regresiva de leña menuda. Bajo condiciones mojadas o muy húmedas, la fruta se vuelve infectados en el campo, pero permanecen asintomáticos hasta el inicio de la maduración, que tiene lugar después de la cosecha. Fruta Los síntomas consisten en lesiones redondeadas de color marrón negro en la superficie del fruto. Las lesiones se unen y forman más grandes lesiones oscuras que cubren grandes áreas del fruto extendiéndose hacia abajo desde el extremo del tallo hacia el extremo distal de la fruta. Las lesiones de los frutos suelen ser poco profundas, afectando sólo a la piel, pero en condiciones favorables las lesiones se extienden hacia la pulpa (Agrios, 2005).

La antracosis del durazno, causada por la especie *Colletotrichum*, incluidas *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum acutatum*, es una grave amenaza para la producción de durazno, se designan como complejos de especies en varios estudios (Usman et al., 2021).

Las lesiones de la fruta aparecen como áreas firmes, marrones, hundidas (Figura 7a, c,d) que a menudo muestran anillos concéntricos (Figura 7e) de pequeños acérvulos anaranjados (Figura 7b,c,f). Los acérvulos producen conidios que se propagan principalmente por la lluvia y las salpicaduras. Si un conidio cae sobre tejido de la planta huésped susceptible, puede causar una infección secundaria. Se puede observar

engomado al infectar frutos (Figura 7a). Los frutos infectados no alcanzan la madurez. (Figura 7i), muestran atrofia y eventualmente se encogen por la pérdida de agua (Figura 7i, j). las lesiones en frutos verdes o maduros pueden colapsar (Figura 7 a y f). también puede infectar hojas con lesiones marrones (Figura 7g y h) y acérvulos anaranjados (Figura 7h), rama severa las infecciones pueden provocar la muerte regresiva de las mismas (Figura 7j) (Tan et al., 2022).



Figura 7. Síntomas de la antracnosis del durazno en frutos y hojas. (a–f) Varios síntomas en frutos de *Prunus persica* (a–c,f) y *P. persica* var. *nucipersica* (d,e): (a,c–e) lesiones en frutos y (b,f) lesiones en frutos maduros de durazno; (g,h) síntomas de antracnosis en las hojas; (i) frutos jóvenes momificados; (j) ramita infectada.

1.2.9.1. Taxonomía del género *Colletotrichum* spp.

La descripción formal más reciente del género *Colletotrichum* está dada por Jayawardena et al. (2020), sobre morfología y características culturales e información en medios estandarizados y condiciones de cultivo. El género se estableció en 1837, por Sutton, (1992). Von Arx (1957) revisó minuciosamente, reduciendo alrededor de 750 especies a 11 taxones, que fueron aumentando gradualmente, las especies son principalmente asexuales, pero algunos tienen un teleomorfo que puede ser ya sea homotálico o heterotálico y es el único género en la familia Glomerellaceae (Talhinhas & Baroncelli, (2021).

Colletotrichum comprende el estado asexual (anamorfo) de *Glomerella* (teleomorfo), el cual pertenece:

Reino: Fungi

Phyllum: Ascomycota

Clase: Hypocreomycetidae

Orden: Glomerellales

Familia: Glomerellaceae

Género: *Colletotrichum* spp. (Rojo-Báez et al., 2017)

1.2.9.2. Características morfológicas

Tradicionalmente, el género *Colletotrichum* se ha identificado mediante caracteres morfológicos que incluyen: tamaño y forma de conidios, y apresorios; presencia o ausencia de setas, esclerocios, acérvulos, estado teleomorfo; así como características culturales como por ejemplo color de la colonia, textura y tasa de crecimiento. *C. truncatum* presenta conidios unicelulares de tamaño 22.8 - 23.8 x 3 - 3.02 μm , hialinos, de paredes lisas, sin septos, la parte central por lo general se encuentra ligeramente curvada con paredes paralelas, que termina abruptamente en base redonda y truncada, con contenido granular (Figura 8A); en contraste, *C. gloeosporioides* presenta conidios ovoides de tamaño 13.56 - 14.24 x 4 - 4.02 μm (Figura 8B). Las colonias de *C. truncatum* son de forma circular o irregular, con margen entero, de coloración blanco a salmón o gris a negro con masas conidiales producidas en anillos concéntricos (Figura 8C) y las de *C. gloeosporioides* muestran crecimiento micelial de forma radial, con

margen entero u ondulado, generalmente de coloración blanco con masas conidiales de color anaranjado en el centro de la colonia (Figura 8D). Por otra parte, *Colletotrichum* presenta distintos morfotipos, como por ejemplo margen circular, entero, coloración de micelio gris, con masas conidiales anaranjadas (Figura 8E) (Rojo-Báez et al., 2017). Las masas de conidios aparecen de color rosa o color salmón. Los acérvulos son subepidérmicos y brotan a través de la superficie del tejido vegetal, puede presentar hifas similares a pelos estériles, largas y oscuras (Agrios, 2005).

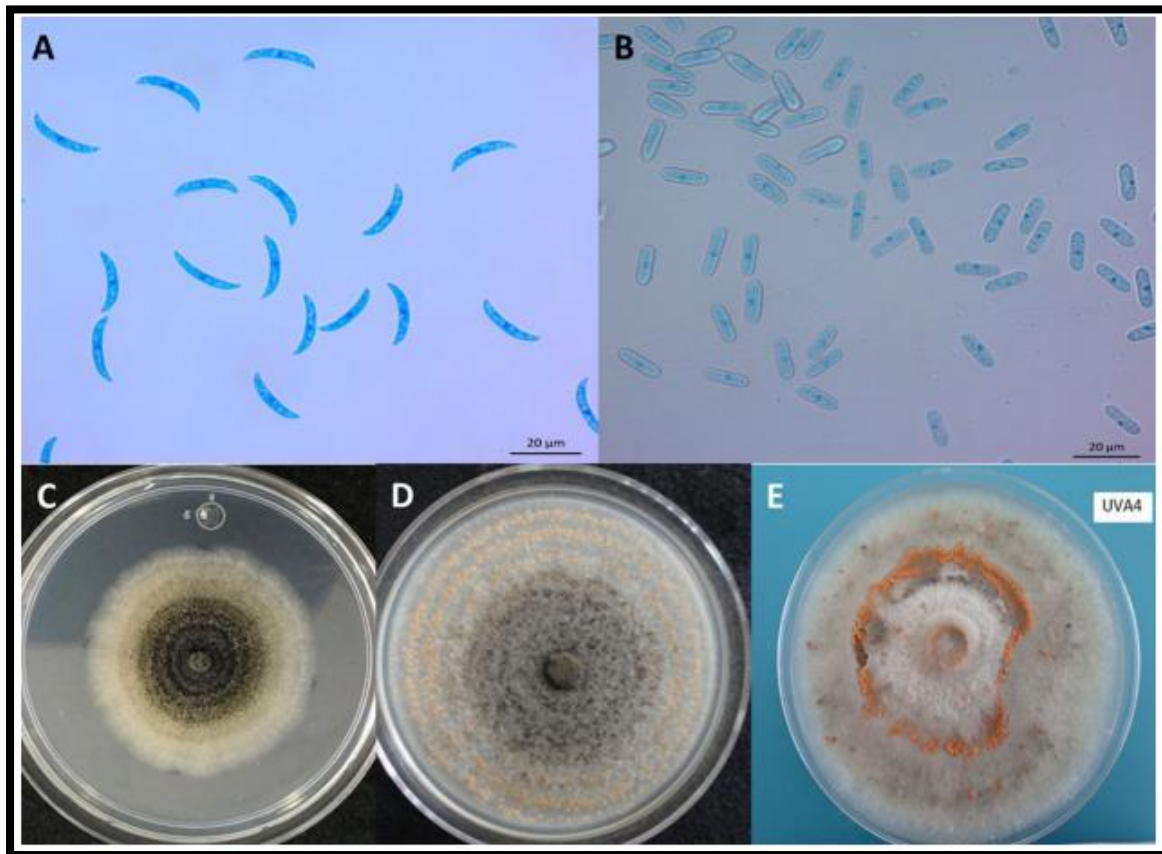


Figura 8. Características morfológicas de las principales especies de *Colletotrichum* en México. A) Conidios asexuales de *C. truncatum*; B) Conidios asexuales de *C. gloeosporioides*; C) Morfología colonial de *C. truncatum* en PDA; D) Morfología colonial de *C. gloeosporioides* en PDA; E) Morfología colonial de *Colletotrichum* sp. aislada de naranja.

1.2.9.3. Ciclo biológico

Casi todos los cultivos en todo el mundo sirven como hospedantes de al menos una especie de *Colletotrichum* varían en sus estrategias de infección en diferentes

huéspedes y especies y pueden infectar preferentemente diferentes tejidos, Sin embargo, los ciclos de enfermedad sobre todo en la infección de cultivos frutales de zonas templadas comparten varias similitudes generales. puede pasar el invierno en frutos momificados, tejido vegetativo infectado o en plantas asintomáticas. El complejo gloeosporioides pasa el invierno en la madera muerta y se desarrollan peritecios en las hojas caídas infectadas, durante las lluvias cálidas de primavera, se liberan ascosporas y conidias para iniciar infecciones primarias en el follaje y la fruta emergentes el patógeno generalmente se transmite por el agua y se propaga a través de las salpicaduras de lluvia y la infección generalmente es favorecida por climas cálidos y húmedos (Figura 9).

Las infecciones inactivas de frutos inmaduros, pueden provocar enfermedades en postcosecha, en cultivos de clima templado, como duraznos, uvas, fresas y manzanas y las infecciones latentes en manzanas pueden incluso aumentar durante el almacenamiento en frío (Dowling *et al.*, 2020)

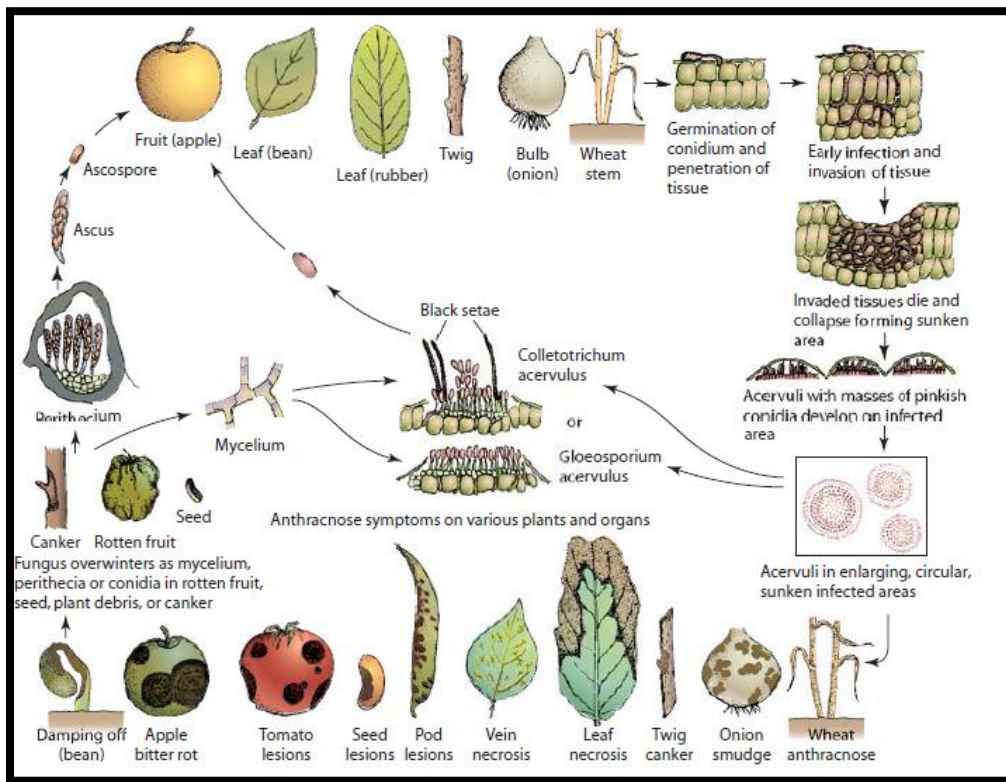


Figura 9. Ciclo de enfermedad de las enfermedades de antracnosis causadas por *Colletotrichum* sp.

1.2.10. *Fusarium* spp.

Fusarium es uno de los grupos más importantes de hongos fitopatógenos conocidos en la agricultura y la horticultura, causando una variedad de enfermedades en innumerables cultivos. Actualmente, existen más de 300 especies filogenéticamente distintas y casi la mitad no están formalmente descritas. El nombre *Fusarium* fue sancionado por Fries en 1821, y durante los siguientes 110 años se descubrieron y definieron nuevas especies, más a menudo que no sobre la base de la asociación de la planta huésped. (Summerell, 2019).

Causa diversas enfermedades, como pudrición de raíces, tronco, flores, ramas y frutos (Figura 10) (Dong et al., 2023).

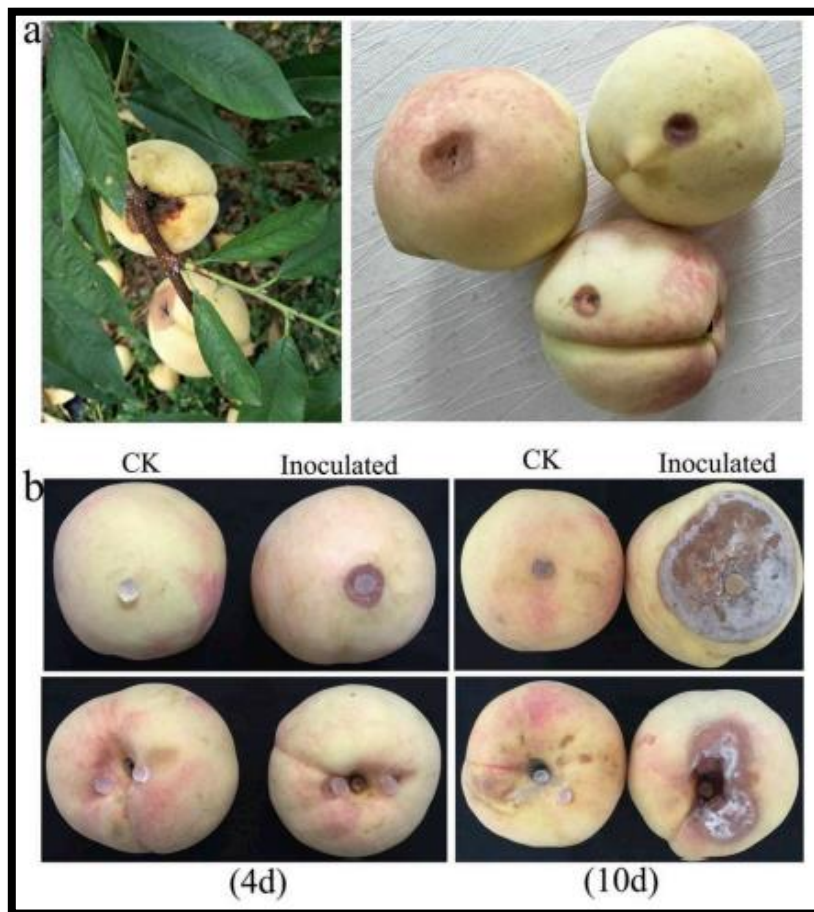


Figura 10. Síntomas de pudrición de frutos en duraznos (a) Se observaron síntomas de pudrición en frutos de durazno en un huerto; (b) prueba de patogenicidad en frutos de melocotón heridos con tapones de micelio (inoculados) que muestran síntomas 4 y 10 días después de la inoculación.

1.2.10.1. Taxonomía del género *Fusarium* spp.

La taxonomía actual de *Fusarium* está dominada por estudios filogenéticos moleculares (Crous et al., 2021). Aunque la historia revela que no ha habido ningún acuerdo unánime sobre la taxonomía de *Fusarium* entre los científicos, con información más precisa y sistemas taxonómicos avanzados, taxonomía adecuada y clasificación de *Fusarium* se espera que se generen así, el género permaneció y sigue siendo el más confuso e inestable en la historia de la taxonomía (Samiksha, y Kumar, 2021).

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium* spp. (EPPO, 2020; SENASICA, 2023).

1.2.10.2. Características morfológicas

Para la identificación de especies incluyen caracteres de la colonia, como la morfología de la colonia, la pigmentación y el tipo de micelio aéreo. También se incluyen las dimensiones y características de los conidióforos aéreos y células conidiógenas (mono- vs polifialidas), presencia/ausencia y características de los esporodoquios, los tipos de conidias producidas, por ejemplo, microconidias aéreas, mesoconidias y aéreas y macroconidios esporodoquiales. Al examinar los conidios mismos, se tiene en cuenta la forma general, la tabicación y la curvatura de los macroconidios, así como las características de sus células apicales y basales; con microconidios aéreos, sus dimensiones, forma, tabicación y organización espacial (formando cabezas viscosas, cadenas o una combinación de ambos) (Figura 11). Finalmente, la presencia o la ausencia de clamidosporas puede ser importante (Crous et al., 2021).

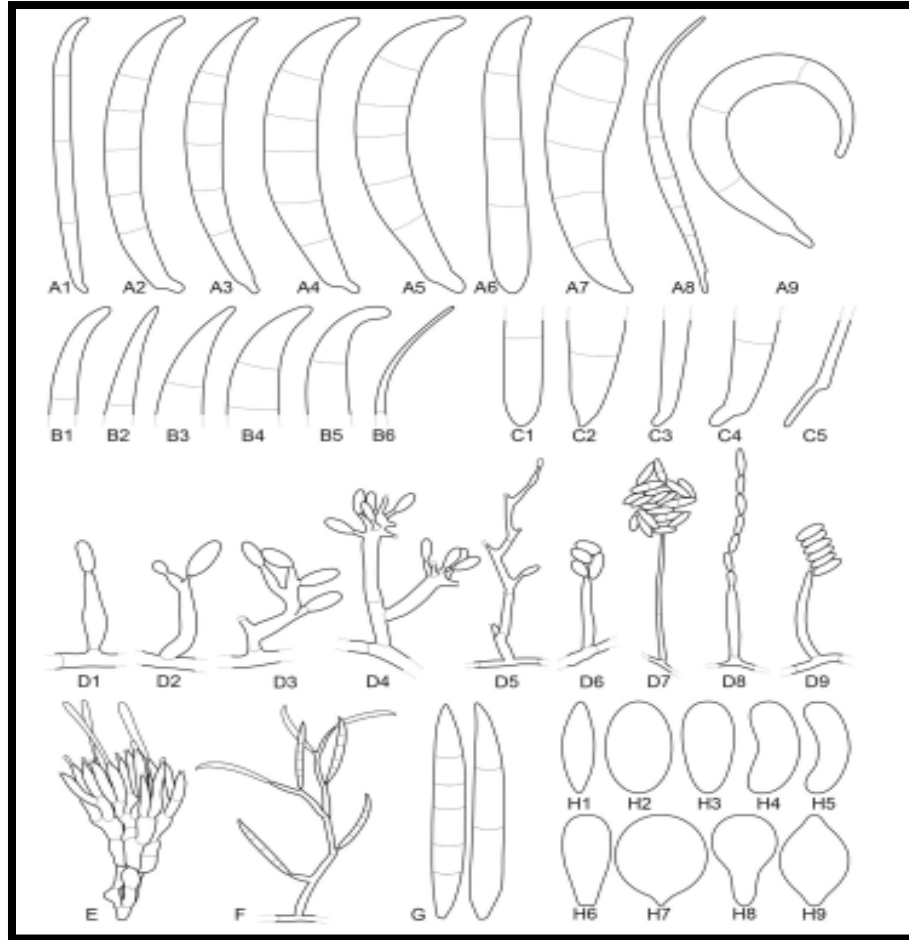


Figura 11. Características morfológicas básicas de los hongos fusarioideos. A. Formas macroconidiales. A1. Esbelto sin curvatura significativa. A2. Curva con paredes paralelas. A3. Desigualmente curvo. A4. Más ancho en la parte media. A5. Más ancho en el tercio apical, en forma de cuña. A6. Más ancho en la porción basal. A7. Irregularmente claviformes e hinchados. A8. Alargado, en forma de látigo. A9. Distintivamente curvo. B. Ápice macroconidial. B1. Curvo. B2. Largo y cónico. B3. Puntigudo. B4. Desafilado. B5. Enganchado. B6. Alargada. C. Base macroconidial. C1. Obtuso, sin forma de pie. C2. papilado, sin forma de pie. C3. Poco desarrollado, en forma de pie. C4. Bien desarrollado, en forma de pie. C5. Alargado, en forma de pie. D. Fialides aéreas y organización microconidial. D1. Monofialida. D2–D5. Polifialidas. D2. Polifialida simple. D3–D4. Polyphialides con múltiples loci conidiogenous. D5. Polifialidas proliferativas simpodiales. D6, D7. Microconidios formando falsos cabezas D8, D9. Microconidios en cadenas (D8. Cadena seca. D9. Empalizada). E. Conidióforo esporoquial y células conidiógenas. F. Conidióforo aéreo con mesoconidia. G. Mesoconidia. H. Formas microconidiales. H1. Fusiforme. H2. Oval. H3. Obovoide. H4. Reniforme. H5. alantoideo. H6. Clave. H7. napiforme. H8. piriforme. H9. Limoniforme (Crous et al., 2021).

Forma colonias que suelen ser pigmentadas y el color de las colonias puede variar de blanquecino a rosa, marrón o tonos de lila forma conidióforos que pueden ser ramificados, se distinguen además como macroconidios y microconidios. Características del cultivo: Colonias en PDA alcanzando 2,5–3 mm de diámetro a 25 °C después de 7 días. Superficie de color pajizo a lúteo, naranja pálido en el centro, plana o plegada radialmente, membranosa a viscosa, margen filiforme a ondulado; inverso lúteo pálido a naranja pálido En OA naranja a albaricoque pálido, plano, membranoso a viscosa, margen filiforme con abundante micelio sumergido; reverso naranja pálido (Figura 12). En general, el rasgo característico principal que es común entre casi todas las especies de *Fusarium* es la presencia de conidios en forma de plátano (Samiksha, y Kumar, 2021).

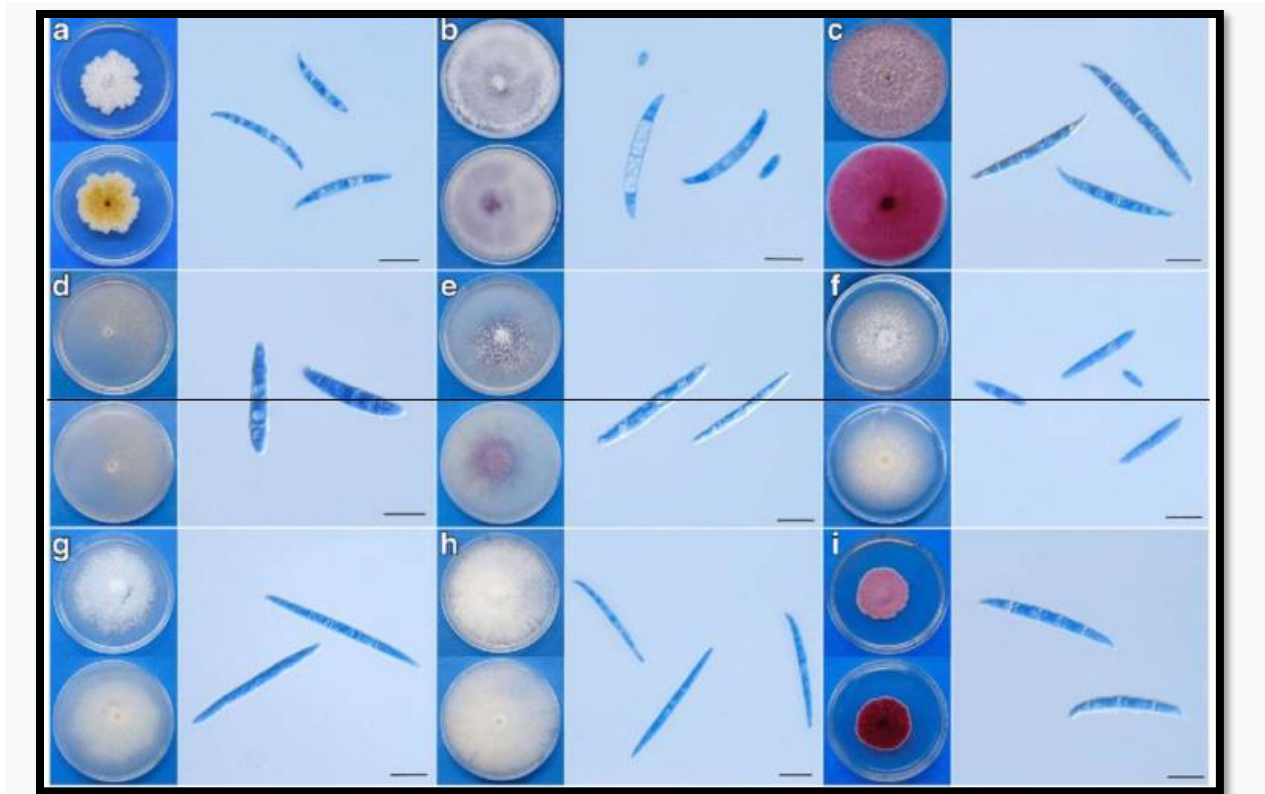


Figura 12: Colonias típicas y macroconidias de aislados de *Fusarium* en medio agar papa-dextrosa y macroconidios en medio de carboximetilcelulosa después de 5 días de crecimiento. a) *F. equiseti*; b) *F. oxysporum*; c) *F. graminearum*; d) *F. solani*; e) *F. commune*; f) *F. verticillioides*; g) *F. proliferatum*; h) *F. fujikuroi*; i) *F. avenaceum*. Barra de escala = 20 μm (Mokobi, 2021, SENASICA, 2023).

1.2.10.3. Ciclo biológico

El micelio es incoloro al principio, pero con la edad se vuelve de color crema, amarillo pálido, rosa pálido o algo morado. El hongo produce tres tipos de esporas asexuales. Microconidios, que tienen una o dos células, son las más frecuentes y abundantes esporas producidas en todas las condiciones, incluso dentro de las estructuras tubulares de plantas huésped infectadas. Los macroconidios son las esporas típicas de "*Fusarium*"; son de tres a cinco celdas, tienen extremos gradualmente puntiagudos y curvos, y aparecen en grupos similares a esporodoquios en la superficie de las plantas muertas por el patógeno. Las clamidosporas son de una o dos células, esporas redondas de paredes gruesas producidas dentro o terminalmente en micelio más viejo o en macroconidios. Tres tipos de esporas se producen en cultivos del hongo y probablemente en el suelo, aunque solo clamidosporas pueden sobrevivir en el suelo por mucho tiempo (Figura 13).

El patógeno es habitante entre cultivos, sobrevive en restos de plantas infectadas en el suelo como micelio y en todas sus formas de esporas, pero, más comúnmente, especialmente en el templado más frío regiones, como clamidosporas, se propaga en distancias cortas por medio del agua y contaminados equipos agrícolas y en largas distancias principalmente en trasplantes infectados o en el suelo transportado con ellos. Por lo general, una vez que un área se infesta con *Fusarium*, permanece así indefinidamente (Agrios, 2020).

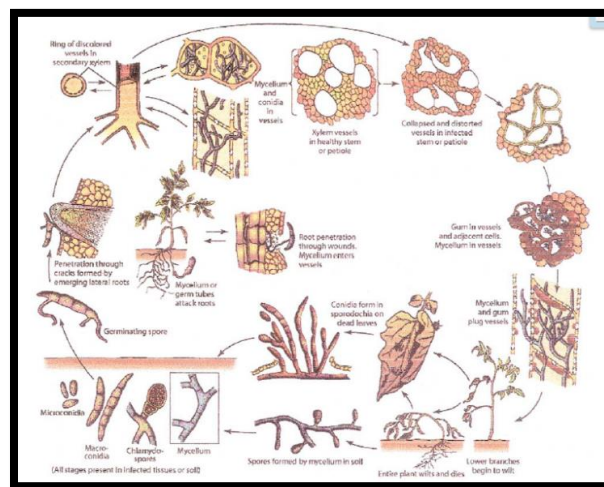


Figura 13. Ciclo de la enfermedad del marchitamiento por *Fusarium* en tomate.

1.2.11. *Epicoccum* spp.

El género *Epicoccum* se encuentran en la naturaleza como patógenos y saprobios; esta especie existe en todo el mundo en muchos hábitats diferentes a través de su capacidad para colonizar una miríada de sustratos como, suelo, aire, aguas marinas, agua, madera, roca, humano plantas, edificios y monumentos, museo, películas cinematográficas y otros. *Epicoccum nigrum* (L.) es un buen ejemplo del género *Epicoccum* porque se considera que tiene una distribución mundial

Su distribución, es extremadamente común y también se encuentra en muchos otros hábitats como tierra, papel mohoso, textiles, insectos y aire; y por lo general actúa como saprofito o invasor secundario de los tejidos senescentes de una planta (Samiksha, & Kumar, 2021).

El género *Epicoccum* fue reportado en Argentina como patógeno de semillas de *Lotus* spp. que también causó mancha foliar en *Lablab purpureus* (S.) y mancha marrón de la hoja en níspero, se describe como un descomponedor de tejidos vegetales, aunque ha sido descrito como un patógeno vegetal. Las especies también son capaces de causar enfermedades en diferentes plantas, por ejemplo trigo duro se ha informado que causa la torsión y el rizado de las hojas de la corona de *Saccharum officinarum* (L.), moho del grano y patógeno de la raíz en *Sorghum bicolor* y mancha foliar de *Nicotiana tabacum* (L.), *Paspalum dilatatum* (P.), *Bletilla striata* (T.), *Oxalis debilis* (K), *Camellia sinensis* (K), *Colocasia esculenta* (L.) pero en el estudio de las comunidades fúngicas en olivos se encontró que *Epicoccum* sp. fue uno de los hongos con plantas asintomáticas en el porcentaje (13,8%) de aislamientos fúngicos (Varanda et al., 2019; Samiksha & Kumar, 2021).

Además, se han estudiado aislamientos de *Epicoccum* en Filipinas los cuales fueron patogénicos en ensayos con hojas desprendidas y plantas. Los síntomas se observaron siete días después de la inoculación observando lesiones de color rojo oscuro con el centro claro en sitios no heridos y heridos en ensayos de hojas desprendidas. Se registraron lesiones con un centro de color pajizo y márgenes de color rojo oscuro y amarillo en ambos aislamientos en ensayos de planta (Figura 14). Los hongos eran reaislados de las hojas sintomáticas y eran idénticos a los hongos inoculados, confirmando a *Epicoccum sorghinum* (syn. *Leptosphaeria sacchari*) como patógeno

causal de la mancha anular de la caña de azúcar en Filipinas a través de análisis morfológicos y moleculares combinados (Laurel et al., 2021).



Figura 14. Patogenicidad de *E. sorghinum* utilizando tapones de micelio en heridas en caña de azúcar sembrada en planta siete días después de la inoculación (Laurel et al., 2021).

Por otro lado, el melocotón ha sido atacado por este hongo durante la temporada de crecimiento, así como después de la cosecha, durante el almacenamiento, transporte y comercialización, lo cual representa una preocupación importante para los productores debido a las pérdidas económicas, así como a los consumidores debido a los metabolitos tóxicos que puede producir (Huristic et al., 2023), cabe mencionar que este género ha sido considerado como un agente de control biológico debido a la capacidad antagónica de *E. nigrum* para inhibir el crecimiento de diferentes patógenos vegetales más peligrosas de las plantas (Figura 15). Es conocido como un antagonista de varias especies de *Fusarium* como *F. oxysporum*, *F. avenaceum*, *F. graminearum* y *F. verticillioides*, también puede suprimir crecimiento del micelio de *Rhizoctonia solani*, *Venturia inaequalis*, *Sclerotinia esclerotiorum*, *Diplodia corticola*, y *Monilinia laxa*, varios informes

representaron también el potencial de *E. nigrum* para controlar *Botrytis cinérea* (Christova & Slavtcho, 2021)

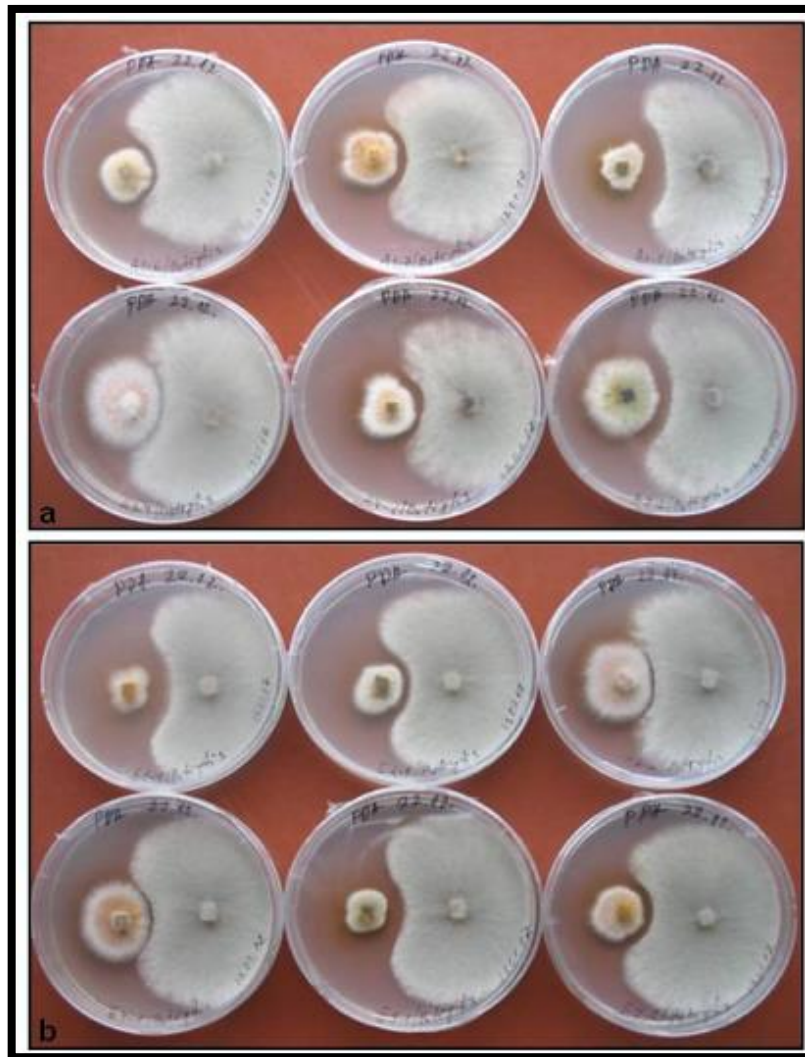


Figura 15. Ensayo de cultivo dual de aislados de *Epicoccum nigrum* contra *Botrytis cinerea* después de 5 días a 20°C (Christova & Slavtcho, 2021).

1.2.11.1. Taxonomía del género *Epicoccum* spp.

En el género *Epicoccum* se han descrito más 70 especies, pero se reducen a una sola especie variable *E. nigrum*. Existen estudios taxonómicos basados en multi-locus filogenia utilizando secuencias genéticas y diferencias morfológicas (Samiksha & Kumar, 2021).

Las especies de *Epicoccum* son especies fúngicas importantes debido a su capacidad para producir micotoxinas las cuales representan un riesgo para la salud de humanos y animales. Por ejemplo, *E. sorghinum* (syn. *Phyllosticta sorghina*), que causa el moho del grano en *Sorghum bicolor*, produce ácido tenuazónico (TeA). Puede ser tóxico para humanos y animales cuando se consumen en alimentos o productos contaminados, respectivamente (Taguiam et al., 2021).

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Dothideomycetes

Orden: Pleosporales

Familia: Didymellaceae

Género: *Epicoccum* spp. (Taguiam et al., 2021).

1.2.11.2. Características morfológicas

Epicoccum se describe como un hongo mitospórico anamórfico distribuido en todo el mundo, es filogenéticamente relacionado con *E. nigrum* y *E. pimprinum* como el primer morfo sexual registrado para el género en la naturaleza (Figura 16). *Epicoccum nigrum* Link es conocido como una especie. Se cree que este caso representa solo una variación intraespecífica, y puede presentarse de manera divergente en diferentes contextos (Samiksha & Kumar, 2021).

Las estructuras de resistencia de las especies mencionadas se han caracterizado por la formación de esporas fúngicas, los conidios y los fragmentos de hifas son componentes ubicuos y puede ocurrir en altas concentraciones, se reproducen de manera sexual o asexual. Las esporas pueden ser transportadas por el aire, agua o suelo y tienen su origen en diferentes fuentes naturales, como tipo de vegetación, suelo, animales, actividades humanas y contaminación del aire (Samiksha & Kumar, 2021).

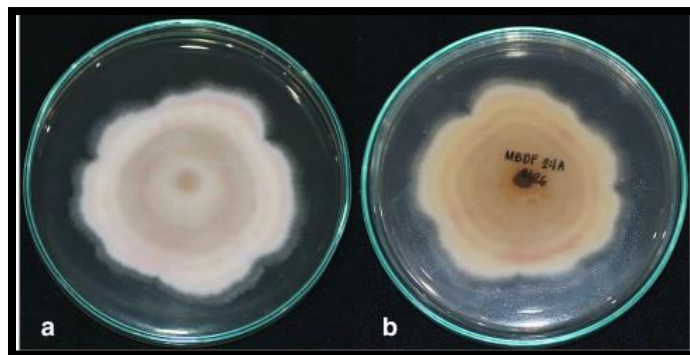


Figura 16. Cultivo de siete días de edad de *Epicoccum* fitopatogeno en sorgo (a, anverso; b, reverso) cultivadas en agar papa dextrosa (Taguiam et al., 2021).

Las clamidosporas son de color marrón grisáceo, con una verrugosa superficie, y unicelulares o pluricelulares (Figura 17), que van desde 10,0 (3,8 a 21,1) × 15,5 (6,16 a 29,2) μm. Los picnidios son de color marrón a marrón oscuro y de 43,8 a 597,9 μm de tamaño. Los conidios son unicelulares, hialinas, de forma ovalada o irregular, y de 2,8 (1,8 a 4,2) × 5,0 (2,6 a 6,8) μm de tamaño (Bao et al., 2019).

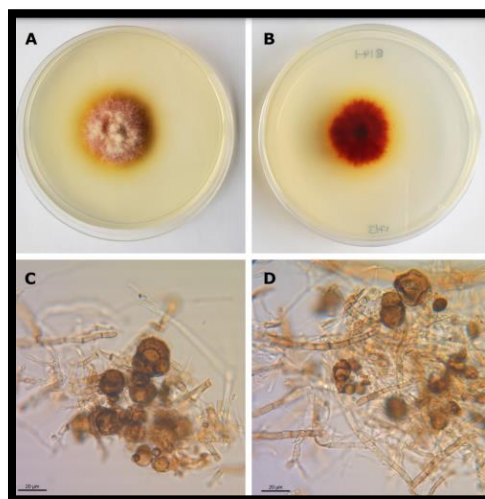


Figura 17. Morfología de la colonia, el micelio y la espora de *E. nigrum*. Anverso (A) y reverso (B) de 5 días de antigüedad en PDA Imágenes de microscopía representativas de fragmentos de micelio y conidios en diferentes estados de madurez (C, D) (Papp-Rupar et al., 2023).

Las esporas presentan puntos negros sobre un micelio amarillo rojizo que presenta secciones longitudinales y transversales de hifas mostrando diferencias en el grosor de la pared celular, rugosas y lisas (Ahumada et al., 2018). También pueden

formar conidióforos marrones amarillento, cortos, no bien diferenciados de las hifas ordinarias. Conidias solitarias o agregadas formando esporodoquios, marrones, globosos, ásperos en la superficie, ocasionalmente con hilio cilíndrico, muriforme compuesto de transverso y tabiques longitudinales (Figura 18), con conidióforos de hasta 20 μm de largo de 15–20 μm en diámetro (Watanabe, 2002).

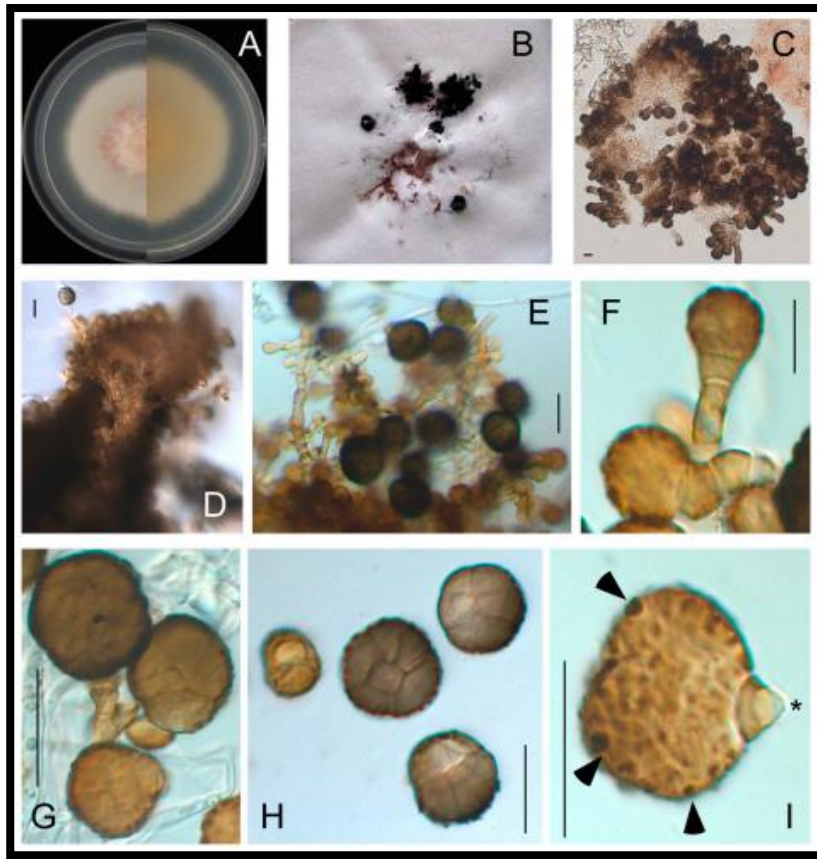


Figura 18. Características morfológicas del hongo endófito *Epicoccum dendrobii*. A, Vista superior e inversa de una colonia de *E. dendrobii* en placas de agar papa dextrosa (PDA) después de 7 días. B, *Stromata* de *E. dendrobii* desarrollado en placas PDA. C, Vista frontal de un estroma. D, Vista lateral de un estroma. E, Conidióforos. F, Conidióforos con tabiques. G, conidióforo ramificado. H, Conidios jóvenes y maduros. Yo, Conidio. El asterisco indica una célula basal. Las puntas de flecha indican la superficie tuberculada. Barras = 10 μm (Bian et al., 2021).

1.2.11.3. Ciclo biológico

Estos hongos acompañan a una planta ya en la etapa de semillas y se transmiten a las etapas consecutivas de la vida de la planta. El género *Epicoccum* es un hongo mitospórico distribuido extensamente y aislado comúnmente del aire, del suelo, de una gran variedad de plantas e insectos, de la piel humana, de textiles, etc (Figura 19). Se considera saprofita, en algunos casos se presenta como oportunista, siendo un invasor secundario de plantas. Se cultiva fácilmente, lo que le hace muy atractivo a nivel industrial. Crece tanto en medio líquido como en semisólidos y a diversos valores de actividad de agua. Los estudios más recientes se han centrado en las aplicaciones de los colorantes de *Epicoccum nigrum* en el control biológico de frutas (Bleaju, 2007). *Epicoccum* spp. también pueden llevar un estilo de vida endófito y comúnmente se aíslan de varios tejidos vegetales (Samiksha & Kumar, 2021).

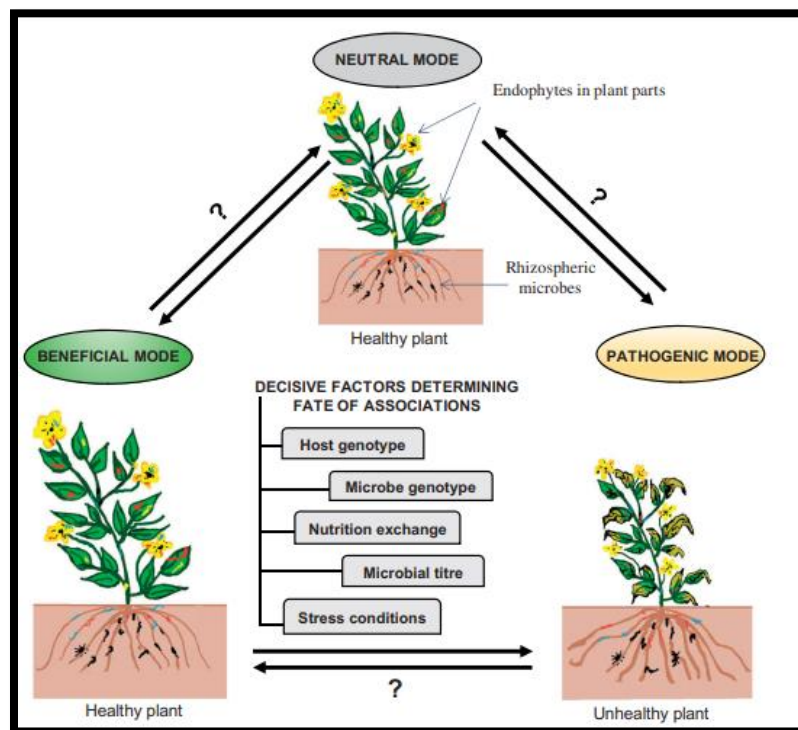


Figura 19. Resumen de la dinámica de las asociaciones planta-endofito. Las plantas prosperan al unísono con los endófitos (indicados por rojo, color azul, naranja y amarillo) y microbios rizosféricos (indicados por el color negro) en el medio ambiente. El destino o tipo de asociaciones plantendofitas, es decir, ya sea comensal (asociación neutral) o mutualista (asociación beneficiosa) o interacciones patógenas está determinado por

varios factores, como el genotipo del huésped y del microbio, el estado nutricional, el título microbiano y las condiciones de estrés predominantes (Mishra et al., 2021).

1.2.12. *Alternaria* spp.

Las diversas especies de *Alternaria* causan descomposición en la mayoría de las frutas y verduras frescas, si no todas, ya sea antes o después de la cosecha. Los síntomas aparecen como marrón o negro, manchas planas o hundidas con márgenes definidos, o como difusas, áreas grandes y deterioradas que son poco profundas o se extienden profundamente en la pulpa de la fruta o verdura. El hongo se desarrolla bien a una amplia gama de temperaturas, incluso en el refrigerador, aunque a un ritmo más lento. El hongo puede propagarse y pudre los tejidos internamente con poco o nada de micelio apareciendo en la superficie (Figura 20), pero generalmente se forma una capa de micelio que es blanca al principio, pero luego se vuelve marrón a negra en la superficie del área podrida (Agrios, 2005).

Desafortunadamente, la fruta *Prunus persica* (durazno) es altamente susceptible a *Alternaria* sp. esta vulnerabilidad se debe a su alto contenido de humedad, su elevado nivel de nutrientes, su piel delgada y las posibles condiciones inadecuadas de cosecha o almacenamiento. Todo esto puede resultar en pérdidas económicas significativas para la industria alimentaria y los productores (Meneg et al., 2021; Bacha et al., 2023).

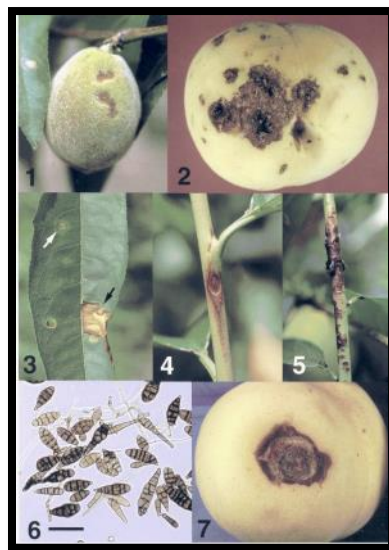


Figura 20. 1. Lesiones hundidas en frutos inmaduros de melocotón después de una infección natural. 2. Lesiones con grietas y gomosis en frutos maduros de durazno después de una infección natural. 3. Mancha grisácea circular (flecha blanca) y área necrótica a lo largo de la nervadura (flecha negra) que ocurre naturalmente en la hoja. 4. Mancha marrón hundida con zona fusiforme roja, el síntoma inicial en una ramita después de una infección natural. 5. Agrietamiento severo y necrosis con gomosis en ramitas naturalmente infectadas. 6. Conidios de aislado de melocotón de *Alternaria alternata* formados en medio líquido de albaricoque. 7. Lesión hundida con grietas en frutos maduros después de la inoculación de frutos inmaduros con suspensiones de *A. alternata* en un disco de papel (Inoue & Nasu, 2000).

1.2.12.1. Taxonomía del género *Alternaria* spp.

En la taxonomía actual, el género *Alternaria* queda incluido entre los hongos con desarrollo conidial blástico y conidiogénesis enteroblástica trética. Los conidios forman largas cadenas y su morfología es típicamente obclavada y rostrada (Frega et al., 2002).

Reino: Fungi

Phylum: Ascomicota

Clase: Dothideomycetes

Orden: Pleosporales

Familia: Pleosporaceae

Género: *Alternaria* spp. (Rivas & Mühlhauser, 2014; Pérez et al, 2023)

1.2.12.2. Características morfológicas

El género *Alternaria* forma parte de los Fungi Imperfecti y concretamente en la subclase de los Hifomicétidos, se caracteriza por poseer un soma formado por hifas septadas bien desarrolladas y presentar reproducción por medio de conidios pluricelulares que siguiendo la terminología saccardoana, se denominan dictiosporas feodicticas y se caracterizan por ser ovoides a oblongos, netamente septados transversalmente y longitudinalmente. Los conidios son dematiáceos (Frega et al., 2002).

El género *Alternaria* se caracteriza por conidios grandes, multicelulares y melanizados, que puede poseer tabiques longitudinales y transversales (Figura 21). Las

esporas suelen ser más anchas en la base y se estrechan hacia el final. La disminución al final de las esporas se conoce comúnmente como "pico". Esporas a menudo se producen en conidióforos en cadenas que pueden ramificarse o dar lugar a conidióforos secundarios que producen otras esporas. Son principalmente los caracteres de esporas individuales y la esporulación patrones que se utilizan para diferenciar especies morfológicas dentro del género. Los taxones se han considerado problemáticos durante mucho tiempo. Se han descrito más de 1000 especies y 275 nombres están en uso actual (Puvaca *et al.*, 2020)

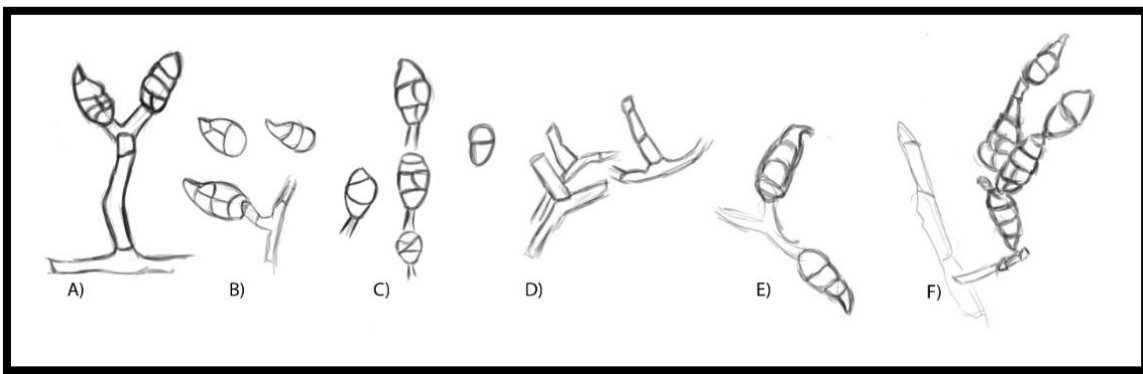


Figura 21. Morfología del género *Alternaria*. A) Conidióforo macronematoso con una rama dando origen a los poroconidios. B) Conidióforo corto no ramificado con un dictioconidio. C) Conidios con septos transversales, longitudinales y oblicuos. D) Conidióforos a partir del micelio. E) Conidios con septos transversales. F) Conidios en cadenas con sucesión acrópeta (Pérez *et al.*, 2023).

1.2.12.3. Ciclo biológico

Las infecciones por *Alternaria* generalmente ocurren en las hojas y tallos de la planta huésped. Las manchas de las hojas son reconocidas por lesiones necróticas negras rodeadas de halos cloróticos. La necrosis de la hoja puede conducir a una reducción de la comerciabilidad para cultivos frondosos, también puede dar como resultado que el hospedante corte las hojas, reduciendo indirectamente el potencial fotosintético y los rendimientos de los cultivos, como es el caso de la manzana y la pera (Figura 22). *Alternaria* spp. también causa mancha de fruta. Están conduciendo a una menor comerciabilidad de los cultivos, un problema significativo en frutas cítricas, también

incurrir en pérdidas económicas poscosecha, esto refleja la saprotrófica/oportunista necrotrófica estilo de vida común a través de las especies de *Alternaria*. (Puvaca et al., 2020)

Sus esporas están presentes en el aire y polvo en todas partes y son uno de los hongos más comunes causan las alergias a la fiebre del heno. Las esporas también aterrizan y crecen como contaminantes en cultivos de laboratorio de otros microorganismos y en tejido vegetal muerto asesinado por otros patógenos u otras causas. En realidad, muchas especies son en su mayoría saprofitos, es decir, no pueden infectar tejidos de plantas vivas, pero crecen sólo en plantas muertas o tejidos vegetales en descomposición y, a lo sumo, sobre senescentes o viejas tejidos como pétalos viejos, hojas viejas y frutos maduros (Agrios, 2005).

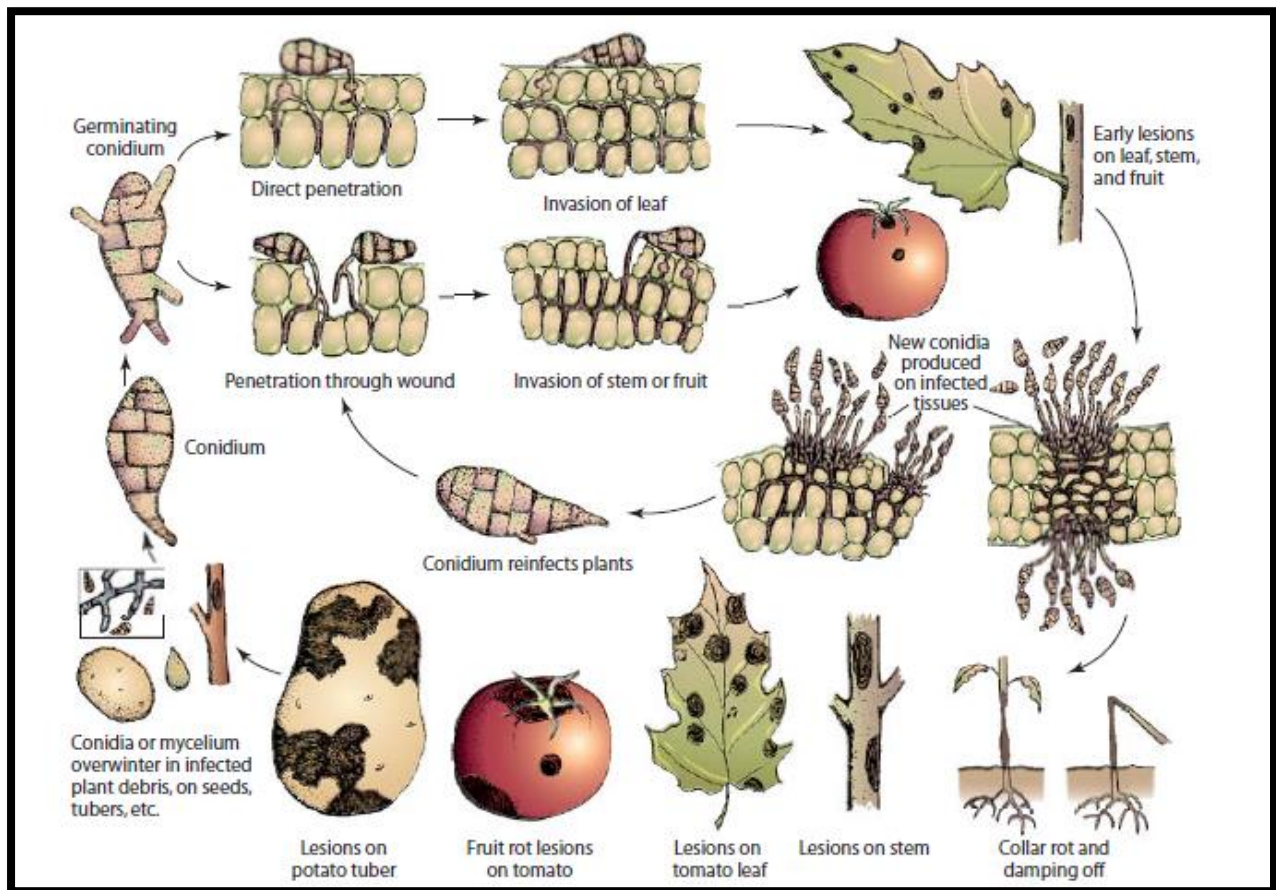


Figura 22. Desarrollo y síntomas de enfermedades causadas por *Alternaria* (Agrios, 2005).

1.2.13. Hongos foliares en poscosecha

Los patógenos poscosecha de origen fungoso son considerados la causa de pérdidas poscosecha en frutos y vegetales frescos, el porcentaje de pérdidas de frutos y vegetales durante el manejo poscosecha, almacenamiento y empaque 34% en el Sur y Suroeste de Asia, 30% en América Latina, Asia Central y Norte de África, 10% en países industrializados de Asia, 7% en Europa y 6% en Norteamérica y Oceanía. Especies de hongos dentro de los géneros *Penicillium*, *Botrytis*, *Monilinia*, *Rhizopus*, *Alternaria*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Mucor*, *Gloeosporium* y *Colletotrichum*, representan los patógenos responsables de las enfermedades poscosecha más importantes (Gómez et al., 2017).

1.2.14 Métodos de control para fitopatógenos foliares

Debido a la gran importancia que ha adquirido las enfermedades, día con día ha sido difícil erradicar el ataque de estos fitopatógenos por completo, por lo que aquí destacan algunos métodos que ayudan a minimizar o reducir las grandes pérdidas económicas: prácticas culturales, control biológico y control químico.

1.2.14.1 Control químico

Aunque el uso de fungicidas químicos para el manejo de enfermedades poscosecha de frutos y vegetales sigue siendo el método de control más utilizado, los efectos en la salud por los residuos de fungicidas y el medio ambiente, así como el desarrollo de biotipos resistentes de patógenos asociados a su uso continuo, han generado el establecimiento de estrictas normas regulatorias y fuertes demandas de los consumidores para reducir al máximo el uso de químicos en sus suministros de alimentos (Gómez et al., 2017).

1.2.14.2. Prácticas culturales

El manejo cultural es la manipulación del ambiente en el vivero para hacerlo menos favorable a la presencia de enfermedades, se recomienda utilizar las siguientes actividades: Podar el exceso de vegetación, fertilizar los plantines para proveerles una nutrición adecuada, mayor desarrollo y vigor, cuidar la densidad de almácigo y manejo de riego y eliminar malezas (Álvarez & Centellas, 2012).

Hay disponibles varias variedades de durazno resistentes a enfermedades, pero muchos de los más populares son moderadamente a altamente susceptibles. Parece que todos los cultivares de durazno son susceptibles a algunos aislados de hongos (Agrios, 2005). Es por ello que han surgido planes de mejoramiento de este cultivo, mediante la multiplicación de forma vegetativa realizada mediante injerto de yema o plumas, omitiéndose el proceso de siembra de la delicada semilla. La micropropagación a partir de yemas axilares es una técnica utilizada en cultivos de importancia económica, empleando medios de cultivo con agentes específicos; hormonas, minerales, vitaminas, fuentes de carbono y agentes gelificantes en condiciones controladas de temperatura, humedad y luz (Hernández et al., 2022).

1.2.14.3 Control biológico

Desde 1950, cuando se iniciaron algunos ensayos tendientes al control biológico de fitopatógenos foliares, son muchos los microorganismos que se han utilizado; tal es el caso de *Fusarium* spp. y *Penicillium claviforme*, aislados del cultivo de lechuga para minimizar el establecimiento primario de *Botrytis cinerea*. Además, *Cladosporium herbarum* controló el moho gris en fresa cuando se protegieron las flores bajo condiciones de campo. *Trichoderma hamatum* redujo el moho gris de la vaina del frijol, ocasionada por *B. cinerea*. Algunas especies de levaduras y bacterias también han sido reportadas como efectivas en el control de *B. cinerea* en frijol y tomate. Por ejemplo, *Bacillus brevis* redujo en un 64-71% el moho gris de la col china. Muchos otros microorganismos se han utilizado para controlar enfermedades foliares; sin embargo, se destacan la bacteria *Bacillus subtilis* y los géneros fúngicos *Trichoderma*, *Ampelomyces* y *Rhodotorula*, siendo *Trichoderma* spp. el microorganismo más utilizado (Rios-Velsaco et al., 2015; Cotes et al., 2018; González-León et al., 2022).

1.2.15. El género *Trichoderma* spp. como especie antagónica de hongos fitopatógenos foliares

La colonización exitosa de un hábitat dado por cualquier organismo depende de manera crucial de su potencial para defender su nicho ecológico y prosperar a pesar de la competencia por nutrientes, espacio y luz, sus mecanismos de defensa comprenden tanto sustancias enzimáticas como químicas, lo que hace que *Trichoderma* spp.

interactúe como mico parasítico, antagonista y agente de biocontrol eficiente. Además secreta metabolitos como fungicidas biológicos para combatir enfermedades de las plantas causadas por hongos patógenos. Por lo tanto, *Trichoderma* spp. juegan un papel importante en la interacción de tres vías con la planta y el patógeno (Schuster & Schmoll 2010).

En sus acciones defensivas, *Trichoderma* spp. aplica enzimas líticas, proteolíticas, bombas de membrana transportadoras ABC, metabolitos difusibles o volátiles y otros metabolitos secundarios como medidas activas contra sus huéspedes o tienen éxito al alterar las condiciones de crecimiento de los patógenos. Curiosamente, el éxito de estas acciones no es independiente de la temperatura ambiente, que puede ser crucial para el uso como agente de biocontrol en diferentes climas. Los estudios a gran escala sobre la expresión génica durante el control biológico reflejan, al menos en parte, estos hallazgos y revelan componentes adicionales con eficacia potencial, como un superóxido dismutasa y aminoácido oxidasa para ser secretada bajo estas condiciones. Además, también se ha demostrado que la respuesta de *Trichoderma* a su huésped implica una respuesta al estrés, una respuesta a la escasez de nitrógeno, el control de vías cruzadas, el metabolismo de los lípidos y los procesos de señalización (Schuster & Schmoll 2010).

1.2.15.1. Clasificación taxonómica

Debido a su amplio número de especies conocidas y alta diversidad genética, *Trichoderma* es un género que debe ser estudiado a nivel molecular, ya que su identificación con parámetros morfológicos es actualmente considerada insuficiente. Según estudios realizados, se afirma que se ha logrado distinguir alrededor de 228 especies del género *Trichoderma*, sin embargo, nuevas especies continúan siendo identificadas en la actualidad (Sánchez et al., 2021).

De acuerdo a Martínez et al., (2015) la Taxonomía de este género es complicada. En 1794, Persoon describió el género *Trichoderma* y aún en la actualidad se continúa profundizando en este aspecto

Reino: Mycetozoa (fungi)

División: Eumycota

Clase: Ascomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocraceae

Género: *Trichoderma* spp.

1.2.15.2. Características generales del género *Trichoderma* spp.

Trichoderma produce tres tipos de propágulos: hifas, clamidosporas y conidios, las cuales son activas contra fitopatógenos en diferentes fases de ciclo de vida, desde la germinación de la spora hasta la esporulación, además ésta reúne una serie de características en su interacción directa con el patógeno, que hace de este organismo un buen agente antagonista de hongos causantes de enfermedades en los cultivos. Se han descrito alrededor de 40 especies de *Trichoderma* spp., hasta la fecha de los cuales más de 20 se han descrito para usos agrícolas se encontraron nueve especies de *Trichoderma* identificadas morfológica (Figura 23 y 24) y molecularmente: *Trichoderma asperellum*, *T. brevicompactum*, *T. harzianum*/H. *lixii*, *T. koningiopsis*/H. *koningiopsis*, *T. longibrachiatum*/H. *sagamiensis*, *T. pleuroticola*, *T. reesei*/H. *jecorina*, *T. spirale* y *T. virens*/H. *virens* (López et al., 2017).

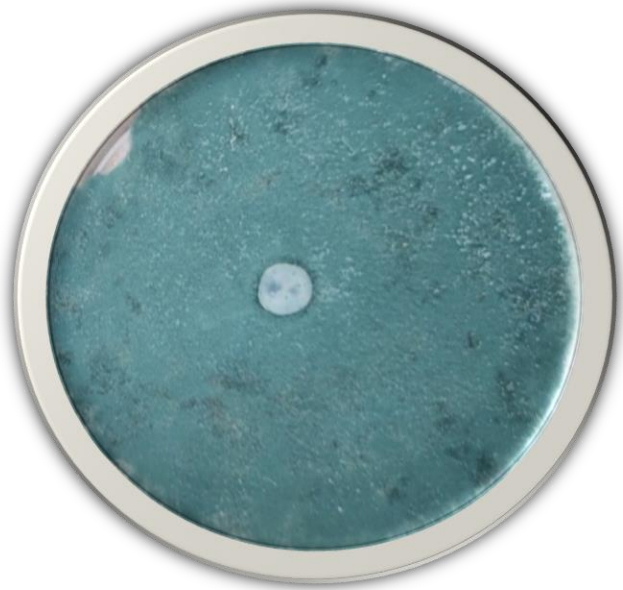
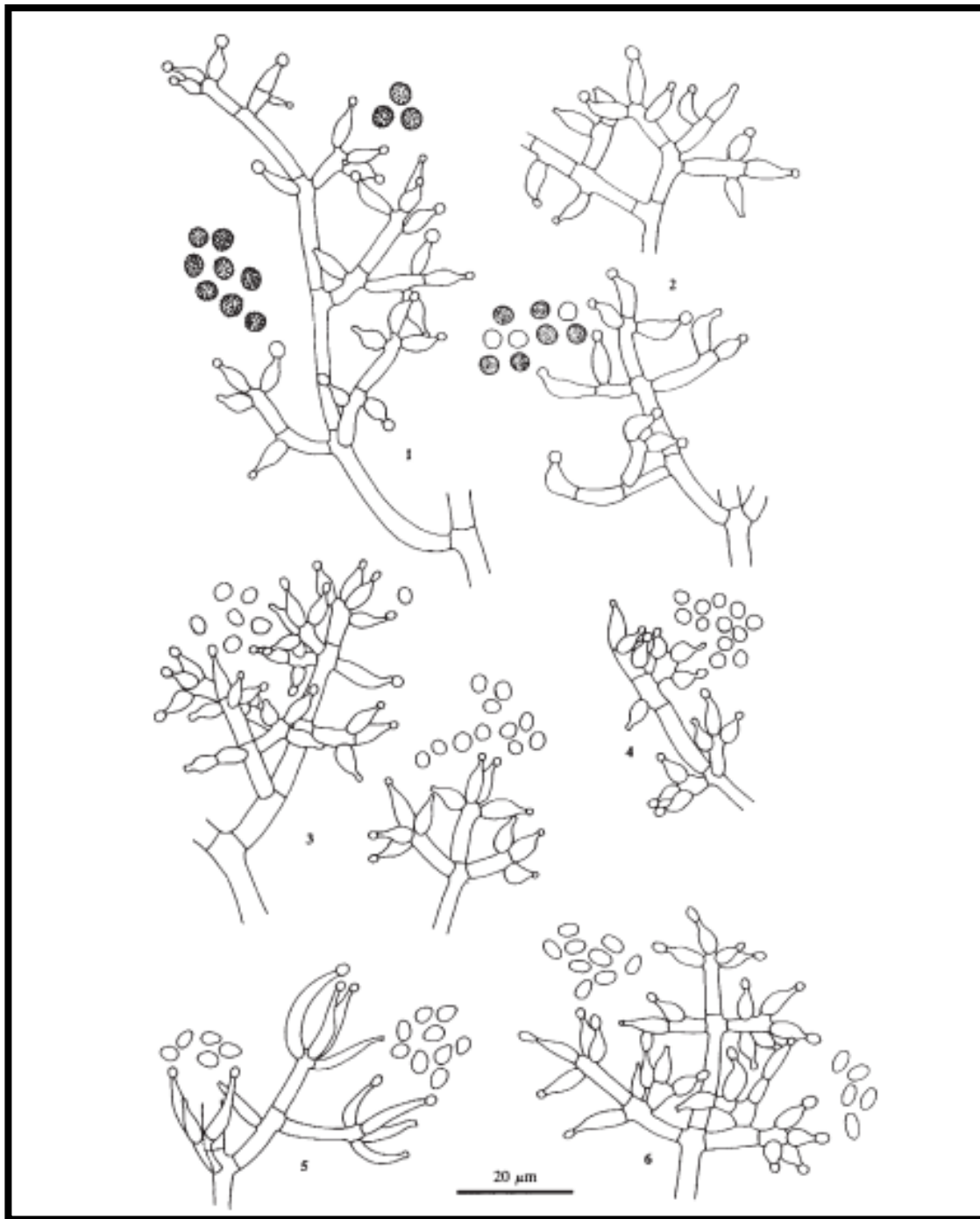


Figura 23. Cepa de *Trichoderma asperelloides* aislada de raíz de *Prunus persica* L variedad amarillo.



Figuras 24. *Trichoderma viride*, 2. *T. atroviridae*, 3. *T. harzianum*, 4. *T. inhamatum*, 5. *T. aureovirida*, 6. *T. koningii* (Kubicek & Harman, 2002).

1.2.15.3. Ciclo de vida

Trichoderma es un hongo aeróbico, con capacidad para resistir un amplio intervalo de temperaturas con crecimiento desde 4°C hasta 41°C dependiendo la especie, su mayor colonización es de 20-30°C, por lo que temperaturas entre 10°C a 15°C existe baja disponibilidad de nutrientes esenciales, la luz y su espectro influyen en el desarrollo, fundamentalmente sobre la esporulación. Pueden crecer en suelos con pH desde 5.5 a 8.5, aunque los valores óptimos se encuentran entre 5.5 a 6.5 es decir, en un ambiente ligeramente ácido, se activa con la presencia de humedad, con óptimo de 60% de la capacidad de retención de humedad del suelo (Figura 25). A porcentajes mayores de saturación, la colonización y sobrevivencia disminuyen por baja disponibilidad de oxígeno, se encuentran en suelos con abundante materia orgánica siendo un hongo cuyo hábitat es el suelo y la mayoría de estos procesos se efectúan en la rizosfera (Franco et al., 2012).

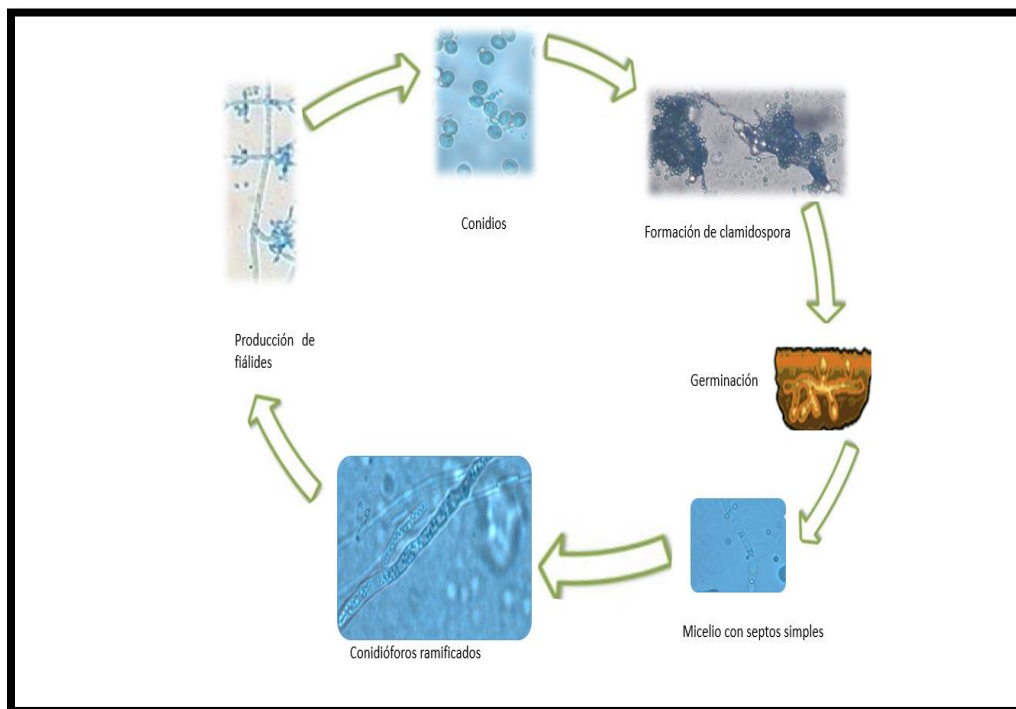


Figura 25. Ciclo de vida asexual de *Trichoderma* spp. (Martinez et al., 2013; Ceballos et al., 2021).

1.3. JUSTIFICACIÓN

México es uno de los principales productores de durazno a nivel mundial y una de las limitantes para el desarrollo óptimo de este cultivo son las enfermedades fungosas. En Chihuahua, son escasos los estudios realizados con respecto a la patogenicidad de enfermedades fúngicas; los cuales dan origen a síntomas severos desde plántulas hasta producción, ocasionando pérdidas de producción anual los cuales pueden alcanzar el 65%, estos agentes pueden afectar a las plantas en diferentes estadios de desarrollo y disminuir su vida útil. Debido a lo anterior, es necesario identificar a los agentes causales de enfermedades del cultivo de durazno en los principales municipios con mayor producción en Chihuahua, determinar su rango de hospedantes, evaluar su efecto postcosecha y probar la actividad antagónica *in vitro* de hongos benéficos como *Trichoderma* spp., contra estos fitopatógenos favoreciendo con esta práctica la implementación de nuevas alternativas sustentables que contribuyan a la sanidad del cultivo y al medio ambiente.

1.4. HIPÓTESIS

Existen al menos dos géneros de fitopatógenos presentes en el cultivo de durazno (*Prunus persica* L.) en el sur de Chihuahua, que muestren grado de virulencia, rango de hospedantes y susceptibilidad al efecto antagónico de *Trichoderma* spp.

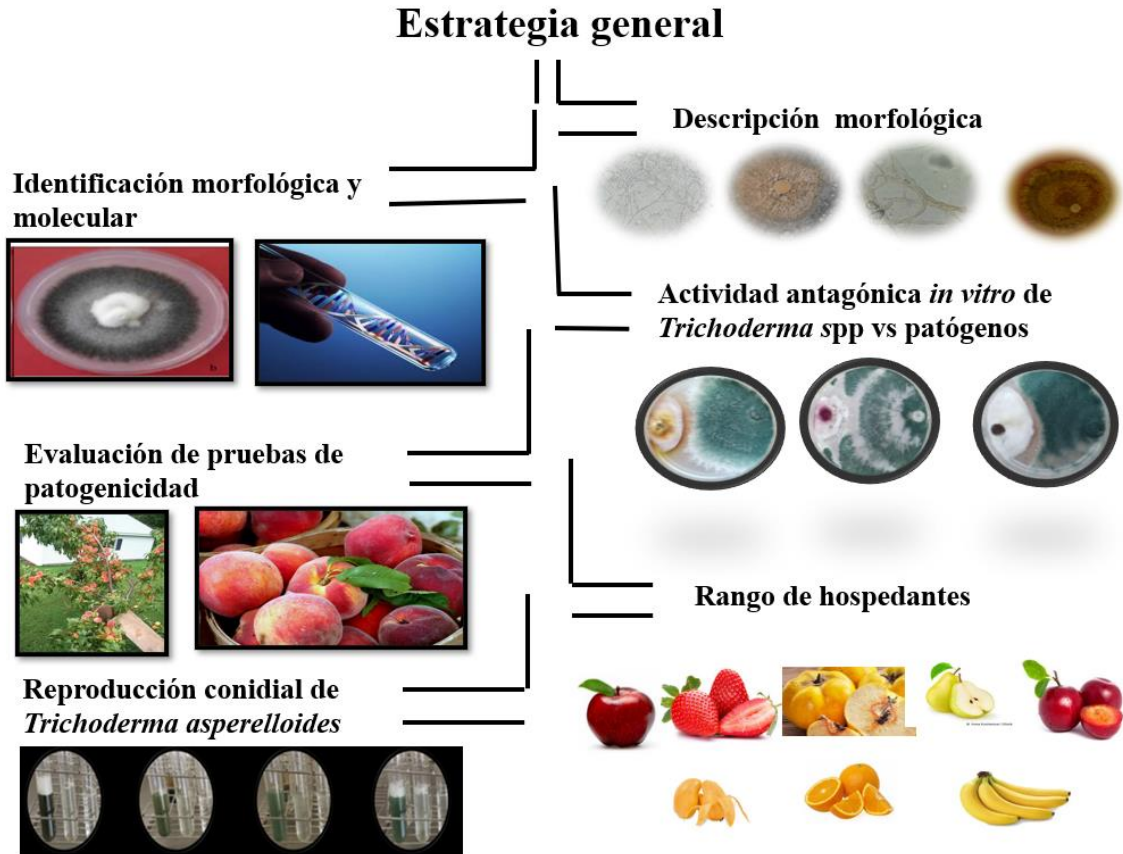
1.5. OBJETIVO GENERAL

Identificar los géneros y especies de fitopatógenos que causan enfermedades en el cultivo de durazno (*Prunus persica* L.) en el sur de Chihuahua y caracterizarlos en relación patogénica, rango de hospedantes y susceptibilidad al efecto antagónico de *Trichoderma* spp. a nivel *in vitro* como en planta.

1.5.1. Objetivos específicos

- Describir la morfología de los hongos antagónicos y fitopatógenos presentes en el sur de Chihuahua.
- Identificar a nivel molecular los fitopatógenos causales de enfermedades en el cultivo de durazno (*Prunus persica* L.) y antagónicos presentes en la región.
- Probar la actividad antagónica *in vitro* de cepas de *Trichoderma* spp. contra fitopatógenos nativos del sur del estado de Chihuahua mediante confrontación dual.
- Evaluar la patogenicidad de los aislados fungosos seleccionados en laboratorio frente *Trichoderma* spp. en plantas de un año de edad de durazno (*Prunus persica* L.) de la variedad prisco, bajo condiciones de invernadero.
- Describir el rango de hospedantes de los aislados fitopatógenos en frutos de manzano (*Malus domestica*), fresa (*Fragaria* spp.), ciruela (*Prunus domestica*), pera (*Pyrus communis*) y membrillo (*Cydonia oblonga*) y en hoja de variedades amarillo, prisco y blanco.
- Evaluar la actividad biológica a través de la reproducción conidial de *Trichoderma* spp. en medios de cultivos y sustratos orgánicos.

1.6 ESTRATEGIA GENERAL



CAPÍTULO 2. IDENTIFICACIÓN Y EVALUACIÓN ANTAGÓNICA *in vitro* DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. NATIVAS CONTRA FITOPATÓGENOS FOLIARES²

RESUMEN

El interés en el control biológico de fitopatógenos ha aumentado de manera considerable, debido a la necesidad de introducir alternativas eficaces amigables con el medio ambiente, y dejar a un lado el uso masivo de agroquímicos. *Trichoderma* es un agente antagónico utilizado como medio natural contra fitopatógenos. El objetivo de la presente investigación fue aislar e identificar morfológica y molecularmente cepas nativas de *Trichoderma* sp. del sur del estado de Chihuahua, México, probando su capacidad antagónica contra fitopatógenos. Se aislaron cuatro cepas de *Trichoderma* sp asociadas a plantas como *Prunus persica*, *Pinus sylvestris* y *Arbutus unedo*. En las pruebas de antagonismo *in vitro* se evaluaron las cepas 1, 3, 5 y 8 contra los fitopatógenos *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp., *Monilinia* sp. y *Collectotrichum* sp. sometiendo los datos a la prueba ANOVA de Aligned Rank Transformation con 10 tratamientos y siete repeticiones más un testigo. La identificación morfológica de los antagonistas se llevó a cabo de acuerdo con las características de la cepa, crecimiento físico y desarrollo estructural de resistencia, secuenciado los genes EF1-728F (5'-CATCGAGAAGTTTCGAGAAGG-3') y TEF1LLErev (5'-AACTTGCAGGCAATGTGG-3') y los cebadores ITS1 e ITS4 (ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') / ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3')) para identificar las especies presentes. Todas fueron identificadas como *Trichoderma asperelloides* que presentaron un aceptable control de fitopatógenos. La prueba post hoc detectó diferencias significativas en la cepa 1 presentando 81.2% de control biológico *in vitro*. Se sugiere realizar evaluaciones en planta de durazno a nivel campo.

Palabra clave: Antagonismo *in vitro*, control biológico, duraznero, molecular, morfológica.

²Este capítulo se publicó en la Revista del Museo Argentino de Ciencias Naturales n.s. octubre 2023-julio 2024. 26(1): 109-120, 2024 [Doi: 10.22179/REVMACN.26.833](https://doi.org/10.22179/REVMACN.26.833)

ABSTRACT

Interest in the biological control of phytopathogens has increased considerably, due to the need to introduce effective environmentally friendly alternatives, and put aside the massive use of agrochemicals. *Trichoderma* is an antagonistic agent used as a natural means against phytopathogens. The objective of the present investigation was to isolate and identify morphologically and molecularly native strains of *Trichoderma* sp. from the south of the state of Chihuahua, Mexico, testing its antagonistic capacity against phytopathogens. Four strains of *Trichoderma* sp were isolated associated with plants such as *Prunus persica*, *Pinus sylvestris* and *Arbutus unedo*. In the *in vitro* antagonism tests, strains 1, 3, 5 and 8 were evaluated against the phytopathogens *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp., *Monilinia* sp. and *Collectotrichum* sp. subjecting the data to the Aligned Rank Transformation ANOVA test with 10 treatments and seven repetitions plus a control. The morphological identification of the antagonists was carried out according to the characteristics of the strain, physical growth and structural development of resistance, sequencing the TEF genes EF1-728F (5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3') y TEF1LLErev (5'-AACTTGCAGGCAATGTGG-3'), and the primers ITS1 and ITS4 (ITS1 (5'- TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') / ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') to identify the species present All were identified as *Trichoderma asperelloides* that presented acceptable control of phytopathogens. The post hoc test detected significant differences in strain 1. presenting 81.2% *in vitro* biological control. It is suggested to carry out evaluations in peach plants at field level.

Keywords: *in vitro* antagonism, biological control, peach tree, molecular, morphological.

2.1. INTRODUCCIÓN

A nivel mundial el duraznero (*Prunus persica* L.) ocupa el segundo lugar entre los cultivos de frutales con hueso, después de la nectarina, y el 12^{vo} lugar de frutales (FAOSTAT, 2022). En México se producen 94.836,71 t (SIAP, 2022), las cuales el 9.33% se produce en el estado de Chihuahua (SIAP, 2022). No obstante, en el cultivo se presentan diversas enfermedades que ocasionan pérdidas significativas de rendimiento, lo que lleva a serios problemas económicos en el sector productivo y social. Los hongos fitopatógenos del durazno han recibido especial atención, ya que pueden ser muy destructivos (Udayanga *et al.*, 2020). Entre ellos podemos mencionar a diferentes especies del género *Monilinia* sp. causantes de la podredumbre parda del melocotón (Hu *et al.*, 2011); *Fusarium* sp. como agente causal de la fusariosis o enfermedad del marchitamiento; *Epicoccum* sp. causante de manchas en la hojas, frutos o semillas; *Alternaria* sp. causante de la podredumbre de los frutos y *Collectotrichum* sp., ocasionando la antracnosis del durazno, entre otras no menos importantes (Ren *et al.*, 2019; Wu *et al.*, 2019).

El control biológico de fitopatógenos ha aumentado en los últimos años, debido a la necesidad de introducir alternativas más respetuosas con el medio ambiente y disminuir el uso excesivo de fitosanitarios (Corke, 1975; Fira *et al.*, 2018; Mazrou, *et al.*, 2020). Los organismos para control biológico actúan contra los fitopatógenos de varias maneras, tales como: micoparasitismo, supresión mediada por antibióticos, producción de enzimas líticas y otros subproductos, competencia por nutrientes o inducción de mecanismos de resistencia del hospedante (Mazrou *et al.*, 2020; Garrido *et al.*, 2021). El manejo de enfermedades utilizando organismos antagónicos ha sido considerado como una estrategia eficaz y prometedora para reducir la pérdida postcosecha de frutos (Zhang *et al.*, 2020).

Trichoderma ha sido ampliamente utilizado en el control biológico debido a su plasticidad ecológica, fácil producción a gran escala y eficiencia contra muchos fitopatógenos (Cai & Druzhinina, 2021; Inglis *et al.*, 2020). *Trichoderma* ha mostrado tener éxito en el control biológico mejorando el crecimiento y el vigor de las plantas, induciendo resistencia sistémica en la planta y permitiendo una mejor defensa contra fitopatógenos

(Nawaz *et al.*, 2018). Su acción se basa principalmente en la activación de diversos mecanismos, ejerciendo un biocontrol de fitopatógenos que pueden estar indirectamente, compitiendo (nutrientes y espacio), modificando las condiciones ambientales presentes o produciendo antibióticos directamente mediante micoparasitismo (Imran *et al.*, 2020; Zhan *et al.*, 2020). Por lo anteriormente mencionado, el objetivo de la presente investigación fue aislar e identificar morfológica y molecularmente las cepas de *Trichoderma* spp. nativas del sur del estado de Chihuahua, probando su capacidad antagónica contra diversos fitopatógenos de durazno que afectan el cultivo de la región antes mencionada.

2.2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.2.1. Obtención de muestras vegetales para el aislamiento de *Trichoderma* spp.

Se seleccionaron plantas de tres especies: Pino silvestre (*Pinus sylvestris*), duraznero (*Prunus persica*) variedad amarilla y blanco, y madroño (*Arbutus unedo*) al azar, todos presentes en el sur del estado de Chihuahua (Figura 26). Se establecieron cuatro puntos de muestreo, de los cuales dos corresponden a la planta de durazno, uno a pino y uno a madroño (Cuadro 2). De las especies vegetales antes mencionadas, se tomaron pequeños cortes de raíz, utilizadas como material de origen para el aislamiento de hongos del género *Trichoderma* spp. Las muestras se tomaron a 15 cm de distancia de la base del tallo y 10 cm de profundidad. La medición se llevó a cabo con una cinta métrica y con la ayuda de unas tijeras previamente desinfectadas. Los especímenes se almacenaron posteriormente en bolsas de papel estraza y una hielera para ser trasladados al laboratorio de microbiología de la Universidad Tecnológica de la Tarahumara, donde se mantuvieron en refrigeración a 4 °C por 10 horas.

Cuadro 2. Ubicación de puntos de muestreo donde se recolectó el material vegetativo de raíz de cultivares, pertenecientes a los municipios de Guachochi y Morelos en Chihuahua.

Cultivar	Identificación de Aislados	Municipio	Localización geográfica
Pino	1=CP-G-R-T	Ciénega Prieta Guachochi	26° 50' 52.74" N 106° 56' 44.12" W -2400 msnm
Durazno variedad amarillo	3=SP-M-M5-R-T	San Pablo, Morelos	26° 32' 54.3" N 107° 47' 38.8" W -2094 msnm
Durazno variedad blanco	5=LJ-M-M2-R-T	Las Joyitas, Morelos	26° 37' 45.3" N 107° 44' 37.9" W -1238 msnm
Madroño	8=CP-G-M-R-T	Ciénega, Prieta Guachochi	26° 51' 40.50" N 106° 58' 8.333" W -2400 msnm

Nota:1,3,5 y 8=Número de cepa, CP=Ciénega Prieta, G=Guachochi, R=Raíz, T=*Trichoderma*, SP=San Pablo, M=Morelos, M5=Muestra 5, LJ=Las Joyitas, M2=Muestra 2, M=Muestra.

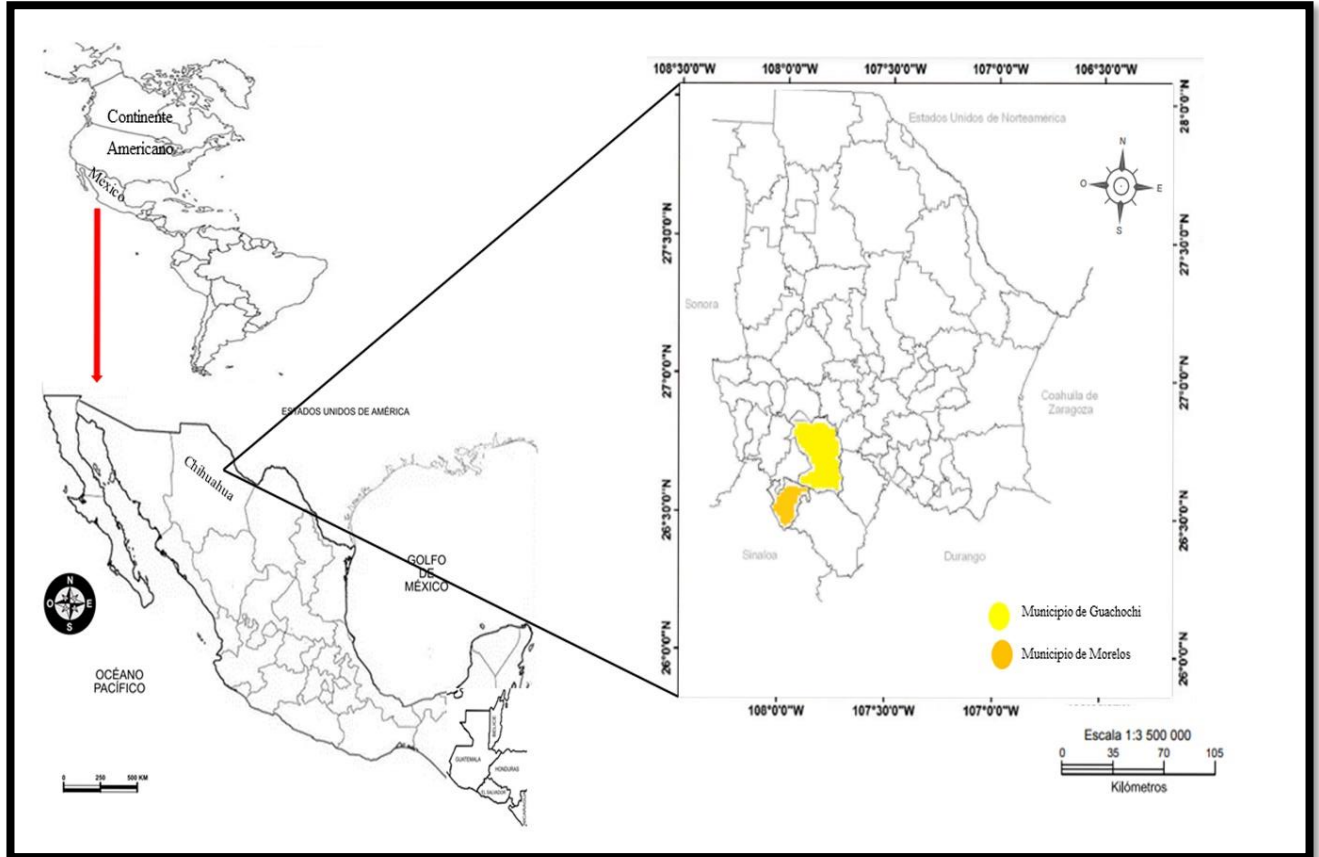


Figura 26. Mapa del sur de Chihuahua, México, que muestra los sitios de recolección de material vegetativo de los aislados de *Trichoderma* spp. obtenidos.

2.2.2. Aislamiento de *Trichoderma* spp.

Los aislamientos se llevaron a cabo de acuerdo con Sánchez *et al.*, (2021). El tejido radicular de cada planta se cortó en fragmentos de 5,0 cm². Posteriormente se desinfectaron con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1,25% durante 60 s, seguido de cuatro enjuagues utilizando agua destilada previamente estéril. Para el secado se utilizó papel estéril absorbente. Se utilizaron cajas Petri con el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), se sembraron los fragmentos de tejidos desinfectados y se incubaron durante cuatros días a 27 °C ± 2. Los cultivos se monitorearon diariamente hasta observar el crecimiento típico de *Trichoderma* spp.: colonias con alta tasa crecimiento que mostraron

una tonalidad de color verde y anillos concéntricos. Se tomaron porciones de las colonias las cuales se transfirieron al medio de cultivo PDA (Panizo *et al.*, 2005).

2.2.3. Caracterización morfológica.

Para observar las estructuras microscópicas, el material fúngico se montó en glicerina aplicando la técnica de aplastamiento o “squash” (Lugo *et al.*, 2018). La muestra se observó bajo un microscopio óptico compuesto Imager M2 utilizando el software ZEN, en aumentos de 100X y 400X. Se registró la forma, largo y ancho de 50 conidióforos, el diámetro de las hifas vegetativas (principal eje de los conidióforos) (Guigón & Guerrero, 2010; Kubicek *et al.*, 2019), así como el largo y ancho del micelio, diámetro y forma de las esporas y longitud de hifas (Ezziyyani *et al.*, 2007; Jiang *et al.*, 2016; Asis *et al.*, 2021).

Las características evaluadas incluyeron el diámetro de las colonias, coloración del anverso y reverso de las mismas, presencia de clamidosporas y pigmento difusible, textura de las colonias, disposición de las mótulas o fiálides, esporas, conidióforos y formación de anillos concéntricos (Arrúa *et al.*, 2012; Jang *et al.*, 2018; Nawas *et al.*, 2018; Andrade *et al.*, 2019).

2.2.4. Identificación molecular

2.2.4.1. Extracción de ADN, PCR y secuenciación.

La extracción de ADN se llevó a cabo a partir de micelio aéreo aislado de *Trichoderma* con el reactivo DNAzol (Invitrogen), siguiendo las instrucciones del fabricante (Ríos *et al.*, 2021). Para la identificación molecular se amplificó el espaciador transcrita interno (ITS) y el gen parcial de factor de elongación 1 alfa (TEF), mediante PCR utilizando los cebadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') / ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White, 1990), y EF1-728F (5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3') (Carbone y Kohn, 1999) / TEF1LLErev (5'-AACTTGCAGGCAATGTGG-3'), (Hall, 1999; Jaklitsch *et al.*, 2005), respectivamente. La reacción de PCR se realizó en un volumen final de 25 uL, los cuales contenían 1 µL de ADN genómico, Buffer 1X, 1,25 mM de MgCl₂, 0,2 mM de cada iniciador, 0,2 mM de dNTP's y 1U de Taq polimerasa (Invitrogen). Las condiciones de amplificación fueron las siguientes: desnaturalización inicial a 95 °C durante 5 min, con 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 1 min; el anillamiento a 55°C por 1 min con extensión

a 72°C por 40 seg min (ITS) y a 59°C por 1,5 min con extensión a 72° por 1,5 min (TEF) ambos con una extensión final de 72°C por 5 min. La visualización de los fragmentos amplificados en gel de agarosa al 1%, fue teñido con bromuro de etidio en un fotodocumentador (BIO-RAD). Una vez obtenidos los productos amplificados estos fueron secuenciados en Macrogen Inc. (Corea) los cuales se anclan en los ADNr.

2.2.5. Análisis filogenético.

Para editar las secuencias se utilizó el software BioEdit versión 7.0.5.3 (Hall, 1999). Las mismas se compararon con secuencias depositadas en la base de datos GenBank, empleando el algoritmo BLASTn. Las cadenas de cada gen/región fueron alineadas a un set de cadenas de referencia del género *Trichoderma* y la cadena de *Protocrea farinosa* CBS 121551, con el alineador MUSCLE (Edgar, 2004) e implementado con MEGA11 (Zhan *et al.*, 2018). Los alineamientos se concatenaron en MEGA y la matriz resultante se analizó en PartitionFinder versión 1.1.1 (Lanfear *et al.*, 2012) para determinar el mejor esquema de particiones. Con respecto al árbol filogenético, se llevó a cabo por el método de Máxima Verosimilitud en RAXML versión 7.2.8 (Stamatakis, 2006; Voglmayr *et al.*, 2016), empleando el modelo GTRGAMMAI y 1000 réplicas Bootstrap. Se utilizó el software FigTree versión 1.4.0 (Rambaut, 2014) para editar el filograma.

2.2.6. Cultivos duales.

Se empleó la técnica de cultivos duales descrita por Andrade *et al.*, (2019) para establecer la capacidad antagónica de los aislados de *Trichoderma* con cinco géneros de hongos fitopatógenos de *P. persica*: dos aislados de *Fusarium* sp. obtenidos del municipio de Balleza, dos de *Alternaria* sp. y cuatro de *Epicoccum* sp. obtenidos de los municipios de Guachochi y Morelos, uno de *Monilinia* sp. obtenido del municipio de Batopilas y uno de *Colletotrichum* sp del municipio de Morelos, todos del sur del estado de Chihuahua, México. Se utilizaron cajas Petri (90 mm) con PDA para el crecimiento de los diferentes fitopatógenos. En un extremo de las cajas Petri se situó un disco de 6 mm de diámetro de micelio tomado de cultivos con PDA de los fitopatógenos. Tres días después, se colocó un disco de micelio de 6 mm de diámetro de *Trichoderma* (previamente crecido en PDA) el otro extremo. La confrontación dual se llevó a cabo por cuatro (*Alternaria* sp., *Epicoccum* sp.), siete (*Monilinia* sp.y *Colletotrichum* sp.) y nueve (*Fusarium* sp.) días de

edad, una vez que el testigo de cada patógeno llenó la caja Petri (Rubio *et al.*, 2021). Cada combinación (fitopatógeno-*Trichoderma*) contó con seis repeticiones (Heflish *et al.*, 2021). Las cajas Petri se incubaron a 27 ± 2 °C. Para su registro se consideró el número de días de contacto entre antagonista y fitopatógeno, midiéndose el crecimiento radial en ambas colonias (mm), cada 12 h, para estimar la tasa de crecimiento diario (Andrade *et al.*, 2019; Savin *et al.*, 2021). Adicionalmente, se calculó la inhibición del crecimiento micelial (PICM), en porcentaje, con la fórmula propuesta por Oliveira *et al.*, (2021).

Porcentaje de inhibición de Crecimiento Micelial (PICM) = $[(C - T) / C] \times 100$.

Donde: C = Crecimiento micelial del patógeno en la caja control (mm) y T = crecimiento micelial del patógeno enfrentado a *Trichoderma* (mm).

El efecto antagónico de *Trichoderma* se evaluó utilizando la escala propuesta por Bell *et al.*, (1982) que comprende cinco grados: 1) el antagonista invade completamente la superficie del medio de cultivo envolviendo completamente al patógeno; 2) el antagonista alcanza a sobrepasar las 2/3 partes de la superficie del medio de cultivo; 3) el antagonista y el patógeno colonizan cada uno alrededor de la mitad de la área del medio y ninguno parece dominar al otro; 4) el patógeno sobrepasa al crecimiento del antagonista colonizando 3/4 partes de la superficie de la caja Petri y 5) el fitopatógeno llega a cubrir completamente la caja Petri.

2.2.7. Análisis estadístico.

Los PICM se analizaron con ANOVA de Rango Alineado Transformado (ART), una prueba no paramétrica factorial implementada en el paquete ARTool versión 4.0.5 (Wobbrock *et al.*, 2022) de RStudio versión 1.4.1106 (Allaire, 2011). Las discrepancias entre tratamientos se determinaron con la prueba de media de Tukey con un alfa de P (>0.05). Los valores fueron ajustados con la librería emmeans versión 4.0.5 en RStudio (Lenth *et al.*, 2022), utilizando un diseño estadístico completamente al azar.

2.3. RESULTADOS

2.3.1. Caracterización morfológica.

Se lograron obtener cuatro aislados con características morfológicas y culturales tipológicas del género *Trichoderma* (CP-G-R-T, SP-M-M5-R-T, LJ-M-M2-R-T y CP-G-M-R-T). Al principio, las cepas se mostraron de color blancas y algodonosas. Después de cuatro días de incubación, el micelio alcanzó el borde del agar cubriendo completamente la caja Petri, apareciendo de color verde oscuro. Luego se desarrollaron pequeños círculos compactos de color verde amarillento a verde intenso, especialmente en el centro de un punto de crecimiento o en zonas concéntricas en forma de anillo en la superficie del medio empleado. El aislado 3 (SP-M-M5-R-T) desarrolló una coloración de colonia verde oscuro fuerte de 2 anillos concéntricos grandes con textura algodonosa, con poco de micelio aéreo después de 10 días de crecimiento, se tornó una coloración blanca sobre la superficie filamentososa al reverso de la caja Petri. Los conidios presentaron forma globosa de 3.67 a 4.44 μm de diámetro, con fiálides en forma globosa de 5.67 de ancho y 11.35 μm de largo (Figura 2).

Las colonias 5 (LJ-M-M2-R-T) y 8 (CP-G-M-R-T) presentaron colonias color verde oscuro de 3 a 4 anillos concéntricos grandes con textura pulverulenta y granulada, con abundante micelio aéreo después de nueve días de crecimiento, de color crema con tonalidad verdosa y con un halo céntrico al reverso de la caja Petri. Los conidios eran de forma ovoide a elipsoide de 4,77 a 5,77 μm de diámetro, las fiálides presentaron forma ligeramente globosa, de 5,41 μm de ancho y 13,00 μm de largo (Figura 2). En el aislado 1 (CP-G-R-T) se observó una coloración verde oscuro-azulado, con formación de colonia pulverulenta, con abundante micelio aéreo, sin presencia anillos concéntricos, con conidios de forma subglobosa de 4,00 a 4,93 μm de diámetro, y fiálides en forma de botella de 5,67 μm de ancho y 11,35 μm de largo (Figura 27). Las cuatro cepas de *Trichoderma* spp. registraron una tasa de crecimiento de entre 0,95 mm/día a 1,09 mm/día, cubriendo por completo la caja Petri en 96 h.

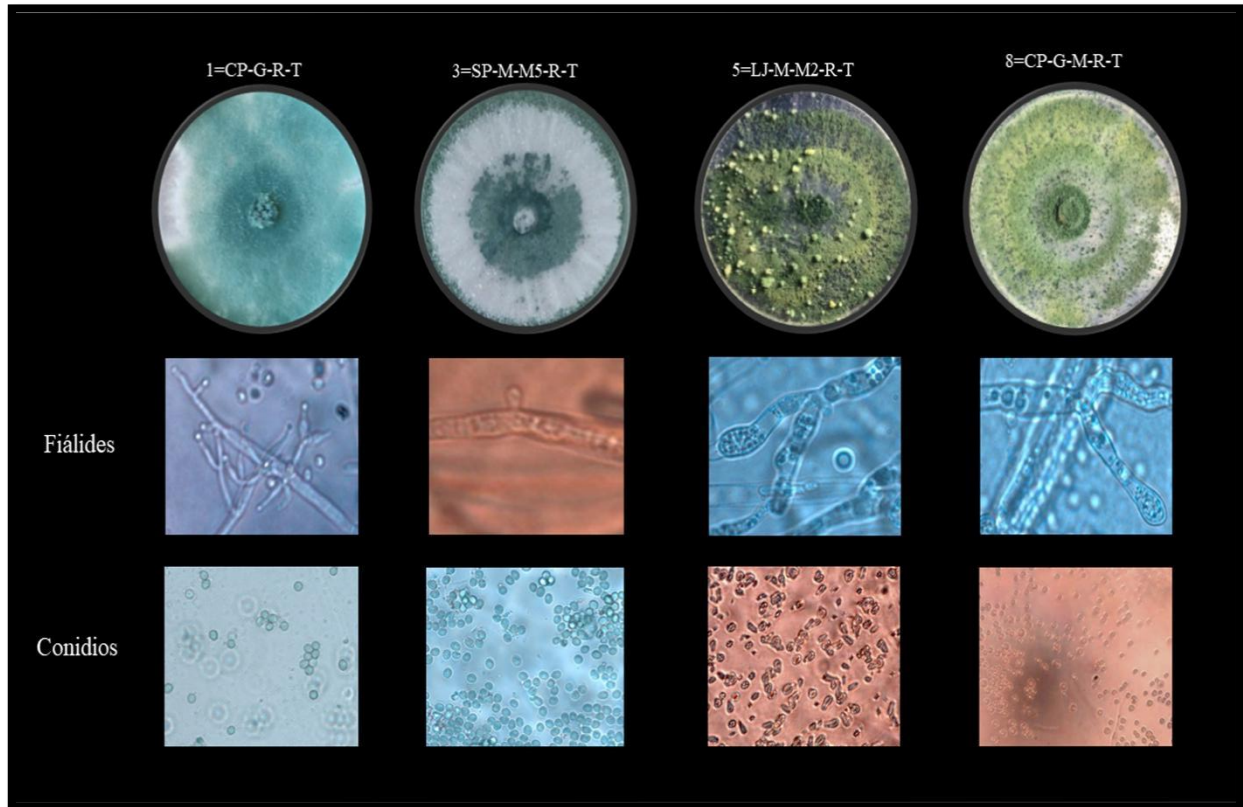


Figura 27. Morfología típica del género *Trichoderma* spp. a los 9 días de crecimiento.

2.3.2. Identificación molecular.

Al comparar la secuencia de la región ITS, de los aislados CP-G-R-T, SP-M-M5-R-T, LJ-M-M2-R-T y CP-G-M-R-T, con la base de datos de GenBank, la cepa SP-M-M5-R-T presentó 100% de igualdad con distintas especies del género *Trichoderma*: *T. asperellum* (MT529846, ON877396), *T. hamatum* (MT111894), *T. asperelloides* (ON844157) y *T. yunnanense* (MN989979). Al comparar las secuencias parciales del gen TEF, los resultados mostraron un 100% de similitud de todas las cepas con *Trichoderma asperellum* (MK391533) y *T. asperelloides* (MN428412). El análisis filogenético multigen confirmó que las cepas de *Trichoderma* estudiadas pertenecen a la especie *T. asperelloides* (Figura 28), ya que todas se agrupan en un mismo clado con la secuencia de referencia de *T. asperelloides* aislado GJS 04-217 (Bootstrap 55%).

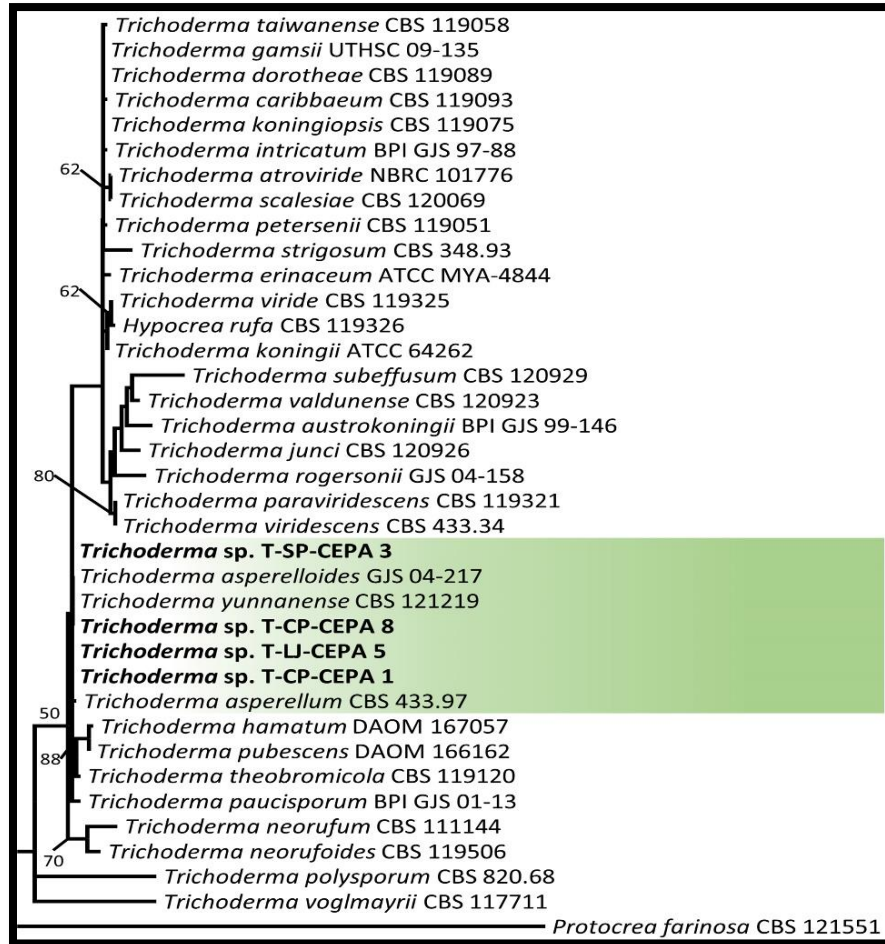


Figura 28. Árbol filogenético del género *Trichoderma*, inferido por Máxima Verosimilitud a partir del alineamiento concatenado de la zona ITS y la secuencia parcial del gen característico del factor de elongación (TEF). La escala representa las sustituciones del promedio por sitio. Los datos bootstrap $\geq 50\%$ se muestran arriba de las ramas, junto a los internodos. Las especies estudiadas en esta investigación se exponen en negritas.

2.3.2. Biocontrol de *Trichoderma asperelloides* en fitopatógenos.

El efecto antagónico de todas las cepas de *Trichoderma* frente a los diferentes patógenos se clasificaron en grado 1 de la escala de Bell *et al.*, (1982), ya que *Trichoderma asperelloides* limita el crecimiento del fitopatógeno y crece sobre él, cubriendo toda la superficie de la caja (Figura 29). Dichos resultados indican la importancia de conocer la rapidez del aumento de crecimiento micelial de la cepa 3 con respecto al resto de los antagonistas. Las cepas de *T. asperelloides* presentaron un desarrollo más rápido que los fitopatógenos.



Figura 29. Biocontrol *in vitro* de *Trichoderma asperelloides* aisladas de áreas templadas contra hongos fitopatógenos.

De acuerdo con el análisis estadístico, no existen diferencias significativas en el biocontrol de los hongos patógenos con las cepas de *T. asperelloides* ($F= 5,87$; $P = 0.0007$). La prueba post hoc no detectó diferencias en porcentaje de crecimiento en la capacidad antagónica de la cepa 1 (CP-G-R-T) con respecto a las cepas 3 (SP-M-M5-R-T) y 5 (LJ-M-M2-R-T) (Figura 30). En general, la cepa 1 (CP-G-R-T) registró porcentajes de inhibición más bajos (mediana= 72,7%; RIQ= 9,7) que las cepas 3 (SP-M-M5-R-T) (mediana= 81,2%; RIQ= 7,0) y 5 (LJ-M-M2-R-T) (mediana=79.2 %; RIQ= 6,8). La cepa 8 (CP-G-M-R-T), al igual que el resto de las cepas de *Trichoderma asperelloides*, mostró un porcentaje similar (mediana 80, 6 %; RIQ= 6,9) (Figura 5). Existe un efecto en la interacción *Trichoderma*-fitopatógeno ($F= 2,21$; $P= 0.0009$), es decir, la capacidad

antagónica de las cepas de *T. asperelloides* está en función del hongo fitopatógeno.

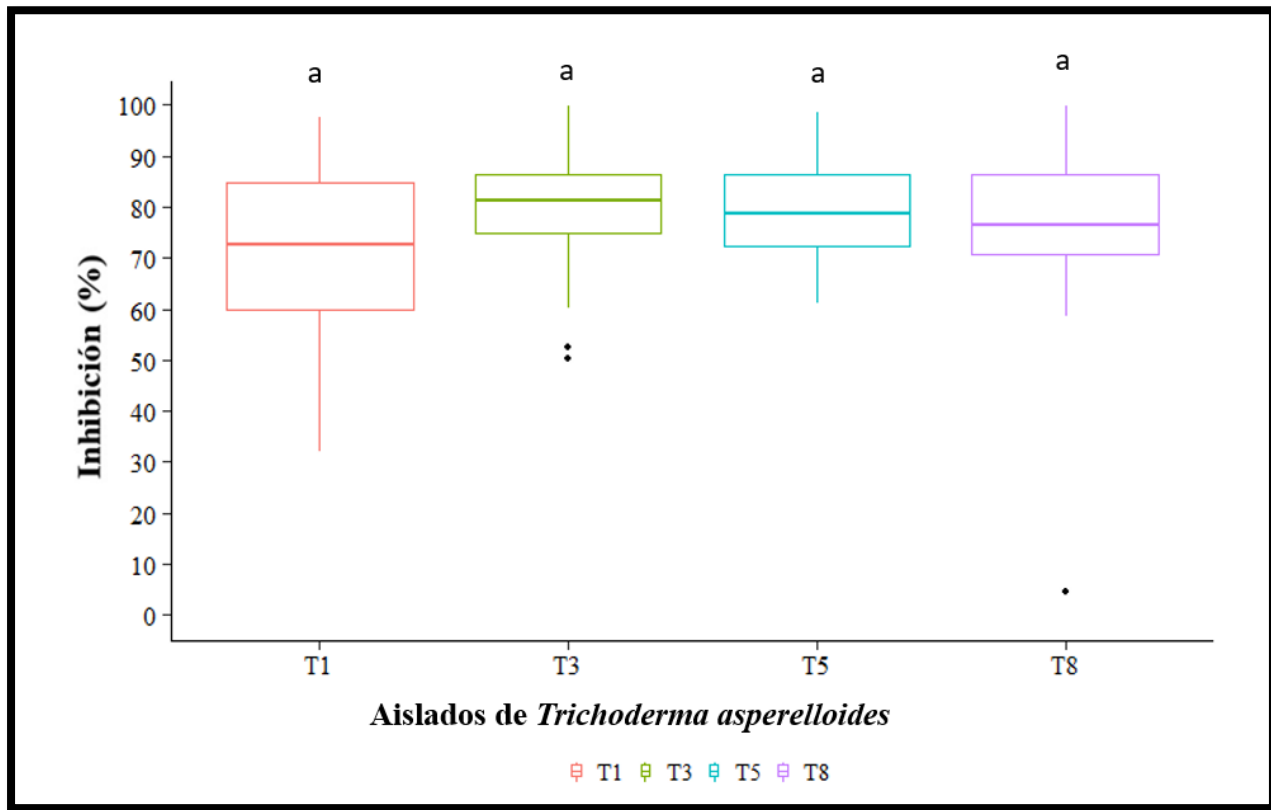


Figura 30. Porcentaje de inhibición de *Trichoderma* sp. (1=CP-G-M-R-T, 3=SP-M-M5-R-T, 5=LJ-M-M2-R-T y 8=CP-G-R-T) contra fitopatógenos (*Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Monilinia* sp., *Epicoccum* sp. y *Colletotrichum* sp.) de *Prunus persica*.

2.4. DISCUSIÓN

De las cepas obtenidas en el sur de Chihuahua, México, todas presentaron características morfológicas y culturales tipológicas del género *Trichoderma* spp. (Romero-Rosales *et al.*, 2021). Esto se debió principalmente a su coloración verde oscuro con anillos concéntricos en la caja Petri de 90 mm (Savín *et al.*, 2021), iniciando con coloraciones amarillentas y tornando a verde claro, hasta llegar al verde oscuro (Zin *et al.*, 2020; Degani & Dor 2021). Estas características y la identificación molecular reafirman tanto el género como la especie de *Trichoderma asperelloides*, que a su vez coinciden con las reportadas por Mulatu *et al.*, (2022) en Etiopia. En dicho estudio se revelaron colonias con rápida crecimiento micelial, anillos concéntricos y superficies flocosas o compactas en el medio de cultivo. Asimismo, se encontró que formaban colonias con micelio blanco, volviéndose verdes al formar los conidios y conidióforos (Mulatu *et al.*, 2022).

Por otro lado, Pakdaman, (2013) obtuvo resultados con cepas de *T. asperelloides* los cuales fueron cultivados a temperatura ambiente ($25\pm 2^{\circ}\text{C}$), destacando el potencial de dos de las cepas con alto potencial antagónico y velocidades de crecimiento estadísticamente altas. Sin embargo, el cambio de temperatura de 25°C a 15°C provocó el aumento de los valores de 2 a 4 días de crecimiento, mientras que, en el presente trabajo, las cepas de *T. asperelloides* tuvieron su grado óptimo de crecimiento a los $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ en un periodo de 3 días de crecimiento a temperatura ambiente.

En cuanto al porcentaje de inhibición, de cada aislamiento se obtuvo un 72,7 a 81,2% de las cepas obtenidas en el sur de Chihuahua. Esto coincide con lo propuesto por Umaña *et al.* (2018), donde se presentó una variación de 3 a 90% de grado de inhibición, durante 72 horas, en condiciones ambientales similares. De igual manera, Sumida *et al.*, (2018), evaluaron el potencial antagónico que ejerce *Trichoderma asperelloides* sobre *Sclerotinia sclerotiorum* causante de la enfermedad de moho blanco en cultivo de soja, mostrando una excelente inhibición de crecimiento con rangos de 60 a 100% en todas las cepas evaluadas.

Asimismo, estos resultados son similares a los reportados por Sánchez *et al.* (2021), quienes obtuvieron un total de 17 aislados de *Trichoderma*, localizándose siete

especies diferentes del antagonista en estudio, tales como: *T. harzianum*, *T. viride*, *T. asperellum*, *T. asperelloides*, *T. songyi*, *T. virens* y *T. breve*. De estas especies, *T. asperelloides* coincide con las características morfológicas y coloración encontradas en los aislados identificados en el sur de Chihuahua, mostrando efectividad como control biológico de enfermedades y promotores de crecimiento vegetal (Steffen *et al.*, 2019). Por consiguiente, se ha considerado a *T. asperelloides* como un hongo antagónico que reduce considerablemente la gomosis causada por *Fusarium* spp. en el norte del estado de Veracruz, permitiendo así una mejoría en la sanidad del cultivo de los cítricos (Cruz *et al.*, 2020).

En correspondencia con el árbol filogenético se logró identificar homogeneidad de los genes en las cuatro cepas aisladas de los municipios de Morelos y Guachochi, Chihuahua, ya que todas se agruparon en un mismo clado con la secuencia de referencia de *Trichoderma asperelloides* aislada GJS 04-217 (Bootstrap 55%). Asimismo, *T. asperelloides* fue encontrado en aislamientos de terrenos agrícolas, suelos de bosques tropicales y diferentes cultivos, por ejemplo, plátano (*Musa paradisiaca* L.), tomate (*Solanum lycopersicum*) y pasto Guinea (*Panicum maximum*) en Nicaragua, con números de acceso MK427695.1 con puntuación de 946 e identidad máxima de 100 y 99,43 (Sánchez *et al.*, 2021). Además se ha identificado cepas de *T. asperelloides* utilizando pares de cebadores EF1728F y TEF1LLErev, así como CAL-228F y CAL-737R (cal1) (Gal *et al.*, 2011). Por otro lado, estudios realizados por Heflish *et al.* (2021) evaluaron las características moleculares usando los genes ITS, Rpb2 y Tef-1, utilizando la herramienta GenBank BLAST para comparar las secuencias obtenidas con las de la base de datos.

En este estudio se destaca la importancia de las pruebas de PICM y de dar ventaja de tres días de crecimiento para obtener mejores resultados en los ensayos *in vitro*. Estos resultados coinciden con lo reportado por Ramírez *et al.* (2020), quienes evaluaron la efectividad de los agentes de biocontrol *Bacillus paralicheniformis* y *T. asperelloides* en condiciones *in vitro* e *in vivo* para controlar las enfermedades de tomate como la marchitez vascular (*Fusarium oxysporum*) y el tizón temprano (*Alternaria alternata*). Como resultado se vio que *T. asperelloides* fue capaz de ejercer un efecto micoparasitario sobre ambos hongos fitopatógenos en las pruebas *in vitro* entre 53,8% y

66,7%. Iguales resultados fueron obtenidos por López-Valenzuela *et al.* (2022), quienes lograron medir la capacidad de biocontrol con *Fusarium oxysporum*, *Alternaria* spp. y *Helminthosporium* spp. obteniendo porcentaje de inhibición entre 83,3% y 87,7% ubicados entre los grados 1 y 2 de la escala propuesta por Bell *et al.*, (1982). Asimismo, Silva *et al.* (2022) evaluaron a *T. asperelloides* enfrentando a fitopatógenos, tanto de suelo como foliares, donde los porcentajes de inhibición presentaron una variación de 56,6% a 80.4% en *Colletotrichum gloeosporioides*, de 70.5% a 73.1% en *Macrophomina* sp., y de 80.4% a 84 5% en *Curvulária lunata*, considerándose un antagonista eficaz.

2.5. CONCLUSIONES

Los cuatro aislados de *Trichoderma* derivados de la parte del suelo (rizosfera) de las plantas de durazno (*Prunus persica*) y pino (*Pinus arizonica*) en el sur de Chihuahua, fueron caracterizados morfológica y molecularmente, y se determinó que pertenecen a la especie *T. asperelloides*.

Todos los aislados mostraron una alta inhibición del crecimiento micelial contra los cinco hongos fitopatógenos: *Epicoccum* sp., *Alternaria* sp., *Monilinia* sp., *Collectotrichum* sp. y *Fusarium* sp. La estirpe 3 (SP-M-M5-R-T) presentó un alto potencial para el control *in vitro* frente a los fitopatógenos.

La aplicación de microorganismos antagonistas es una alternativa biológica para el control de fitopatógenos foliares en cultivos de durazno, en condiciones controladas (*in vitro*). Por lo tanto, se recomienda realizar bioensayos de biocontrol en condiciones de invernadero o campo abierto en cultivos de durazno.

CAPITULO 3. DETERMINACIÓN DEL RANGO DE HOSPEDANTES EN FRUTALES DE IMPORTANCIA ECONÓMICA ASOCIADOS A FITOPATÓGENOS FOLIARES DEL DURAZNERO (*Prunus persica* L)¹.

RESUMEN

En México, la presencia de hongos fitopatógenos ocasiona severos daños en frutos de durazno (*Prunus persica* L.), después de la cosecha, causando disminución en la exportación de productos procesados y en vida de anaquel. El objetivo de este trabajo fue describir el rango de hospedantes de hongos foliares en frutos de manzano (*Malus domestica* Borkh), fresa (*Fragaria* spp.), ciruela (*Prunus domestica* L.), pera (*Pyrus communis* L.) y membrillo (*Cydonia oblonga* Mill.), y en hojas de variedades de durazno. Para la prueba de patogenicidad se utilizó la técnica de aspersion y las enfermedades se valoraron mediante la escala de severidad de 5 grados de 0 a ≥ 75 % de presencia de síntomas sobre el fruto y del 10 a ≥ 60 % para hoja desprendida y porcentaje de incidencia. Se inocularon conidios de *Fusarium* spp, *Alternaria* spp, *Epicoccum* spp, *Collectotrichum* sp. y *Monilinia* sp., en todos los frutos y las hojas de las variedades de durazno amarillo, prisco y blanco, con siete repeticiones, dejando un testigo con agua destilada estéril para cada uno de los tratamientos; se colocaron en cámara húmeda en condiciones asépticas, a $27^{\circ}\text{C} \pm 1$ y se sometieron a regímenes de 14 horas oscuridad y 10 horas luz, por 4, 7, 10 y 12 días. Los datos se sometieron a un análisis de varianza utilizando la comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). La variedad amarilla de durazno presentó mayor susceptibilidad a todos los hongos, los cuales fueron patogénicos a los hospedantes con severidad de 0 a 97,14 %.

Palabras claves adicionales: Fruto, hongos, inocular, patogenicidad, severidad

³Este capítulo se publicó en la Revista Bioagro. Marzo-agosto 2023. 35(3): 259-270. doi: <http://www.doi.org/10.51372/bioagro353.9>

ABSTRACT

Host range in economically important fruit trees associated with foliar phytopathogens of peach (*Prunus persica* L).

In Mexico, the presence of phytopathogenic fungi causes severe damage to peach (*Prunus persica* L.) fruits after harvest, causing a decrease in the export of processed products and in shelf life. The objective of this work was to describe the host range of foliar fungi in fruits of apple (*Malus domestica* Borkh), strawberry (*Fragaria* spp.), plum (*Prunus domestica* L.), pear (*Pyrus communis* L.) and quince (*Cydonia oblonga* Mill.) and on leaves of peach varieties. For the pathogenicity test, the spray technique was used and the diseases were assessed using the 5-degree severity scale from 0 to $\geq 75\%$ of presence of symptoms on the fruit and from 10 to $\geq 60\%$ for detached leaf and percentage of incidence. Conidia of *Fusarium* spp, *Alternaria* spp, *Epicoccum* spp, *Collectotrichum* sp. and *Monilinia* sp. were inoculated from all the fruits and leaves of the yellow, prisco and white peach varieties, with seven replicates, leaving a control with sterile distilled water for each treatment. They were placed in a humid chamber under aseptic conditions, at $27^{\circ}\text{C} \pm 1$, and were subjected to regimes of 14 hours of darkness and 10 hours of light for 4, 7, 10 and 12 days. Data were subjected to analysis of variance and Tukey's test for comparison of means ($P \leq 0.05$). The yellow variety of peach presented greater susceptibility to all fungi, which were pathogenic to the hosts with severity from 0 to 97.14 %.

Additional keywords: Fruit, fungi, inoculate, pathogenicity, severity

3.1. INTRODUCCIÓN

El durazno (*Prunus persica* L.), además de sus usos como frutas frescas, enlatadas, bocadillos de frutas secas y jugos, es un árbol considerado como planta ornamental gracias a las flores blancas, rosadas o rojas que se presentan durante la primavera (Luo et al., 2022). México se encuentra en la posición número 17 en la producción mundial con 225,125,64 toneladas al año (FAOSTAT, 2022), de los cuales, el estado de Zacatecas ocupa el primer lugar de este frutal con 86,781 toneladas anuales, que representaron el 38,54% de la producción nacional en el año agrícola 2022, seguido de Puebla (10,7 %), Michoacán (9,98 %), Chihuahua (9,85 %) y estado de México (7,66 %) (SIAP, 2022). La presencia de hongos es una limitante de la producción de frutas, afectando la exportación de estos productos hacia nuevos mercados, causando pérdidas hasta de 42,70 % (SIAP, 2022) en las distintas regiones productoras (Castello et al., 2019).

De acuerdo con Lee et al. (2020), los hongos constituyen un importante grupo de fitopatógenos que comparten hospedantes en común. Las enfermedades económicamente más importantes de las frutas son el tizón de la flor y la pudrición parda del fruto causada por *Monilinia* sp. (Hu et al., 2011). El hongo filamentoso *Colletotrichum gloeosporioides* causa la antracnosis una, enfermedad que se presenta en frutales, incluyendo el durazno, manzana, pera y membrillo, pudiendo desarrollarse en tallos o ramas, hojas y frutos de los hospedantes (Hu et al., 2015). Las especies del género *Epicoccum* spp., son importantes debido a su capacidad para producir micotoxinas que representan un riesgo para la salud humana y animal cuando se consumen en alimentos contaminados. Se han encontrado en semillas, tallos, hojas y frutos, aunque la mancha foliar es el síntoma que se ha señalado con mayor frecuencia (Taguiam et al., 2021). Por otro lado, *Alternaria* spp., causa serios problemas en la agricultura, reduciendo el rendimiento del cultivo y deteriorando los frutos en el almacenamiento; pueden ser micotoxicogénicos, capaces de colonizar los cultivos y acumularse en los productos infectados, representando patogenicidad en frutos de manzana y pera, y un riesgo a la sanidad de los cultivos, así como a la salud del consumidor (Benavides et al., 2019). *Fusarium* es un hongo fitopatógeno que ocasiona pérdidas de gran importancia

económica, es considerado como componente natural de la rizosfera de las plantas; todas las cepas son saprófitas y pueden sobrevivir sobre materia orgánica; sin embargo, *F. oxysporum* y *F. graminearum* penetran las raíces del hospedante, induciendo marchitamientos vasculares (López y Castaño, 2019).

El objetivo de esta investigación consistió en describir el rango de hospedantes de hongos foliares en frutos de manzano (*Malus domestica*), fresa (*Fragaria* spp.), ciruela (*Prunus domestica*), pera (*Pyrus communis*) y membrillo (*Cydonia oblonga*) y en hoja de variedades de durazno (*Prunus persica*).

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

3.2.1. Sitios de muestreo

Se realizaron muestreos de material vegetal en la región sur del estado de Chihuahua, caracterizada por su gran variabilidad climatológica entre sus municipios, con temperaturas extremas que oscilan entre -6 y 45 °C (Alvarado et al., 2019; Porras et al., 2021). Los muestreos consistieron en frutos de manzana, fresa, ciruela, pera y membrillo, así como hojas de durazno de las variedades amarillo, prisco y blanco. Se ubicaron y georreferenciaron 12 puntos de muestreo en los municipios Morelos, Guachochi, Balleza y Batopilas (Cuadro 3). Se colectaron al azar frutas y hojas, aparentemente sanas, las cuales fueron colocadas en bolsas de papel estraza en una hielera para ser trasladadas al laboratorio, donde se mantuvieron en refrigeración a 4°C por 4 horas (Ruta et al., 2020), para su posterior análisis.

Cuadro 3. Ubicación de sitios de recolección frutos y hojas en diferentes municipios del estado de Chihuahua, México.

Variedad	Localidad/Municipio	Localización geográfica
Manzana roja (fruto)	Ciénega de la Cruz, Morelos	26° 34' 00,6" N 107°49'18,0" W-2106 msnm
Membrillo gigante de Portugal (fruto)	Las Joyitas, Morelos	26° 37' 45,3" N 107°44'37,9" W-1238 msnm
Fresa albión (fruto)	Universidad Tecnológica de la Tarahumara, Guachochi	26°57'09,1" N 106°20'58,6" W-2283 msnm
Membrillo gigante de Portugal (fruto)	Balleza, Balleza	26° 53' 01,2" N 106°19'33,8" W-1576 msnm
Fresa albión (fruto)	Universidad Tecnológica de la Tarahumara, Guachochi	26°57'09,1" N 106°20'58,6" W-2283 msnm
Membrillo gigante de Portugal (fruto)	Balleza, Balleza	26° 53' 01,2" N 106°19'33,8" W-1576 msnm
Pera blanquilla (fruto)	Nogalitos, Guachochi	25° 43' 59,0" N 107°04'13,3" W-2634- msnm
Ciruela roja (fruto)	Carlos Pacheco, Balleza	27° 01' 18,0" N 106°20'51,1" W-1540 msnm
Manzana roja (fruto)	Pitorreal, Batopilas	26° 55' 55,9" N 107°34'00,9" W-2420 msnm

Pera blanquilla (fruto)	Baquireachi, Balleza	26° 57' 30,7" N 106°37'21,1" W-2327 msnm
Ciruela roja (fruto)	Casas, coloradas, Morelos	28° 25' 45,3" N 106°52'37,9" W-2060 msnm
Durazno amarillo (hoja)	Balleza, Balleza	26° 53' 01,2" N 106°19'33,8" W-1576 msnm
Durazno blanco (hoja)	Rancho Seco Guachochi	26° 78' 59,0" N 107°07'13,3" W-2420- msnm
Durazno prisco (hoja)	Nogalitos, Guachochi	25° 43' 59,0" N 107°04'13,3" W-2634- msnm

3.2.2. Preparación del material vegetativo

Los frutos y hojas se lavaron con jabón neutro y se dejaron secar por 30 minutos en papel absorbente estéril, en condiciones asépticas de acuerdo con Gerardo et al. (2020). Todos estos materiales se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% durante 1,5 minutos. Posteriormente se sometieron a un triple lavado en agua desionizada estéril y se colocaron sobre papel filtro esterilizado, hasta eliminar el exceso de humedad (García et al., 2017).

Se esterilizaron superficialmente bolsas plásticas y platos de unicel, utilizando etanol al 90 % durante 30 segundos, previo a la inoculación de los hongos sobre los frutos y las hojas de durazno (Gerardo et al., 2020; Kumar et al., 2021).

3.2.3. Pruebas de patogenicidad

Con el fin de determinar el rango de hospedantes, se evaluaron los siguientes diez aislados de fitopatógenos foliares del cultivo de durazno: *Alternaria* spp. (dos aislados), *Fusarium* spp. (dos aislados), *Epicoccum* spp. (cuatro aislados), *Collectotrichum* sp. (un aislado) y *Monilinia* sp. (un aislado) (Cuadro 4). Se realizaron inoculaciones en frutos y hojas desprendidas, procedentes de plantas aparentemente sanas de manzano (*Malus domestica*), fresa (*Fragaria* spp.), ciruela (*Prunus domestica*), pera (*Pyrus communis*), membrillo (*Cydonia oblonga*) y de las variedades de durazno (*Prunus persica*) amarillo, prisco y blanco con suspensiones de esporas a una concentración de 1×10^6 conidios·mL⁻¹, mediante la técnica de aspersion de acuerdo con Udhayakumar et al. (2019), usando atomizadores diferentes para cada aislado. Los frutos y hojas se mantuvieron en cámara húmeda a 25 ± 2 °C, con HR 85 %, haciendo observaciones a los 4, 10 y 12 días después

de la inoculación (ddi) para los frutos de fresa, membrillo y manzana, respectivamente y 7 ddi para pera, ciruela y las hojas de las variedades de durazno (Moreno et al., 2018).

Cuadro 4. Tratamientos para evaluar pruebas de patogenicidad en frutos de manzana, fresa, ciruela, pera y membrillo y en hojas de variedades amarillo, prisco y blanco de durazno.

Numero de tratamiento	Descripción de tratamientos	Genero	Procedencia (Municipio)
1	4= RS-G-M3-A1-H	<i>Alternaria</i> spp.	Guachochi
2	11=SP-M-M2-A2-FTO	<i>Epicoccum</i> spp.	Morelos
3	9=B-B-F-M1-A2	<i>Fusarium</i> spp.	Balleza
4	6=SP-M-M2-A2-F	<i>Alternaria</i> spp.	Morelos
5	2=SP-M-M2-A2	<i>Epicoccum</i> spp.	Morelos
6	2=B-B-F-M1-A3	<i>Fusarium</i> spp.	Balleza
7	5=AA-B-M4-A1	<i>Epicoccum</i> spp.	Balleza
8	2=LJ-M-M2-H	<i>Collectotrichum</i> spp.	Morelos
9	4=Y-B-M1	<i>Monilinia</i> spp.	Batopilas
10	10=N-G-M1-A3-F	<i>Epicoccum</i> spp.	Guachochi

3.2.4. Valoración de la severidad de las enfermedades en frutos

De acuerdo a Kardam et al. (2021) para evaluar la severidad de los tratamientos de cada uno de los frutales se consideró el índice de descomposición. Para esto, se consideró la escala de cinco grados propuesta por Wu et al. (2019) según la parte afectada con podredumbre en la superficie del fruto (Cuadro 5). El porcentaje de severidad se determinó a través de la fórmula correlacionada a los síntomas en cada uno de los frutos por tratamiento y aislados por género fúngico:

$$ID = \frac{0 \times N_0 + 1 \times N_1 + 2 \times N_2 + 3 \times N_3 + 4 \times N_4}{5 \times N}$$

Donde ID es el índice de descomposición, N_0 , N_1 , N_2 , N_3 y N_4 son los valores de podredumbre en todos los niveles, respectivamente, y N es el número total de frutos en evaluación.

Cuadro 5. Escala de severidad de la calidad en frutos postcosecha.

Escala	Descripción
0	0 % sin podredumbre
1	0 a 25% superficie del fruto contiene podredumbre
2	25 a 50% superficie del fruto contiene podredumbre
3	50 a 75% superficie del fruto contiene putrefacción
4	≥ 75% contiene putrefacción

3.2.5. Valoración de la severidad de las enfermedades en hojas de variedades de durazno

Para medir la severidad se recolectaron 8 hojas/árbol de las variedades de durazno amarillo, prisco y blanco, se clasificaron mediante la escala propuesta por Hoyos y Zarate (1985), en cinco grados (Cuadro 6) con variabilidad de porcentajes.

La severidad se estimó por la fórmula:

$$S \text{ (o/o): } \text{severidad promedio: } \frac{\sum (h \times g) \times 100}{5n}$$

donde:

h: número de hojas con igual grado de daño, g: grado de daño y n: número de hojas evaluadas.

Cuadro 6. Escala de severidad en hoja desprendida de variedades de durazno.

Grado	Porcentaje de afectación
1	10% del área foliar afectada
2	11 a 20% del área foliar afectada
3	21 a 40% del área foliar afectada
4	41 a 60% del área foliar afectada
5	≥ 60% del área foliar afectada

3.2.6. Incidencia de las enfermedades en hoja de variedades de durazno

El nivel de incidencia de cada tratamiento se calificó por el porcentaje de esporulación después de 7 días de evaluación de acuerdo a la escala propuesta por Özer et al. (2021) para la resistencia de la hoja con la misma cantidad de inóculo (Cuadro 7).

Cuadro 7. Porcentaje de incidencia en hoja desprendida de variedades de durazno.

%	Descripción
0	Extremadamente resistente
0,1-5,0	Altamente resistente
5,1-25	Resistente
25,1-50	Sensible
50,1-75,0	Muy sensible
75≥	Extremadamente sensible

3.2.7. Análisis estadístico

Para determinar la severidad en fruto y hoja se utilizó un diseño completamente al azar con arreglo factorial de 10 aislados x 8 variedades x 7 repeticiones (más los controles). Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y la comparación de medias se determinó de acuerdo a la prueba de Tukey-Kramer, empleando el programa estadístico SAS versión 9.4 (Cary, NC, USA).

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.3.1. Prueba de patogenicidad en frutales.

En las pruebas de patogenicidad se pudo constatar que, en los frutos, los primeros síntomas se correspondieron con los ocasionados por *Epicoccum* spp. en el caso de la fresa, a los 4 ddi, los de *Alternaria* spp., para los de pera, las lesiones se presentaron a los 7 ddi con porcentajes que rebasaron 80,0 y 50,4 %, para *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp., respectivamente. Los frutos de ciruela presentaron los mayores porcentajes de severidad para los hongos *Epicoccum* spp., con 64 % y *Fusarium* spp., con 36 % con una incidencia de 100 % en todos los tratamientos. Se consideró la manzana con la mayor resistencia para *Fusarium* spp. y *Collectotrichum* sp., ubicándose en la escala de severidad en los grados 1 y 2 con 12 ddi, entre 30 a 45 %. En el caso del membrillo, los hongos con más alto índice de patogenicidad fueron *Fusarium* spp. y *Epicoccum* spp., con un total de 10 días de experimentación, obteniendo así los valores máximos en la escala de severidad considerando el 100 % afectando los frutos de los diferentes frutales (Cuadro 8; Figura 31).

Cuadro 8. Valores máximos obtenidos en frutales por género de fitopatógenos foliares.

Aislado	Fruto	Severidad (%)	Grado de escala	Género de Fitopatógeno
11=SP-M-M2-A2-FTO	Fresa	91,42 c	4	<i>Epicoccum</i> spp.
6=SP-M-M2-A2-F	Fresa	97,14 c	4	<i>Alternaria</i> spp.
6=SP-M-M2-A2-F	Pera	51,42 b, c	3	<i>Alternaria</i> spp.
2=B-B-F-M1-A3	Pera	80 c	4	<i>Fusarium</i> spp.
9=B-B-F-M1-A2	Ciruela	36 b	2	<i>Fusarium</i> spp.
11=SP-M-M2-A2-FTO	Ciruela	64 b, c	3	<i>Epicoccum</i> spp.
2=B-B-F-M1-A3	Manzana	25,71 a	2	<i>Fusarium</i> spp.
2=LJ-M-M2-H	Manzana	22,85 a	1	<i>Collectotrichum</i> sp.

2=B-B-F-M1-A3	Membrillo	78 c	4	<i>Fusarium</i> spp.
5=AA-B-M4-A1	Membrillo	75 c	4	<i>Epicoccum</i> spp.

*a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) (Sánchez-López, 2021).

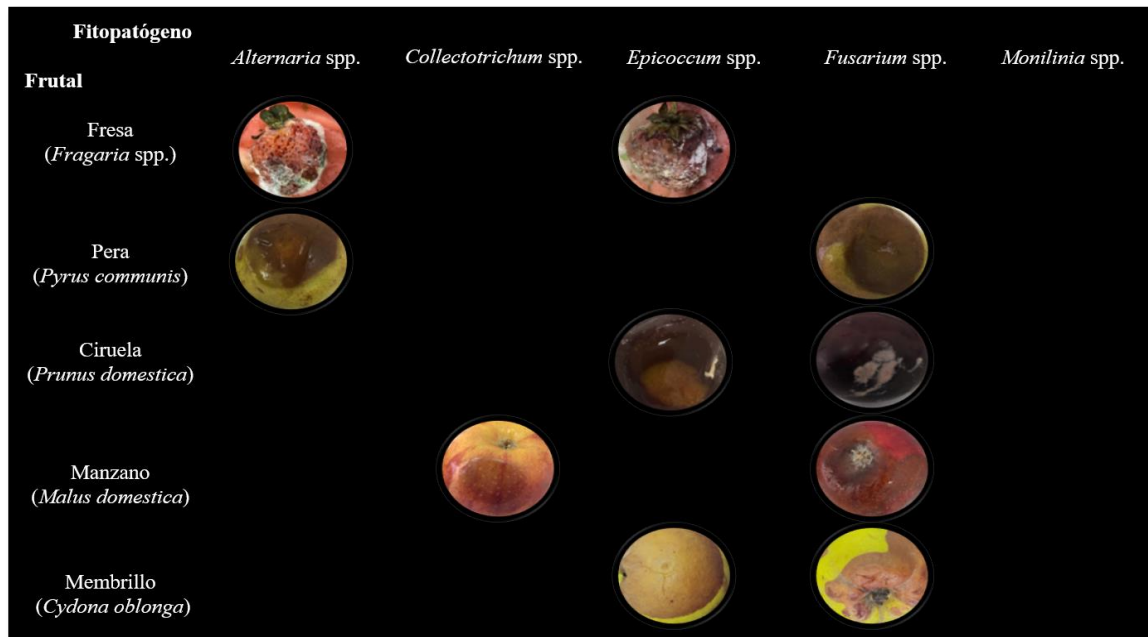


Figura 31. Síntomas asociados a hongos fitopatógenos foliares en frutos de fresa, pera, ciruela, manzana y membrillo, con valores máximos de patogenicidad.

La sintomatología en los frutos tuvo variaciones entre hongos, y *Monilinia* sp. produjo podredumbre marrón, en forma circular en membrillo, manzana y pera, y pudrición parda en fresa y ciruela. En el caso de *Fusarium* spp. se observaron magulladuras blanquecinas al inicio, que posteriormente crecieron de forma algodonosas en fresa y manzana tornando a color rosado para ciruela y color café en membrillo y pera. En el caso de frutos afectados por *Collectotrichum* sp., se observó la aparición de necrosis en ciruela, manzana, pera y membrillo, con lesiones algodonosas y color marrón sobre fresa, en el caso de *Alternaria* spp., todos los frutos mostraron flacidez, con manchas negras circulares y en *Epicoccum* spp., se presentaron coloraciones circulares necróticas para manzana, fresa, membrillo y pera, además en ciruela se manifestaron

signos irregulares en forma de rasguño rodeadas por un halo rojizo, blanquecino y que posteriormente se tornó a beige.

Los resultados observados en los frutos de manzana, fresa, ciruela, membrillo y pera colectados en el sur de Chihuahua, se consideran relevantes, debido a la escasa información relacionada con hongos fitopatógenos que afectan a la diversidad de frutales en postcosecha, coincidiendo con lo reportado por Lin et al. (2018), quienes evaluaron la patogenicidad de *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Diaporthe* y *Epicoccum*, mostrando lesiones marrón a negro en todas las frutas inoculadas con *Alternaria* y *Colletotrichum* con el 100% de incidencia. Asimismo los aislados de *Epicoccum* generaron manchas necróticas las cuales permanecieron relativamente menor a 60% de incidencia.

La severidad de *Monilinia* se ha reportado sobre melocotón, ciruela, cereza, albaricoque, manzana y pera, causando lesiones sobre los órganos (Yin et al., 2021). Además, especies de este mismo hongo fitopatógeno, causan la enfermedad de podredumbre parda en hoja y fruto de durazno; siendo *Monilinia laxa* la más agresiva y los valores medios de crecimiento en el día 7 fueron 74,4 y 55,5 mm en medio papa dextrosa agar, mientras tanto los aislamientos de *Monilinia fructicola*, mostraron colonias más grandes y los valores medios de crecimiento en el día 12 fueron 82,7 y 77,3 mm, sin embargo, no se detectó una correlación significativa entre la tasa de crecimiento y virulencia, de acuerdo con la información presentada por Ozkilinc et al. (2020). El factor de severidad fue significativo para las condiciones de incubación del aislado encontrado en el sur de Chihuahua (Y-M1-F-ACCH), ya que resultó patogénico al reproducir síntomas similares de la enfermedad en frutos después de 4, 7, 10 y 12 ddi de inoculación en los órganos de los frutales con valores que oscilaron entre 0 a 83,8% de virulencia.

Los resultados mostraron valores mínimos por frutal, en correlación con el impacto de severidad de los hongos fitopatógenos (Cuadro 9), en el caso el fruto de manzano con una severidad de 0 % con aislados de *Alternaria* spp. y *Monilinia* sp., coincidiendo con el membrillo en aislados *Alternaria* spp. y *Epicoccum* spp.; para la pera las cifras oscilaron en un 20 % en *Alternaria* spp. y *Fusarium* spp.; en el caso de la ciruela se ubicaron en el grado 1 de la escala propuesta por Wu et al. (2019), para ambos aislados de *Alternaria* spp. y en fresa se presentó el mayor grado de patogenicidad por todos los hongos con porcentajes mínimos variando entre 74,28% para *Epicoccum* spp y 83,8 % en *Monilinia*

sp. (Figura 32). Así mismo, Dowling et al. (2020) reafirmó la presencia de patogenicidad de *Collectotrichum gloesporoides* en órganos de manzana, durazno, uva, arándano y fresa.

Cuadro 9. Valores mínimos obtenidos en frutales por género de fitopatógenos foliares.

Aislado	Fruto	Severidad (%)	Grado de escala	Género de Fitopatógeno
5=AA-B-M4-A1	Fresa	74,28 b	3	<i>Epicoccum</i> spp.
4=Y-B-M1	Fresa	83,8 c	4	<i>Monilinia</i> spp.
4= RS-G-M3-A1-H	Pera	20 a	1	<i>Alternaria</i> spp.
9=B-B-F-M1-A2	Pera	20 a	1	<i>Fusarium</i> spp.
6=SP-M-M2-A2-F	Ciruela	24 a	1	<i>Alternaria</i> spp.
4= RS-G-M3-A1-H	Ciruela	24 a	1	<i>Alternaria</i> spp.
4= RS-G-M3-A1-H	Manzano	0 a	0	<i>Alternaria</i> spp.
4=Y-B-M1	Manzano	0 a	0	<i>Monilinia</i> spp.
4= RS-G-M3-A1-H	Membrillo	0 a	0	<i>Alternaria</i> spp.
10=N-G-M1-A3-F	Membrillo	0 a	0	<i>Epicoccum</i> spp.

*a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$) (Sánchez-López, 2021).

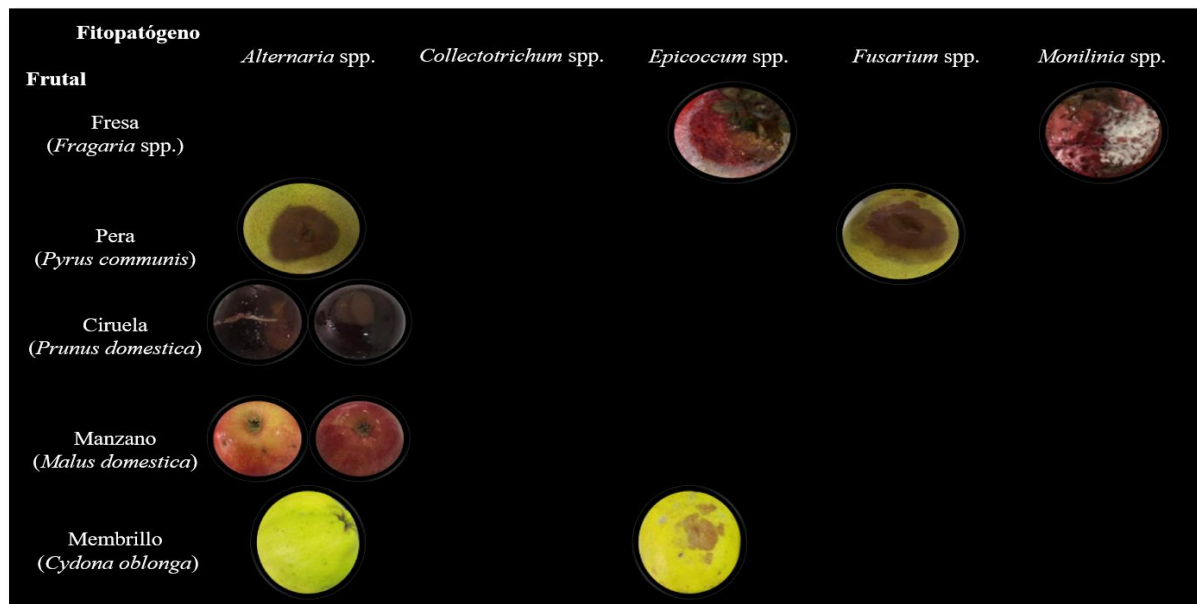


Figura 32. Síntomas asociados a hongos fitopatógenos foliares en frutos de fresa, pera, ciruela, manzana y membrillo, con valores mínimos de patogenicidad.

Jakobija et al. (2022) realizaron pruebas de patogenicidad en fruto de membrillo japonés (*Chaenomeles japónica*) evaluando la capacidad de virulencia de *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Botrytis* spp. y *Sarocladium* spp. siendo estos los géneros más frecuentemente identificados causando patogenicidad en hoja, fruto y tallo de la planta en 9, 13, 15 y 21 %, respectivamente, diferenciándose en los valores mínimos en los frutos cosechados en el sur de Chihuahua los cuales variaron de 0% para *Alternaria* spp y *Epicoccum* spp., 3,78 % *Monilinia* sp., 4,78 % *Collectotrichum* sp.

y 36,8 % *Fusarium* spp. en membrillo.

Además, Zhang et al., (2022) realizaron aislamientos de *Monilinia yunnanensis* y confirmaron que la enfermedad de la podredumbre parda del Tíbet en el cultivo de durazno, presentó alta patogenicidad después de los 3 ddi, en el día 6, todos los frutos inoculados desarrollaron pudrición parda. Estos resultados presentaron gran similitud con el inicio de patogenicidad del aislado Y-M1-F-ACCH en órganos de fresa a los 2 ddi, para ciruela y pera al día 5, membrillo 7 y en manzano no hubo presencia de *Monilinia* sp. probablemente las condiciones de incubación no favorecieron el desarrollo de la enfermedad a los 10 ddi de la inoculación.

3.3.2. Prueba de patogenicidad en hojas

Las hojas de las variedades de *Prunus persica* inoculadas presentaron síntomas a partir de los 3 ddi, coincidiendo con los resultados presentados por Moreno et al. (2018) quienes identificaron como el agente causal de antracnosis a *Colletotrichum* spp., que ocasiona lesiones necróticas hundidas en plantas de *Odontoglossum crispum*; las manchas marrones, de forma irregular están asociadas a *Alternaria* spp., similares a las observadas en hoja del duraznero en el sur de Chihuahua. Se presentó diferencia significativa en cada uno de los tratamientos, clasificados en el nivel de escala de 2 al 5 para durazno prisco, 3 al 5 para blanco, 4 y 5 para amarillo con los diferentes fitopatógenos, los porcentajes de severidad que oscilan entre 18,33 % a $\geq 82,33$ % (Cuadro 10; Figura 33), considerando a *Alternaria* spp., *Fusarium* spp. *Collectotrichum* sp. y *Monilinia* sp. con el mayor valor (5) de la escala en las todas las unidades experimentales, presentando manchas necróticas sobre el tejido vegetal, con presencia de micelio aéreo, así como pequeñas lesiones circulares negras y pudrición total de la

hoja. Se determinó que la variedad amarilla es la más susceptible para los fitopatógenos foliares con una media de 4,6 con respecto a prisco y blanco, los cuales presentaron medias de 3,8 y 4,3 de patogenicidad, respectivamente.

Cuadro 10. Valores de severidad en variedades amarillo, prisco y blanco.

No. de aislado	Aislado	Género	Grado de escala y % de severidad					
			Amarillo		Prisco		Blanco	
1	4= RS-G-M3-A1-H	<i>Alternaria</i> spp.	4	56,42 a, b	3	25,31 a, b	3	33,25 a, b
2	2=SP-M-M2-A2	<i>Epicoccum</i> spp.	4	48,22 a	2	18,75 a	4	22,35 a
3	9=B-B-F-M1-A2	<i>Fusarium</i> spp.	5	75,25 b	4	47,8 b	4	49,50 a, b
4	6=SP-M-M2-A2-F	<i>Alternaria</i> spp.	5	78,83 b	5	66,22 c	5	62,30 b
5	6=SP-M-M2-A2-F	<i>Alternaria</i> spp.	5	67,30 b	5	64,25 c	5	67,25 b
6	2=B-B-F-M1-A3	<i>Fusarium</i> spp.	5	85 b	4	44,4 b	4	52,80 a, b
7	5=AA-B-M4-A1	<i>Epicoccum</i> spp.	4	42,5 a	2	22,3 a	4	41,20 a
8	2=LJ-M-M2-H	<i>Collectotrichum</i> spp.	5	82,33 b	5	75,10 c	5	61,12 b
9	4=Y-B-M1	<i>Monilinia</i> spp.	5	77,92 b	5	76,25 c	5	68,25 b
10	10=N-G-M1-A3-F	<i>Epicoccum</i> spp.	4	44,53 a	3	38,7 a, b	4	47,21 a

*a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$)

(Sánchez-López, 2021).

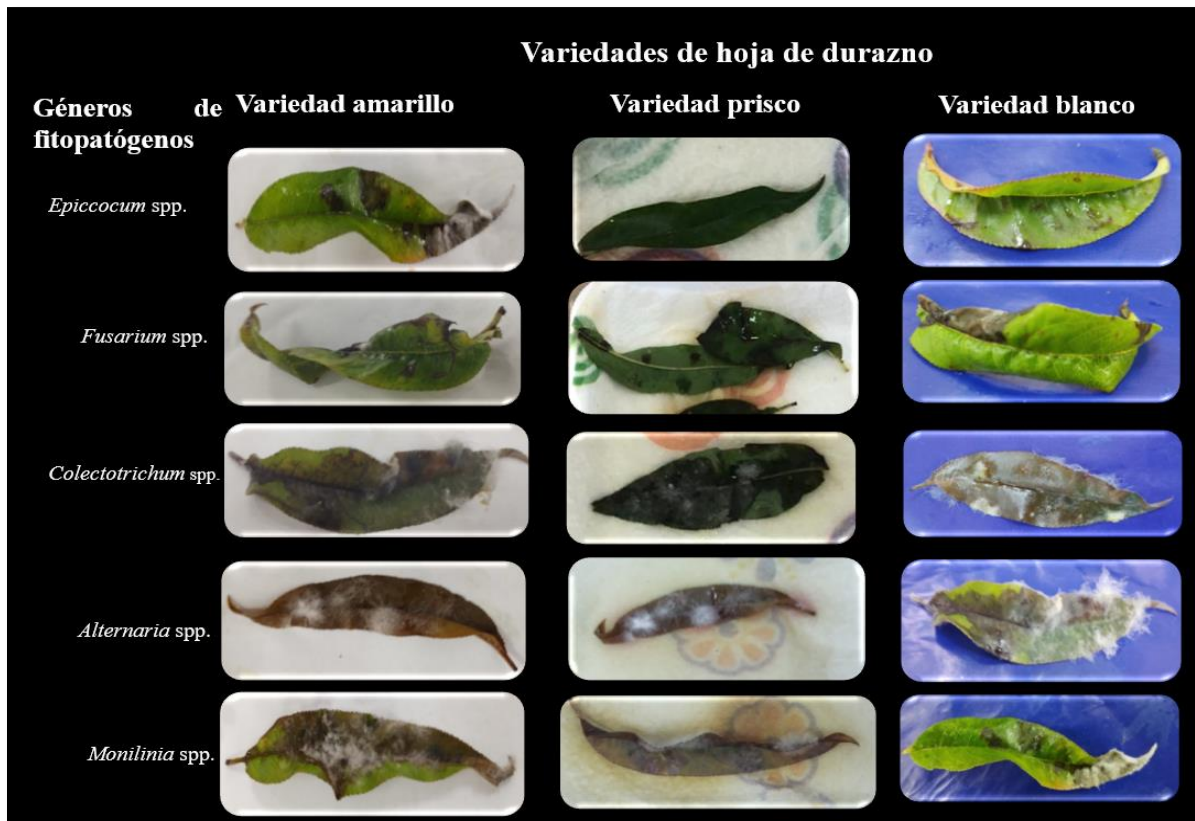


Figura 33. Lesiones de hongos fitopatógenos foliares asociados al cultivo de durazno en las variedades amarillo, prisco y blanco del sur de Chihuahua.

En Japón se ha identificado a *Alternaria alternata* causando la mancha negra sobre la hoja de durazno, ubicándose en el grado 2 de la escala según Iwamoto et al. (2019); estos síntomas coinciden con los observados en las hojas del duraznero en el sur de Chihuahua, además de presentar micelio aéreo sobre el tejido vegetal en las tres variedades evaluadas.

En los últimos años en China se han identificado especies de *Collectotrichum* sp. (*C. nymphaeae*, *C. fioriniae* y *C. godetiae*) afectando tanto las hojas como los frutos del duraznero, con porcentajes que oscilan entre 20 a 90% (Tan et al., 2022). *Fusarium solani* también ha ocasionado lesiones acuosas blandas marrones, con esporulación blanquecina, resultados que fueron confirmados mediante los postulados de Koch en las regiones productoras de China (Zhu et al., 2019). Dichos síntomas se presentan con gran similitud a los encontrados en el sur de Chihuahua en frutos de manzana, pera, fresa y ciruela. *Epicoccum* spp. se ha desarrollado como controlador biológico contra

fitopatógenos del duraznero (Taguam et al., 2021), difiriendo con las cepas obtenidas en esta investigación, las cuales mostraron cierto grado de patogenicidad sobre las hojas de las tres variedades del duraznero con lesiones café oscuras y presencia de micelio aéreo sobre el tejido vegetal.

En cuanto a la incidencia de los fitopatógenos (10 aislados), éstos presentaron micelio, lesiones y coloraciones tanto en el fruto como en la hoja de las variedades en estudio, desarrollando un 100 % en los bioensayos, por lo que son considerados extremadamente sensibles para el cultivo del duraznero de la zona sur de Chihuahua. Gelain et al. (2022) reportaron un alto grado de incidencia de los fitopatógenos *Fusarium* y *Alternaria*, confirmados molecularmente, los cuales se encontraban afectando ramas del manzano. Por su lado, especies de *Collectotrichum* se han encontrado causando antracnosis en varias partes de la planta como ramas, hojas, flores y frutos, en cultivos de caqui (*Diospyros kak*), manzano (*Malus domestica*), melocotón (*Prunus persica*) y vid (*Vitis vinífera*), causando un 71% de incidencia Carraro et al. (2022), por lo que se considera un hongo con un gran potencial de virulencia, ya que los resultados tienen una amplia correlación con los evaluados para las tres variedades de durazno y los frutos de manzano (*Malus domestica*), fresa (*Fragaria* spp.), ciruela (*Prunus domestica*), pera (*Pyrus communis*) y membrillo (*Cydonia oblonga*).

De acuerdo con los datos reportados por Dutta et al. (2020) se señaló a *Monilinia fruticola*, como agente causal del tizón de la flor afectando la hoja de durazno, los cuales oscilaron entre 90 a 95% durante 7 días de experimento, estos resultados presentaron gran similitud con la prueba de patogenicidad del género *Monilinia* sp., con un 100% de incidencia en todas las variedades de hoja del duraznero en el sur de Chihuahua, México.

3.4. CONCLUSIONES

La variedad amarilla del duraznero es considerada la más susceptible a todos los aislados patogénicos; así mismo, *Alternaria* spp., *Collectotrichum* sp. y *Monilinia* sp. fueron los fitopatógenos más agresivos. Todos los hongos presentaron incidencia en hojas, por lo que se consideran variedades extremadamente sensibles.

El fruto de fresa es el más susceptible ante los fitopatógenos foliares del durazno mientras que la manzana mostró mayor resistencia al presentar menor porcentaje de severidad.

Alternaria spp., *Fusarium* spp., *Epicoccum* spp., *Collectotrichum* sp. y *Monilinia* sp. fueron patogénicos a los frutos de fresa, pera, ciruela, manzana y membrillo determinando el rango de hospedante para frutales.

CAPITULO 4. REPRODUCCIÓN CONIDIAL DE *Trichoderma asperelloides* EN MEDIOS DE CULTIVO Y SUSTRATOS ORGÁNICOS³

RESUMEN

El empleo de extractos vegetales para el control de enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisorio, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad biológica de reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides* en medios de cultivos y sustratos orgánicos. Se evaluaron cuatro cepas de *T. asperelloides* en sustratos sólidos de arroz, maíz, sorgo, trigo, polvo de maicena y avena con cáscara de durazno variedad amarillo nativo de la región, se agregaron 250 g en bolsas de polietileno con una alícuota de 15 mL de agua destilada, con el hongo y en frascos de cristal se añadieron 10 discos miceliales de 0.5 cm de diámetro por cepa durante 45 días de incubación, además se probó el crecimiento de *T. asperelloides* en medios de cultivo de jugo de vegetales V8 al 5%, papa dextrosa agar (PDA), agar dextrosa sabouraud (SDA), 5g de PDA con suplemento de polvo de trigo, 5g de PDA con suplemento de polvo de aserrín de pino, 5g de PDA con suplemento de polvo de eucalipto, agar bacteriológico y agar macConkey durante 7 días de crecimiento, para la obtención conidial se realizaron diluciones seriadas con seis repeticiones por medio de cultivo con un concentración de 1×10^6 . Se obtuvo el 100% de reproducción conidial en los sustratos orgánicos y 87.5 % de crecimiento micelial en medios de cultivo y de demostró la cepa 3 con la más alta producción conidial.

Palabras clave: Antagonista, cepa, concentración, crecimiento

³Este capítulo se encuentra en estatus de aceptado en la Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Agosto 2023-Julio 2024.

ABSTRACT

The use of plant extracts to control diseases within the framework of sustainable agriculture constitutes a promising alternative, due to its high effectiveness, low cost and non-polluting of the environment. The objective of this work was to evaluate the biological activity of conidial reproduction of *Trichoderma asperelloides* in culture media and organic substrates. Four strains of *T. asperelloides* were evaluated in solid substrates of rice, corn, sorghum, wheat, cornstarch powder and oats with peach peel native yellow variety of the region, 250 g were added in polyethylene bags with an aliquot of 15 mL of distilled water, with the fungus and in glass bottles, 10 mycelial discs of 0.5 cm in diameter were added per strain for 45 days of incubation. In addition, the growth of *T. asperelloides* was tested in culture media of V8 vegetable juice at 5 %, potato dextrose agar (PDA), sabouraud dextrose agar (SDA), 5g PDA supplemented with wheat powder, 5g PDA supplemented with pine sawdust powder, 5g PDA supplemented with eucalyptus powder, bacteriological agar and macConkey agar for 7 days of growth, to obtain conidials, serial dilutions were carried out with six repetitions by culture medium with a concentration of 1×10^6 . 100% conidial reproduction was obtained in the organic substrates and 87.5% of mycelial growth in media culture and demonstrated strain 3 with the highest conidial production.

Keywords: Antagonist, strain, concentration, growth

4.1. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades de las plantas son responsables de importantes pérdidas de cultivos en todo el mundo y representan una amenaza para la seguridad alimentaria mundial (Bevacqua et al., 2019). El empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisoría, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente (Rodríguez et al., 2000). No obstante, en la aplicación en campo podría verse influenciada por factores bióticos y abióticos, como las condiciones ambientales, los genes del huésped, las interacciones entre el microbiota vegetal y la diferenciación geográfica (Ren et al., 2019) por lo cual esto puede reducir los resultados favorables en su aplicación.

Es así, que existe interés en la búsqueda de nuevos sustratos y medios de cultivo que sean económicos y eficientes. Por ejemplo, los residuos orgánicos y subproductos de la agroindustria que resulten de fácil adquisición y proporcionen una elevada producción de conidias viables de hongos (Rai et al., 2023). Así como el desarrollo de nuevas metodologías de producción masiva de biocontroladores que permitan reducir el costo de producción y viabilizar un mayor uso de este antagonista en los diversos cultivos (Arévalo et al., 2017).

Los hongos son microorganismos eucarióticos y heterótrofos, que requieren de compuestos orgánicos para su nutrición, ya que secretan enzimas las cuales ayudan a descomponer una gran variedad de sustratos, para absorber los nutrientes que hay en las hojas muertas y otros materiales orgánicos que se encuentran en el suelo (Ipiales *et al.*, 2021). Un tipo de microorganismos benéficos en el suelo son los hongos *Trichoderma* spp, mismos que establecen una simbiosis de beneficio mutuo en raíces de plantas superiores para la absorción de agua y nutrientes (Liang et al., 2021).

Los sustratos comerciales permiten la optimización para la reproducción de microorganismos los cuales están compuestos por celulosa, hemicelulosa y lignina, estos sustratos incluyen paja de arroz y trigo, cáscaras de semillas de algodón, aserrín, papel de desecho, hojas y residuos de caña de azúcar (López- Martínez *et al.*, 2022). Se utilizan para reproducción de hongos (Akter & Sadia, 2020), además el género *Trichoderma*,

suele aplicarse para mejorar la salud de los cultivos para manejar enfermedades de las plantas, como biofertilizante, biorremediador y agente de biocontrol (Bhandari et al., 2021).

Lo anterior depende del desarrollo de formulaciones con portadores adecuados que favorezcan la supervivencia de *Trichoderma* durante largos periodos de tiempo (Singh et al., 2020). Se han utilizado materiales orgánicos e inertes como soportes (Mancera et al., 2018) así como medios de cultivos para su reproducción *in vitro* al probar la viabilidad de conidios de *Trichoderma* spp. además se han obtenido resultados alentadores tanto en sustratos como en reproducción conidial en medios ricos en carnes, glucosa y fuentes proteicas (Antomarchi et al., 2023). El objetivo de esta investigación consistió en evaluar la actividad biológica de reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides* en diferentes medios de cultivos y sustratos orgánicos. La hipótesis planteada fue que al menos el 50% de los medios de cultivo presentará crecimiento micelial de *T. asperelloides* y efecto sobre los sustratos orgánicos comerciales.

4.2. MATERIALES Y MÉTODOS

4.2.1. Lugar de estudio.

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en los laboratorios de Microbiología, Edafología y Análisis ambientales de la Universidad Tecnológica de la Tarahumara ubicada en Guachochi, Chihuahua, México (enero de 2023) en conjunto con el Instituto de Ciencias Agrícolas de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, de la Universidad Autónoma de Sinaloa de Juan José Ríos Sinaloa y el departamento de Fitopatología de la Universidad Autónoma de Occidente, Unidad regional los Mochis, Sinaloa (abril- junio 2023).

4.2.2. Obtención de aislados.

Para la obtención de las cuatro cepas de *T. asperelloides* se seleccionaron aquellas con mayor grado de inhibición, las cuales ya han sido previamente identificadas como cepa 3 y 5, obtenidas del municipio de Morelos, Chihuahua con una variación climatológica de 12 a 49 °C (Porrás *et al.*, 2021) y la cepa 1 y 8, aisladas del municipio de Guachochi, Chihuahua con una temperatura entre -6 a 17.5 °C (Alvarado *et al.*, 2019).

4.2.3. Obtención de sustratos.

Para la reproducción masiva de *T. asperelloides* en sustratos sólidos de origen comercial se tomó en cuenta el arroz (*Oryza sativa* L) (Arévalo *et al.*, 2017), maíz (*Zea mays* L), sorgo (*Sorghum* M), trigo (*Triticum* L), polvo de maicena (Feijóo-Vivas *et al.*, 2021; López- Martínez *et al.*, 2022) y avena con cáscara de durazno variedad amarillo nativo de la región.

4.2.4. Preparación de medios de cultivo.

Todas las cepas se cultivaron sobre jugo de vegetales V8 al 5% (Camargo *et al.*, 2021), papa dextrosa agar (PDA) agar dextrosa sabouraud (SDA) (Fletcher, 2019), 5g de PDA con suplemento de polvo de trigo trituras en un mortero (Ruschioni *et al.*, 2020), 5g de PDA con suplemento de polvo de aserrín de pino trituras en un mortero (Zhang *et al.*, 2021) 5g de PDA con suplemento de polvo de eucalipto trituras en un mortero

con modificaciones (Ahmad *et al.*, 2020), agar bacteriológico (Rodrigues *et al.*, 2019), agar macConkey preparado en condiciones estériles estándar para evitar contaminaciones externas y de acuerdo las instrucciones del fabricante (Figura 34) (Kyei *et al.*, 2020), todos los medios fueron sometidos a un rango de pH=5.5 a 7, con alternancia de luz y oscuridad (14 y 10 horas respectivamente), durante siete días en todos los medios de cultivo, a una temperatura ambiente de $7^{\circ}\text{C} \pm 2$ para el bioensayo 1 durante el invierno (noviembre) de 2022 y a una temperatura ambiente de $17.5^{\circ}\text{C} \pm 2$ el bioensayo en verano (mayo) de 2023.

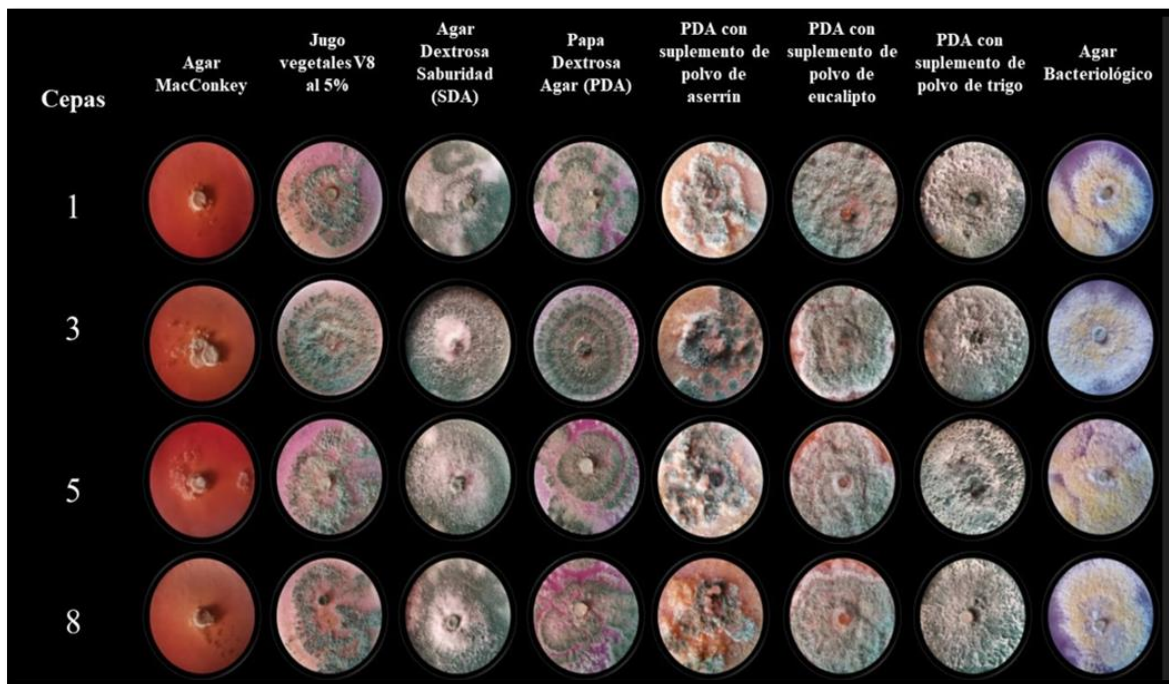


Figura 34. Crecimiento micelial *in vitro* de cepas de *Trichoderma asperelloides* sobre medios de cultivo.

4.2.5. Preparación de los sustratos.

Con el propósito de eliminar las impurezas de los sustratos se tomó en cuenta la técnica de Gato, (2010), para ello se vertió el arroz en agua del grifo durante 24 horas, posteriormente se lavó profundamente hasta eliminar el almidón, enseguida se agregaron 250g de ese arroz en bolsas de polietileno y se esterizaron en autoclave (marca: Zhejiang Top Instruments, modelo: YX-18LD) a 121°C por 60 minutos. Para maíz se molió a 1.30g/cm del grano y el sorgo

se trituró hasta quedar pulverizado en una licuadora metálica (marca: WARING, modelo: L.V.I.06714) se utilizaron frascos de cristal envueltos en papel aluminio con tapa plástica, donde se depositaron 250g de ambos sustratos (Vázquez *et al.*, 2009).

En trigo las semillas fueron desinfectadas superficialmente después de 5 minutos de remojo en solución de hipoclorito de sodio al 1%, seguido por la inmersión en agua estéril por 12 horas, se colocaron en frascos de cristal con tapa plástica y se esterilizaron mediante autoclave por 15 psi a 121 °C (Velmourougane *et al.*, 2019). En el sustrato de polvo de maicena se siguió la técnica con modificaciones de Zhang *et al.* (2021) en medio sólido se pesó 30g polvo de maicena, mezclándolo con agua hirviendo con humedad relativa de 80%, se depositó en un contenedor de cristal de 250mL y se esterilizó durante 30 minutos con 15 psi a 121 °C. Para la preparación de avena con cascara de durazno variedad amarillo se licuaron 50g de avena hasta quedar completamente polvo fino. Luego, se tomaron 200g cáscaras frescas de duraznos nativas de la región, se cortaron en pequeños trozos de 5 cm los cuales, se mezclaron y se almacenaron en bolsas de polietileno para su posterior esterilización durante 8 minutos con 15 PSI a 121 °C.

4.2.6. Inoculación de *Trichoderma asperelloides*.

Las cepas de *T.asperelloides* se desarrollaron en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) a los cuatro días de crecimiento (Arévalo *et al.*, 2017), se realizó un raspado con un asa bacteriológica y con una jeringa se tomó una alícuota de 15 mL de la mezcla de agua destilada con el antagonista, se inyectó con el sustrato y se dejó reposar durante 45 días a 27°C± 2, con 14 horas luz y 10 horas oscuridad y se removió el sustrato diariamente hasta obtener la esporulación del hongo (Cuenca *et al.*, 2022), por otro lado a los sustratos contenidos en recipientes de cristal se agregaron 10 discos miceliales de 0.5 cm de diámetro por cepa. Los frascos se incubaron a la misma temperatura en completa oscuridad por 45 días (Vázquez *et al.*, 2009).

4.2.7. Conteo de conidios a través de diluciones seriadas.

Para el conteo de conidios se realizaron diluciones seriadas a partir de un gramo de sustrato colonizado con el hongo y se adicionaron a nueve mL de agua destilada estéril, por cada sustrato se realizaron seis repeticiones finalmente se tomó la lectura de seis alícuotas con una concentración 1×10^6 en la cámara de Neubauer o hematocitómetro (Arévalo et al., 2017). Para el conteo de conidios en medios de cultivo se realizó un raspado de las cuatro cepas de *T. asperelloides* crecidas previamente en papa dextrosa agar (PDA) en los ocho medios de cultivo, con seis repeticiones con una concentración 1×10^6 , así mismo se utilizó la fórmula propuesta por Bastidas (2018): $V_2 = C_1 \times V_1 / C_2$ Donde. C_1 = Concentración inicial (conocida en el conteo). V_1 = Volumen inicial (establecido arbitrariamente al preparar el inóculo). C_2 = Concentración final deseada (según el estudio a realizar). V_2 = Volumen final (desconocido).

4.2.8. Análisis estadístico.

Para llevar a cabo el análisis del tratamiento con mayor producción conidial en sustratos y medios de cultivo se empleó un diseño completamente al azar con arreglo factorial, con respecto a las cuatro cepas de *T. asperelloides*. Para el análisis de varianza y la comparación de medias se realizó la prueba de media de Tukey-Kramer, con un valor alfa de 0.05%, con seis repeticiones. Estos análisis se llevaron a cabo mediante el paquete estadístico JMP, versión 9.0.1 (Statistical Analysis System, [SAS Institute Inc.], 2011).

4.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.3.1. Concentración conidial de *Trichoderma asperelloides* en medios de cultivo.

De acuerdo con los resultados estadísticos analizados se determinó la diferencia entre los tratamientos, se consideraron los ocho medios de cultivo para obtener una producción conidial promedio por cepa. La cepa 1 mostró una reproducción conidial de 533 con/mL en medio agar dextrosa sabouraud (SDA) con mayor producción de esporas, mientras que en el medio MacConkey se obtuvo una menor cantidad conidial, para la cepa 3 se logró visualizar un total de 695 con/mL y cepa 5 con 627 con/mL ya que contabilizó el medio de cultivo PDA con suplemento de polvo de trigo con mayor número de conidios y el agar bacteriológico con la menor cantidad y para la cepa 8 con 183 con/mL se logró visualizar que el PDA con suplemento de polvo de trigo con mayor número de conidios y el medio SDA como la mínima.

En cepa 1 se obtuvo el crecimiento radial diario de 2.4 cm en medio PDA con suplemento de polvo de trigo en el bioensayo 1 y 2.325 cm con una desviación estándar de 0.025 en promedio con el medio PDA en el bioensayo 2 y el medio agar MacConkey con el crecimiento mínimo de 0.0 cm en ambos bioensayos, en la cepa 3 se presentó 2.58 cm en promedio más alto con el medio PDA suplemento de polvo de eucalipto en el bioensayo 1 y 2.36 cm en agar bacteriológico en el bioensayo 2 y el medio con menor crecimiento micelial fue agar MacConkey con 0.0 cm en ambos bioensayos, además en la cepa 5 se obtuvo 1.933 cm PDA y PDA con suplemento de polvo de aserrín en el bioensayo 1 y 2.4 cm en agar bacteriológico en el bioensayo 2 y el medio agar MacConkey con el crecimiento mínimo de 0.0 cm en ambos bioensayos y en la cepa 8 de 2.1 cm en promedio más alto con el medio PDA suplemento de polvo de trigo en el bioensayo 1 y 1.83 cm para el medio papa dextrosa agar (PDA) en el bioensayo 2 y el medio con menor crecimiento micelial fue agar MacConkey con 0.0 cm en ambos bioensayos.

Para comprobar el desarrollo *in vitro* de *T.asperelloides* en los medios de cultivo para el bioensayo 1, se observó un crecimiento significativo del hongo en medio de cultivo en PDA con suplemento de polvo de trigo (Figura 35 y 38) , PDA con polvo de eucalipto (Figura 37) y papa dextrosa agar y PDA con polvo de eucalipto (Figura 36) y para el

bioensayo 2 papa dextrosa agar (Figura 35 y 38), agar bacteriológico (Figura 36 y 37) , por lo que se registró un crecimiento visible en tres días, en cambio en el resto de los medios de cultivo el crecimiento fue más lento o incluso inexistente.

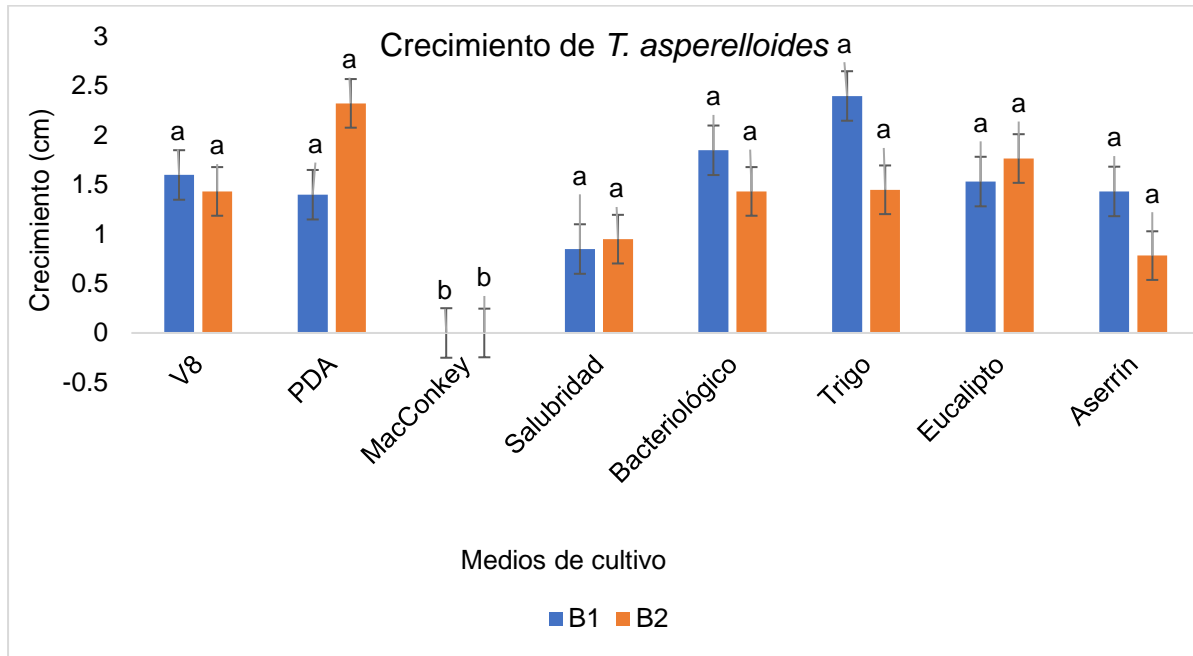


Figura 35. Crecimiento *in vitro* de *T. asperelloides* en medios de cultivo durante 7 días de desarrollo de la cepa 1. *a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

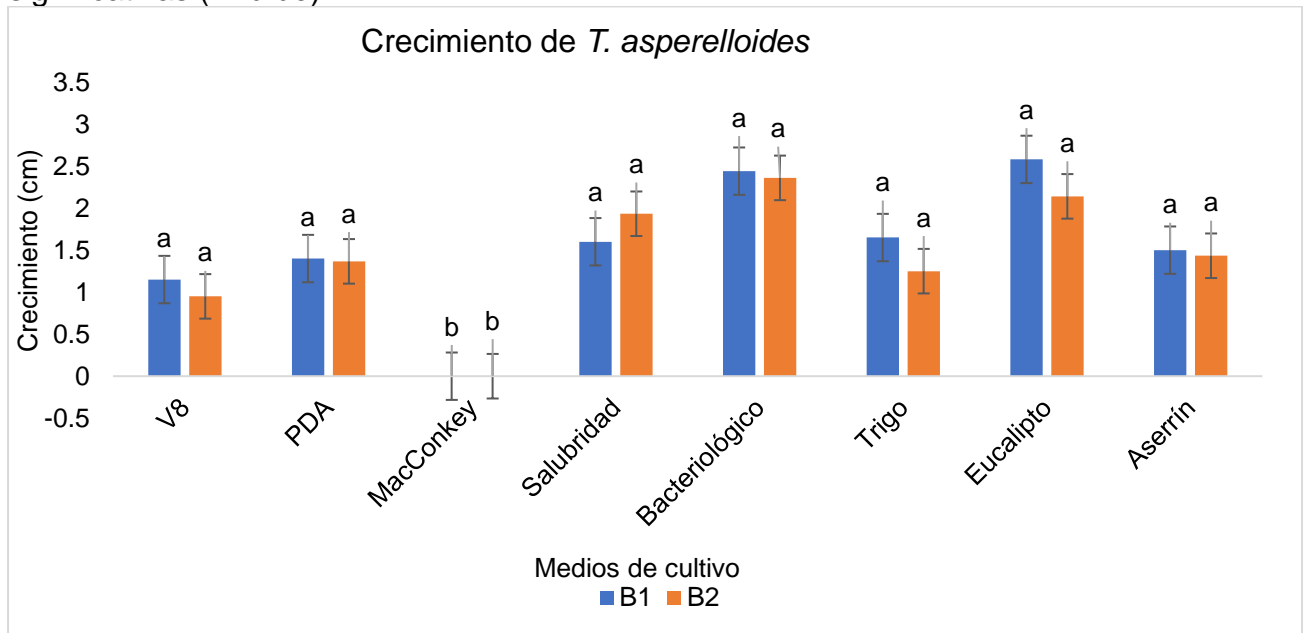


Figura 36. Crecimiento *in vitro* de *T. asperelloides* en medios de cultivo durante 7 días de desarrollo de la cepa 3. *a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

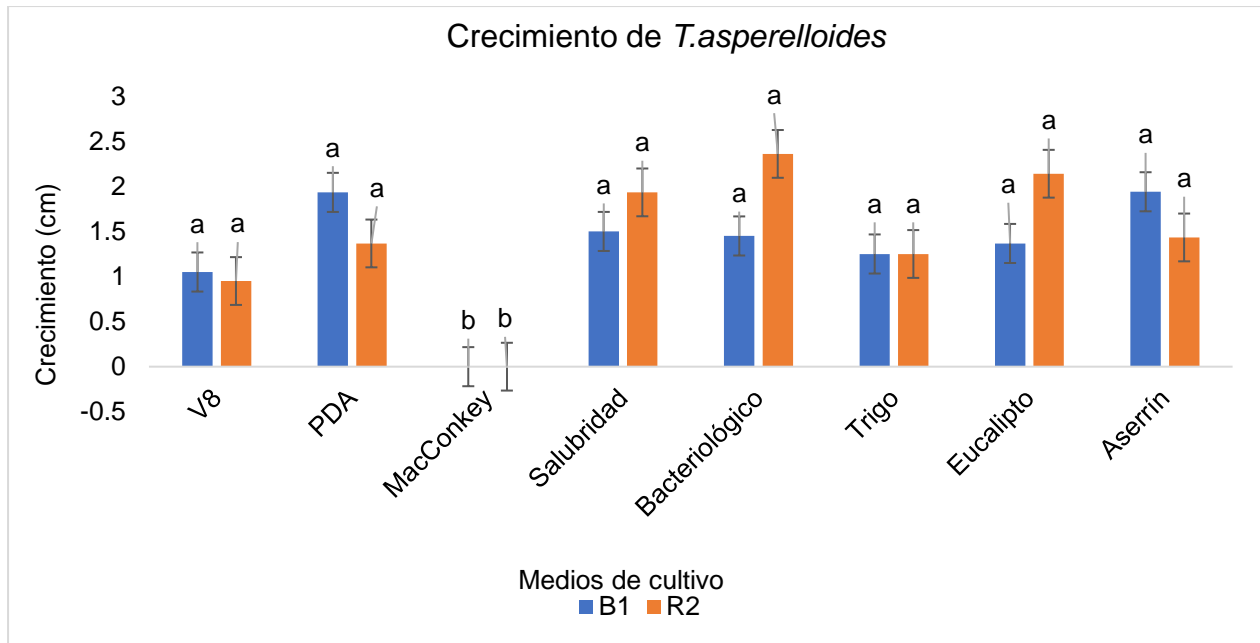


Figura 37. Crecimiento *in vitro* de *T. asperelloides* en medios de cultivo durante 7 días de desarrollo de la cepa 5. *a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

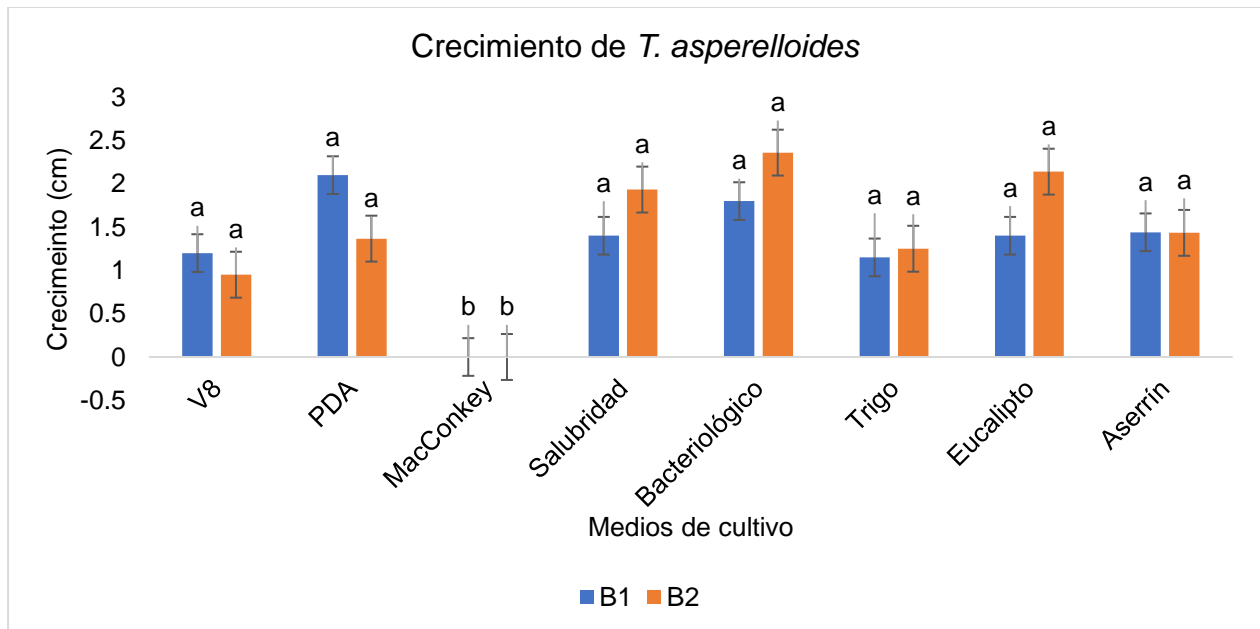


Figura 38. Crecimiento *in vitro* de *T. asperelloides* en medios de cultivo durante 7 días de desarrollo de la cepa 8. *a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

Los resultados coinciden con los estudios realizados por Shina *et al.* (2018) quienes evaluaron cinco medios de cultivo, (papa dextrosa agar (PDA), agar de papa y

zanahoria (PCA), agar de zanahoria (CA), czapek-dox medio de agar (CDA) y jugo de vegetales (V8)), al inocular *T. viridae* y *T. harzianum*, en este estudio se reporta que los mayores crecimientos radiales se encontraron en agar papa dextrosa mientras que el crecimiento más bajo se registró en el jugo de vegetales, dichos resultados concuerdan con los de esta investigación, en ambos bioensayos realizados, se observó un mayor crecimiento radial en papa dextrosa agar, además del nulo crecimiento en el medio MacConkey. Por otro lado, investigaciones realizadas en Bangladésh reportaron el crecimiento de *T. harzianum* en papa dextrosa agar, agar papa dextrosa modificado, agar agua, agar zanahoria y agar harina de maíz donde se encontró el mayor crecimiento radial en papa dextrosa agar (Jahan *et al.*, 2013), estos resultados coincidieron con los de este estudio al demostrar que en el mayor número de cepas evaluadas el medio papa dextrosa agar prevaleció. Por otra parte, se determinó el crecimiento de *T. Harzianum* en V8c, Czapek y agar agua al 2% y se demostró el medio Czapek con un mayor abundancia de micelio del hongo (Sid *et al.*, 1999), de igual manera en este trabajo el resultado del medio V8 no mostró un crecimiento estadísticamente significativo.

También Thomas y Gangadhara, (2017) evaluaron ocho medios de cultivo (agar de jugo V8, agar sintético de Richard, agar sabouraud dextrosa, agar de harina de avena, agar de harina de maíz, agar zanahoria dextrosa, agar patata dextrosa, centeno agar) para el crecimiento de *Phytophthora capsici* durante 5 días en el cual desarrolló un mayor diámetro el agar sabouraud dextrosa con 69.5 mm de la colonia a diferencia de los resultados en *T. asperelloides* en que se mostró un crecimiento radial 0.7 y 1.9 cm en ambos bioensayos en todas las cepas evaluadas para el agar sabouraud dextrosa .

Al evaluar la producción conidial de las diferentes cepas de *T. asperelloides* en el municipio de Morelos, Chihuahua se consideran las variables climatológicas como un factor clave en el crecimiento del hongo al mostrar que la cepa 3 y 5 obtuvieron el mayor número promedio de conidios, ya que la temperatura promedio fue de 32 °C y la reproducción conidial en los diferentes medios varió de 1×10^6 a 1×10^9 en correlación con estudios previos realizados en San Paulo, Brasil al evaluar el efecto de factores específicos en la producción de conidios de *T. asperelloides*, *T. erinaceum*, *T. erinaceum* T-18 y *T. harzianum*, al medir variables clave como temperatura y la producción conidial en caldo de cultivo básico y el medio basal compuesto de 2 g de NaNO₃, 1 g de K₂HPO₄,

0,5 g de KCl, 0,5 g de MgSO₄ y 0,02 g FeSO₄. *T. asperelloides* presentó el 100% de producción conidial en 7 días de crecimiento con un pH de 3.5 y una temperatura optima de 30 °C en ambos medios con una producción conidial que varió de 1.0x10⁸ a 2.60 x 10⁸ (De Resende *et al.*, 2020).

4.3.2. Análisis cuantitativo en los sustratos orgánicos comerciales sobre el crecimiento micelial de *Trichoderma asperelloides*.

En general en todos los sustratos inicialmente se evidenció la formación de micelio de color blanco de *T. asperelloides* sobre el material vegetativo, posteriormente se tornó a verde pino, en el caso de avena con cáscara de durazno después de los 45 días el color se tornó a negruzco, así como en el sorgo se tardó 22 días en penetrar el hongo para realizar su invasión, además en maicena se formaron grumos entre 1 a 4.8 cm de diámetro después de los 39 días (Figura 39). En el resto de los sustratos, la presencia del hongo se mostró entre los 12 y 18 días. Los resultados indican que la reproducción conidial fue más efectiva en granos de arroz y semillas de trigo, ya que la invasión fue en su totalidad en menos tiempo en comparación con el resto, estos resultados se asimilaron a los presentados por Mulatu *et al.* (2021) al evaluar especies de *Trichoderma* bajo fermentación en estado sólido ,mediante 14 sustratos de orgánicos después de los 21 días de incubación, en la que se encontró que una mezcla de salvado de trigo y el arroz apoya el crecimiento máximo de *T. asperellum* (3.2 × 10⁷ esporas/g sustrato seco) y *T. longibrachiatum* (3.5 × 10⁷ esporas/g sustrato seco).



Figura 39. Reproducción masiva de *Trichoderma asperelloides* almacenados en bolsas de polietileno y contenedores de cristal de sustratos orgánicos comerciales.

De acuerdo al análisis estadístico, todos los sustratos alcanzaron la concentración ideal de 1×10^6 con/mL con una pureza de 100% tanto en los inoculados en bolsas de polietileno como los contenidos en vidrio, así como también se determinaron variaciones de concentración entre los sustratos con respecto a las diferentes cepas. Se demostró que la cepa 3 presentó la mayor concentración en todos los sustratos, no obstante, no hubo diferencia significativa entre los tratamientos (Cuadro 11). A comparación de lo obtenido por Cáceres y Galliani (2020) quienes evaluaron sustratos orgánicos sobre *T. viridae* en aserrín, maíz de grano amarillo, harina de avena, alpiste, cáscara seca de frijol lima, grano de trigo, orujo de uva y vaina de huarango y sus resultados fueron favorables para cáscara de frijol con una mayor concentración de 2×10^9 con/g en 5 días de incubación y se obtubó el 100% de pureza en todos los sustratos. Además Perera *et al.*, (2021) probaron diferentes tratamientos para el crecimiento de *T. viridae* al comparar paja de arroz, aserrín de madera, cáscara de arroz y hojas de plátano durante 36 días sus resultados fueron favorables al tener un efecto significativo en paja de arroz y aserrín en el desarrollo de *Trichoderma*. en este caso coincidió con lo realizado en este estudio al encontrar los granos de arroz como mejor fuente de reproducción masiva y de inóculo de *T. asperelloides*.

Cuadro 11. Concentración conidial de *Trichoderma asperelloides* y pureza de sustratos comerciales para el uso agrícola.

(Tratamiento) Sustrato	Numero de Cepa	de Concentración (con g de sustrato ⁻¹)	
Arroz	1	1×10^8	a
Maíz	1	1×10^6	a
Sorgo	1	1×10^6	a
Trigo	1	1×10^9	a
Maicena	1	1×10^8	a
Avena con cascara de durazno	1	1×10^6	a
Arroz	3	1×10^9	a
Maíz	3	1×10^7	a
Sorgo	3	1×10^6	a
Trigo	3	1×10^9	a

Maicena	3	1x10 ⁸	a
Avena con cascara de durazno	3	1x10 ⁶	a
Arroz	5	1x10 ⁷	a
Maíz	5	1x10 ⁷	a
Sorgo	5	1x10 ⁶	a
Trigo	5	1x10 ⁸	a
Maicena	5	1x10 ⁶	a
Avena con cascara de durazno	5	1x10 ⁶	a
Arroz	8	1x10 ⁷	a
Maíz	8	1x10 ⁷	a
Sorgo	8	1x10 ⁶	a
Trigo	8	1x10 ⁸	a
Maicena	8	1x10 ⁶	a
Avena con cascara de durazno	8	1x10 ⁶	a

Con g⁻¹ = Conidios por gramo, *a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P \leq 0.05$).

Por otro lado, Silva *et al.* (2018) utilizaron la técnica planteada en este estudio para la inoculación de *T. asperelloides* y *T. asperellum* sobre gránulos de trigo con una concentración de 1x10⁶ conidios mL⁻¹ para determinar el mico parasitismo sobre *Sclerotinia sclerotiorum* y se tuvieron resultados de 100% de inhibición del hongo sobre el sustrato, no obstante estudios realizados en Cuba han demostrado la reproducción masiva de *T. harzianum* en aserrín de pino blanco y se produjo el 29.87% de reproducción conidial sobre el bagazo de caña (Antomarchi *et al.*, 2023), si embargo existe diferencia de esta investigación ya que el aserrín de pino solo fue sobresaliente en la cepa 5 con el mismo valor de PDA, mientras López-Martínez *et al.*, (2022) confirma el olote de maíz como mejor sustrato para la reproducción de *T. harzianum*, *T. harzianum*, *T. harzianum*, *Trichoderma* sp. y *T. longibrachiatum* en comparación con el sustrato en granos de arroz el valor de 3.30x10⁶ esporas en arroz y 1.74x10⁶ en olote y se demostró que el olote es un sustrato ideal para la reproducción de los hongos sin tener que utilizar un alimento del ser humano.

4.4. CONCLUSIONES

De los ocho medios de cultivo probados en cuatro cepas de *T. asperelloides* durante ambos bioensayos se destacaron papa dextrosa agar, agar bacteriológico y PDA con polvo de trigo con el valor más alto de crecimiento y el medio MacConkey no presentó crecimiento en los tratamientos y se demostró la cepa 3 con la más alta producción conidial al llenar una caja de 90 mm de los diferentes medios de cultivo en 3 días de experimentación. En todos los sustratos se presentó viabilidad para la reproducción conidial del hongo y se demostró que las semillas de trigo y los granos de arroz son una fuente ideal para su crecimiento a temperaturas cálidas ($17.5^{\circ}\text{C} \pm 2$) y frías ($7^{\circ}\text{C} \pm 2$), por lo tanto se cumplió con el objetivo al confirmar la efectividad biológica de *T. asperelloides* en sustratos orgánicos comerciales, ya que se obtuvo el 100% de reproducción conidial y 87.5 % de crecimiento micelial en medios de cultivo.

Se recomienda probar los sustratos orgánicos en cultivos de la región ya sea en condiciones controladas como en campo abierto, agregándolos de forma sólida sobre el suelo, de igual manera se recomienda hacer uso del medio papa dextrosa agar para la reproducción conidial y así poder realizar las inoculaciones de forma líquida.

CAPÍTULO 5. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE HONGOS FITOPATÓGENOS FOLIARES ASOCIADOS AL CULTIVO DEL DURAZNERO (*Prunus persica* L) Y EFECTO DE CONTROL BIOLÓGICO⁴.

RESUMEN

La presencia de hongos fitopatógenos foliares ocasiona severos daños en hojas y frutos de durazno (*Prunus persica* L.), en zonas productoras del sur de Chihuahua, México, lo que ha ocasionado una disminución en su producción en un 30%. El objetivo de este trabajo fue identificar morfológica y molecularmente los hongos fitopatógenos foliares asociados al cultivo del duraznero evaluando la patogenicidad en plantas de un año de edad contra *Trichoderma asperelloides*. Se recolectaron hojas con lesiones color café y marrón en frutos momificados en planta de 19 huertos comerciales de durazno distribuidos en tres municipios de producción regional y nacional en el Estado de Chihuahua México. La identificación de hongos de cuatro aislamientos representativos se realizó utilizando métodos morfológicos. caracterización y análisis filogenético basado en la región espaciadora transcrita interna (ITS1 e ITS4) de ADN ribosomal, parte del factor de elongación de traducción 1-alfa (TEF) un segundo cebador secundario por cada uno de los géneros para, *Collectotrichum* ACT-512F y ACT-583R, *Fusarium* con EF1. Para las confrontaciones en planta se inoculo una concentración de 1×10^6 conidios. mL⁻¹ de patógenos como de *T. asperelloides*, evaluando el diámetro y longitud de hoja, altura, severidad e incidencia. Se logró identificar la presencia de *Fusarium sambucinum*, *Collectotrichum gleosporoides* y *Monilinia frutícola*, además la cepa B-F-M1-A2-ACCH-3 de *F. Sambucinum* obtuvo los valores más altos en la inhibición de las variables de respuesta y en severidad *Monilinia frutícola* presentó 61.23% como el valor más alto. Se recomienda usar la cepa 3 como control biológico de fitopatógenos foliares.

Palabras clave adicionales: Confrontación, hongo, identificación, planta, variable de respuesta, *T. asperelloides*.

⁴Este capítulo se encuentra enviado en la Revista Scientia Agropecuaria. Febrero-Julio 2024.

ABSTRACT

The presence of foliar phytopathogenic fungi causes severe damage to leaves and fruits of peach (*Prunus persica* L.), in producing areas of southern Chihuahua, Mexico, which has caused a decrease in production by 30%. The objective of this work was to identify morphologically and molecularly the foliar phytopathogenic fungi associated with the peach tree crop, evaluating the pathogenicity in one-year-old plants against *Trichoderma asperelloides*. Leaves with brown and brown lesions were collected from mummified fruits on the plant from 19 commercial peach orchards distributed in three municipalities of regional and national production in the State of Chihuahua, Mexico. Fungal identification of four representative isolates was performed using morphological methods. characterization and phylogenetic analysis based on the internal transcribed spacer region (ITS1 and ITS4) of ribosomal DNA, part of the translation elongation factor 1-alpha (TEF) a second secondary primer for each of the genera for, *Collectotrichum* ACT-512F and ACT-583R, *Fusarium* with EF1. For plant confrontations, a concentration of 1×10^6 conidia was inoculated. mL⁻¹ of pathogens such as *T. asperelloides*, evaluating leaf diameter and length, height, severity and incidence. It was possible to identify the presence of *Fusarium sambucinum*, *Collectotrichum gleosporoides* and *Monilinia frutícola*, in addition the B-F-M1-A2-ACCH-3 strain of *F. Sambucinum* obtained the highest values in the inhibition of the response variables and in severity *Monilinia frutícola* presented 61.23% as the highest value. It is recommended to use strain 3 as a biological control of foliar phytopathogens.

keywords: Confrontation, fungus, identification, plant, response variable, *T. asperelloides*.

5.1. INTRODUCCIÓN

El melocotón (*Prunus persica* (L.) Batsch) es un árbol o arbusto de hoja caduca de la familia de las Rosáceas que se cultiva en todo el mundo (Luo et al., 2022), sus frutos son en forma de drupa y sin hueso se consumen popularmente por su sabor dulce y su valor nutricional (Dong y Yan, 2019). Recientemente este frutal ha disminuido su producción en un 30% en la última década a nivel mundial (Manganaris et al., 2022) atribuyéndose a que alberga naturalmente un reservorio de hongos y bacterias sin causar enfermedades visibles (Gununu *et al.*, 2019), por lo que pueden afectar significativamente el rendimiento y la calidad de la fruta y la longevidad de los árboles (Luo et al., 2022).

Por mencionar algunos se encuentran la pudrición parda causada por *Monilinia* spp, la mancha bacteriana causada por *Xanthomonas arboricola* pv. pruni (Xap), pudrición de la raíz por *Armillaria*, cancro bacteriano causado principalmente por *Pseudomonas syringae* y mildiú polvoriento causado por *Podosphaera pannosa* (Luo et al., 2022).

Los principales síntomas causados por *Monilinia* spp. es tizón de las flores, canchales de las ramitas, en algunos casos, las infecciones de las ramitas progresan hasta la muerte regresiva además las flores infectadas (es decir, el tizón floral) normalmente se vuelven marrones y se marchitan, seguido de la infección y colonización de los brotes (Luo et al., 2022). De igual manera *Collectotrichum* spp. es un hongo que por su parte afecta la producción y rendimiento en el cultivo del melocotón causando grandes pérdidas económicas, las cuales infectan principalmente la fruta, pero también pueden causar lesiones en hojas o ramitas. Las lesiones en los frutos aparecen como áreas firmes, marrones y hundidas, con anillos concéntricos y pequeños acervolos anaranjados ocasionado que los frutos no alcancen la madurez adecuada (Tan et al., 2022).

Por otro lado, se han identificado especies de *Fusarium* spp. que ocasionan la pudrición de las raíces, tronco, flores, ramas y frutos. Infecta principalmente el sistema vascular, se agrupan y destruyen los tejidos y producen toxinas, lo que provoca el marchitamiento y en última instancia, la muerte de los hospedantes (Dong, et al 2023). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue identificar morfológica y molecularmente los hongos fitopatógenos foliares asociados al cultivo del duraznero evaluando la patogenicidad en plantas de un año de edad contra *Trichoderma asperelloides*.

5.2. MATERIALES Y MÉTODOS

5.2.1. Recolección de muestras.

Se recolectaron hojas y frutos del cultivo del duraznero con síntomas típicos de hongos fitopatógenos en nueve huertos de consumo local, regional e internacional de durazno distribuidos en los municipios de Morelos, Balleza y Batopilas, ubicados en el sur de Chihuahua, México. Se tomaron las lecturas del GPS (Cuadro 12) y las colecciones se llevaron al laboratorio en bolsas de plástico Ziplock.

Cuadro 12. Ubicación de sitios de recolección frutos y hojas sintomáticas en diferentes municipios del estado de Chihuahua, México.

Variedad	Identificación de los aislados	Localidad, municipio	Localización geográfica
Criollo	B-F-M1-A2-ACCH-3	Balleza, Balleza	26° 56' 48.8" N, 106° 21' 17,3" W, 3100 msnm
Criollo	B-F-M1-A3-AACH-5	Balleza, Balleza	26° 56' 54.7" N, 106° 21' 07,2" W, 3100 msnm
Blanco	LJ-M2-H-ACCH-7	Las Joyitas, Morelos	26° 37' 45.3" N, 107° 44' 37,9" W 1238 msnm
Amarillo	Y-M1-F-ACCH-8	Yoquivo, Batopilas	27° 00' 58.4" N, 107° 32' 31,7" W, 2800 msnm.

Identificación de aislados: B: Balleza, LJ: Las Joyitas, Y: Yoquivo. F: Fruto, M1.M2: Número de muestra, A, A2, A3=Número de aislado en aislamiento, H: Hoja, ACCH: Ángel Ceballos Chávez, 3,5,7,8: Número de aislado identificado molecularmente.

5.2.2. Aislamiento y purificación.

Las hojas sintomáticas se lavaron con jabón neutro y se esterilizó la superficie con alcohol al 96% durante 30 s. Los trozos de hojas (5 mm²) de los márgenes entre los tejidos necróticos y sanos se esterilizaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 1% durante 60 s. Los trozos de hoja se lavaron con agua destilada estéril y el exceso de líquido se eliminó con papel de filtro estéril. Los trozos de hojas se colocaron en placas de PDA y se incubaron a 27 °C durante 9 días en oscuridad. Los tapones de micelio del borde de las hifas fúngicas que se desarrollaron a partir de los tejidos se transfirieron asépticamente a PDA fresco y se incubaron a 27 °C durante 9 días en oscuridad (Gerardo- Lugo 2020).

Para realizar las purificaciones monoconidiales se utilizó el método descrito por Battistini et al. (2022). Se prepararon suspensiones de conidios a partir de las cajas Petri con hongos fitopatógenos y se diluyeron a una concentración de 10^6 conidios/mL. Las suspensiones se extendieron sobre cajas de PDA y los conidios individuales se transfirieron con una aguja de disección esterilizada a cajas Petri con PDA nuevas. Cada colonia cultivada a partir de conidios individuales se consideró un aislado monoconidial. Los cultivos purificados se almacenaron en tubos con PDA cubiertos con aceite mineral estéril y papel filtro almacenándose a 4°C (Gerardo- Lugo 2020).

5.2.3. Caracterización morfológica y tasa de crecimiento micelial.

Para la identificación de las características macroscópicas y microscópicas de los 50 aislamientos representativos de los géneros *Monilinia*, *Fusarium* y *Collectotrichum* de sitios de recolección de durazno en Chihuahua, se determinó la tasa de crecimiento micelial de cada aislado, se tomaron discos con micelio de 6 mm de diámetro de cultivos de 10 días y se colocaron en PDA. Las cajas se incubaron a 27 °C en oscuridad realizándose ocho réplicas de cada aislado y se examinaron diariamente durante 9 días. La tasa de crecimiento (TC) se calculó con la función de crecimiento lineal. $U_{max} = \text{mm}/t$ (días) donde u_{max} es la velocidad de crecimiento, t es el tiempo y mm es el crecimiento (Iñiguez-Moreno et al., 2023) y se expresó en mm desde el día 1. Después de 9 días de crecimiento se realizó la identificación de las características de crecimiento de las colonias, incluido el color de la colonia frontal y reverso y presencia de micelio aéreo. El experimento se realizó por duplicado.

Para los caracteres macromorfológicos de los conidios, clamidosporas, fiálides, macroconidios, microconidios, mesoconidios, largo y ancho de micelio, así como presencia o ausencia de septos en cada uno de los géneros analizados, se prepararon diversos medios de cultivo para la observación de las estructuras de resistencia del género *Fusarium* se utilizó agar hojas clavel (CLA), durante 4 días de incubación, *Collectotrichum* y *Monilinia* se usó agar dextrosa papa (PDA) con 7 días y 12 días de crecimiento en caja Petri, todo el material fúngico se mantuvo a una temperatura de ± 27 °C con 14 horas luz y 10 horas oscuridad. Para la observación en microscopio se prepararon montajes con glicerina, azul de algodón, safranina y aceite de inmersión (Agu

& Chidozie, 2021), mismos que fueron fotografiados por un microscopio compuesto (Imager M2) (n = 50) se visualizaron con el software ZEN.

5.2.4. Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación.

El ADN genómico total se extrajo de micelio de hongos frescos, raspados del margen de cada una colonia, cultivado en cajas Petri con PDA, incubado a ± 27 °C, con el reactivo DNAzol (Invitrogen), siguiendo las instrucciones del fabricante (Ríos *et al.* 2021). Para la identificación molecular se amplificó el espaciador transcrita interno (ITS) y el gen parcial de factor de elongación 1 alfa (TEF), mediante PCR utilizando los cebadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') / ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') para todos los géneros (White, 1990) y se utilizó un segundo cebador secundario por cada uno de los géneros, es decir para, *Collectotrichum* ACT-512F (5'- ATGTGCAAGGCCGGTTTCGC-3') y ACT-583R (5'-TACGAGTCCTTCTGGCCCAT-3') (Huang *et al.*, 2013), *Fusarium* con EF1 (5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3') (Karlsson *et al.*, 2016) respectivamente, para el caso de *Monilinia* se consideró utilizar el ITS1 e ITS4 ya que en ambos experimentos se tuvo 100% de identidad con el género y especie. La reacción de PCR se realizó en un volumen final de 25 μ L, los cuales contenían 1 μ L de ADN genómico, Buffer 1X, 1.25 mM de MgCl₂, 0.2 mM de cada iniciador, 0.2 mM de dNTP's y 1U de Taq polimerasa (Invitrogen). Las condiciones de amplificación fueron las siguientes; desnaturalización inicial fue a 95 °C durante 5 min, con 35 ciclos de desnaturalización por 95 °C y 1 min, el anillamiento por 55 °C por un lapso de 1 min (ITS) / 59 °C a 1.5 min, extensión a 72 °C por 40 seg (ITS) / 1.5 min (TEF), con una extensión final de 72 °C durante 5 min. La visualización de los fragmentos amplificados fue en gel de agarosa al 1%, fue teñido con bromuro de etidio, en un fotodocumentador (BIO-RAD). Una vez obtenidos los productos amplificados se secuenciaron utilizando MacroGen (Corea) los cuales se anclan en los ADNr.

5.2.5. Análisis filogenéticos.

Para editar las secuencias se utilizó el software BioEdit versión 7.0.5.3 (Hall 1999), se compararon con la base de datos GenBank, empleando el algoritmo BLASTn. Las cadenas de cada gen/región fueron alineadas a un set de cadenas de referencia de los

géneros *Monilinia*, *Collectotrichum* y *Fusarium* y la cadena de *Protocrea farinosa* CBS 121551 en ITS1 e ITS4 y para los marcadores secundarios se utilizó *Anabaena variabilis* AB0 16520.1 para con el alineador MUSCLE (Edgar 2004) e implementado con MEGA11 (Zhan *et al.* 2018). Los alineamientos concatenaron en MEGA y la matriz resultante se analizó en PartitionFinder versión 1.1.1 (Lanfear *et al.* 2012) para determinar el mejor esquema de particiones. Con respecto al árbol filogenético se llevó a cabo por el método de Máxima Verosimilitud en RAXML versión 7.2.8 (Stamatakis. 2006; Voglmayr *et al.* 2016), empleando el modelo GTRGAMMAI y 1000 réplicas Bootstrap. Se utilizó el software FigTree versión 1.4.0 para editar el filograma.

5.2.6. Confrontación en planta.

Se realizó una prueba de confrontación en planta de los 4 aislamientos seleccionados con base a un análisis filogenético inicial de, *Fusarium* spp. (dos aislados), *Collectotrichum* sp. (un aislado) y *Monilinia* sp. (un aislado) contra la cepa 3 de *Trichoderma asperelloides* previamente identificada (3=SP-M-M5-R-T), las inoculaciones de los fitopatógenos se realizaron mediante la suspensión de esporas de 1×10^6 conidios. mL^{-1} dando ventaja de 3 días de crecimiento de los patógenos para posteriormente inocular el antagonista, mediante la técnica de aspersion de acuerdo con Udhayakumar *et al.* (2019), usando atomizadores diferentes para cada aislado sobre plantas de durazno variedad prisco inoculando de 3-4 hojas desarrolladas durante un año de crecimiento. Las plantas inoculadas permanecieron en condiciones de cámaras húmedas en invernadero durante el transcurso de la prueba de confrontación ($27 \pm 2^\circ\text{C}$) con HR 85 %, haciendo observaciones cada 24 horas después de la inoculación (ddi) durante 60 días (Moreno *et al.*, 2018). Cada combinación (fitopatógeno-*Trichoderma*) contó con cuatro repeticiones más un testigo por tratamiento, sembradas en bolsas de polietileno de kg.

5.2.7. Valoración de las variables de respuesta.

Los factores estudiados fueron diámetro de hoja (cm), longitud de hoja (cm) altura (cm) medidos con un vernier digital (marca: LEIDSANY serie: B09XQ987RZ), la

severidad se clasificó mediante la escala propuesta por Arafat et al., (2021), en cuatro grados (Cuadro 13) con variabilidad de porcentajes.

Cuadro 13. Escala de severidad en planta de durazno variedad prisco.

Grado	Número de lesiones	Porcentaje de afectación
1	1-3	Se produjeron manchas graduales entre el 1 y el 25 % de las hojas.
2	4-6	Se produjeron manchas graduales en el 26-50 % de las hojas.
3	7-9	Se produjeron manchas graduales en el 51-75 % de las hojas.
4	≥10	Se produjeron manchas graduales en el 76-100 % de las hojas.

La severidad se estimó por la fórmula:

$$DSI \text{ (o/o): } \text{severidad promedio: } \frac{\sum (v \times n)}{N.V} \times 100$$

donde:

v= Representa el valor numérico de la enfermedad escala de índice, n= es el número de plantas asignadas a la escala del índice de enfermedad, N= es el número total de las plantas y V= es el valor numérico de la escala de índice de enfermedad más alta.

El nivel de incidencia de cada tratamiento se calificó por el porcentaje de esporulación después de 7 días de evaluación de acuerdo a la escala propuesta por Özer et al. (2021) para la resistencia de la hoja con la misma cantidad de inóculo (Cuadro 14).

Cuadro 14. Porcentaje de incidencia en hoja.

%	Descripción
0	Extremadamente resistente
0.1-5.0	Altamente resistente
5.1-25	Resistente

25.1-50	Sensible
50.1-75.0	Muy sensible
75≥	Extremadamente sensible

5.2.8. Análisis estadístico

Para determinar la severidad e incidencia en plantas de un año de edad se utilizó un diseño completamente al azar de 4 aislados x 4 repeticiones (más los controles), los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y para la comparación de medias se determinó de acuerdo a la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$), empleando el programa estadístico SAS versión 9.4. (Statistical Analysis System, (SAS Institute Inc), 2022).

5.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.3.1. Aislamientos de hongos.

El aislamiento de frutos y hojas de durazno sintomáticas resultó en numerosos hongos, siendo los aislados similares a *Fusarium*, *Monilinia* y *Collectotrichum* los más comunes, basado en la caracterización fenotípica inicial, siguiendo los rasgos morfológicos descritos por Yikilmazsoy & Tosun, et al., (2021), Baltazar et al., (2023) y Silva- Neto et al., (2023). Los síntomas observados por *Fusarium* fueron marchitamiento y amarillamiento sobre las hojas y en el fruto se observó puntos de color café a oscuro, así como descomposición completa (Figura 40a), coincidiendo con lo reportado por Dong et al. (2023) al realizar pruebas de patogenicidad en rama y varetas de durazno, al presentar lesiones ovaladas de color marrón en la herida de las ramas del durazno con micelio denso en la superficie de las lesiones. También se pudieron identificar síntomas preliminares de *Monilinia* con momificación de frutos sobre la superficie del suelo como en la parte aérea de la planta y en algunos casos pudrición café sobre los mismos, así como atizonamiento (necrosis) de las hojas con presencia de micelio blanquecino sobre el haz (Figura 40c) mismos a los que hacen referencia los investigadores Iqbal et al. (2022) quienes mencionan los síntomas principales causados por este género suelen ser canchales en las ramas, pudrición en los frutos y tizón en las flores. De igual manera se pudo observar magulladuras circulares hundidas de color negro sobre el fruto y pequeñas lesiones color café sobre las hojas con un halo color amarillento lográndose identificar el género de *Collectotrichum* (Figura 40b), sin embargo, se han observado anillos concéntricos y pequeños acérvulos anaranjados los cuales producen conidios que se propagan principalmente por la lluvia y las salpicaduras (Tan et al., 2022).

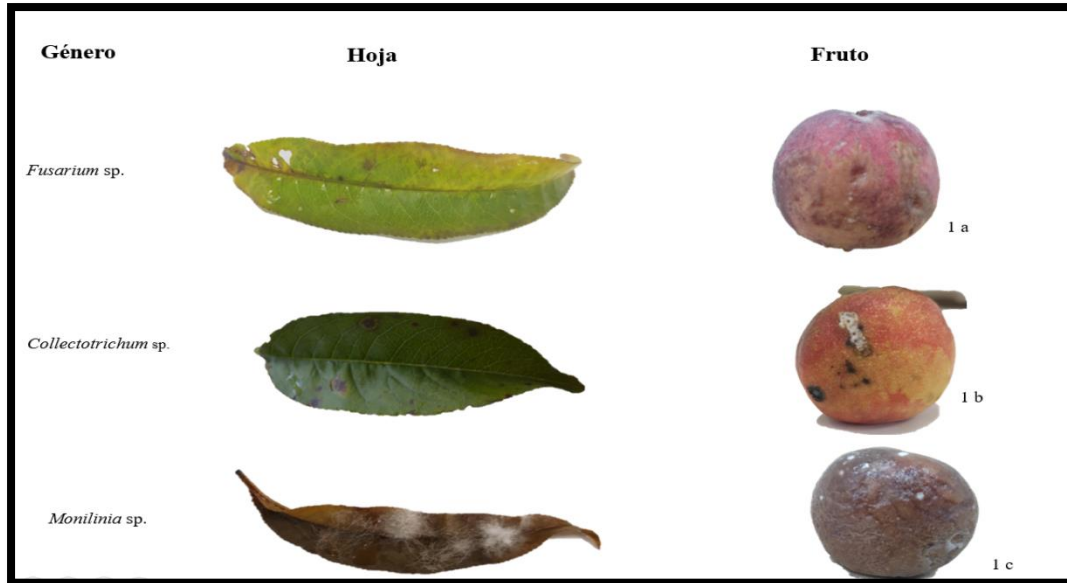


Figura 40. Síntomas en fruto y hoja de durazno asociados a hongos fitopatógenos foliares observados en campo.

5.3.2. Características Morfológicas y Culturales.

Las características culturales de las colonias en agar medio papa dextrosa (PDA) mostró variación entre diferentes aislados. Se lograron obtener cuatro aislados con características morfológicas y culturales típicas de los géneros *Fusarium sambucinum* (B-F-M1-A2-ACCH-3 y B-F-M1-A3-AACH-5,), *Collectotrichum gloesporoides* (LJ-M2-H-ACCH-7) y *Monilinia frutícola* (Y-M1-F-ACCH-8).

Al principio, las cepas de *F. sambucinum* se mostraron de color blancas con micelio aplanado, después de nueve días de incubación el micelio alcanzó el borde del agar cubriendo completamente la caja Petri, apareciendo de marrón a rojizo, formando manchas sólidas con diferentes tonalidades, especialmente en el centro en un punto de crecimiento o en zonas concéntricas se formó el micelio de color blanquecino aéreo sobre la superficie del medio empleado, diferenciado de las cepas obtenidas por Yikilmazsoy & Tosun (2021) quienes obtuvieron cepas de *F. sambucinum* aisladas de tubérculo de *Solanum tuberosum* con características específicas de coloración rosa blanco con abundante micelio algodonoso sobre la caja Petri, con formación de macroconidios, microconidios tipos de fiálides y presencia de clamidosporas. Las cepas aisladas en el sur de Chihuahua mostraron un crecimiento promedio de 13.42 mm/día⁻¹ en la cepa B-F-M1-

A2-ACCH-3 y $16.75 \text{ mm/día}^{-1}$ en la cepa B-F-M1-A3-AACH-5. Este género formó micelio septado de 6.38 de ancho y $17.99 \mu\text{m}$ de largo y estructuras conidiales en forma de plátano de diferente crecimiento de macroconidios y microconidios de 1 a 3 septos y 2.32 de ancho y $4.64 \mu\text{m}$ de largo, mesoconidios, con de 4 a 6 septos con 2.0 de ancho y $5.32 \mu\text{m}$ de largo distribuidos en cadena y de forma libre en ambas ambos aislados, con fiálides en forma alargada de 5.60 de ancho y $12.97 \mu\text{m}$ de largo, con formación de conidióforos y esporodoquios ramificados de $29.42 \mu\text{m}$ de largo así como el crecimiento de clamidosporas filamentosas en cadena de forma circular a ovoide de $32.64 \mu\text{m}$ de diámetro (Figura 41). Es importante mencionar que esta especie de hongo se puede crecer en medio de cultivo de diferente coloración de blanco a rosa, de blanco a crema y de blanco a rojo con crecimiento con formación de esporodoquios de color naranja, con crecimiento de 2 cm por día y formación de conidios de $24.8\text{-}35.3 \mu\text{m}$ de largo y $3.67\text{-}4.46 \mu\text{m}$ de ancho con septos de tres a cinco por conidio, sin presencia de microconidios ni formación de clamidosporas (Almaraz-Sánchez et al., 2018) .

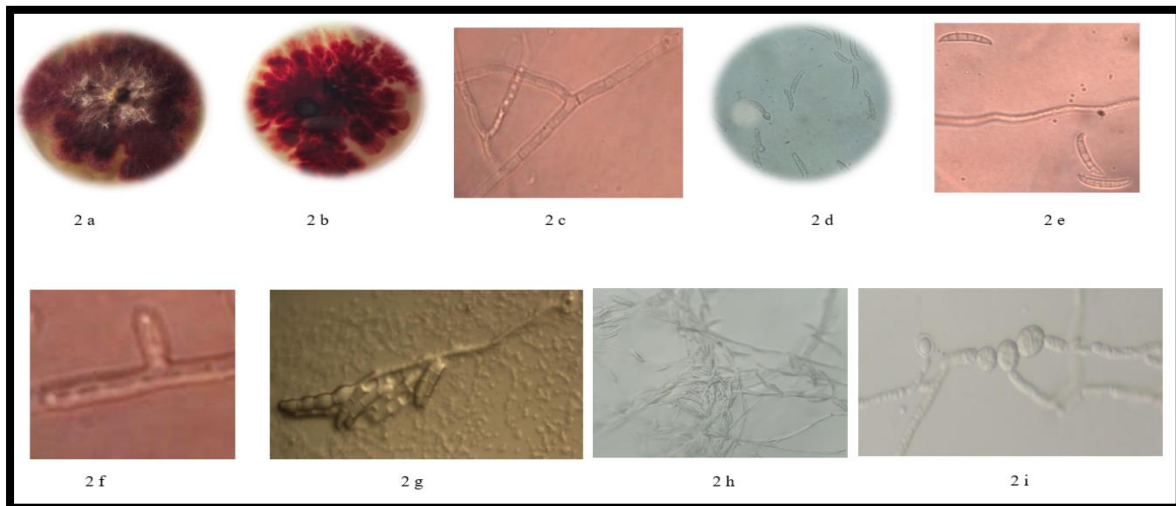


Figura 41. Morfología de *F. sambuninum* a-b) colonia de frente y reverso, c) micelio septado, d) Macro y microconidios, e) Mesoconidios, f) fiálides, g) conidióforos en cadena, h) Conidióforos ramificados y esporodoquios, i) clamidosporas y filamentos.

El aislado de *C. gloesporoides*, desarrolló una formación de micelio blanco-gris claro, ligeramente algodonoso, con abundantes masas de conidios naranja brillante en círculos concéntricos, algunos de ellos produjeron un micelio blanco con pocas masas conidiales cubriendo la caja Petri en 7 días de incubación, mostrando un crecimiento

promedio de $18.33 \text{ mm/día}^{-1}$, de igual manera Da Silva Neto et al. (2018) reportaron diversidad de coloración en aislados de *C. gloesporoides* aislados de *Magnifera indica* los cuales produjeron colonias ligeramente grisáceas sin masa conidial visible, otros desarrollaron masa micelial gris con masa conidial oscura en el centro y las regiones oscuras laterales, así como un color ligeramente salmón con masa conidial anaranjada y oscura en el centro y el último grupo de aislados mostraron micelio ligeramente grisáceo con poca masa conidial anaranjada visible coincidiendo esta última descripción con los aislados obtenidos del cultivo de durazno en el sur de Chihuahua.

Se identificaron diversos morfotipos de estructuras de supervivencia de este hongo el cual desarrolló micelio liso con formación de células granuladas con dimensiones de 5.87 de ancho y $19.50 \mu\text{m}$ de largo, además de formar conidios hialinos en forma de lobulados y alargados de 6.29 de ancho y $15.26 \mu\text{m}$ de largo, además de formar peritecios esféricos y agrupados a los 28 días de crecimiento y crecimiento de conidiomas que dan lugar la formación de ascas con ascosporas en proceso de maduración desarrolladas en conjunto o libres con un diámetro de $16.18 \mu\text{m}$ (Figura 42), así mismo se han identificado conidios rectos con forma cilíndrica con extremos ampliamente redondeados de $(14,8 -) 16,7 - 17,3 (- 19,5) \times (4,3 -) \mu\text{m}$, con apresorios simples o en un grupo pequeño, subglobosos o elipsoides y rara vez irregulares de $(5,2 -) 6,7 - 7,6 (- 8,9) \times (2,7 -) \mu\text{m}$ (Wang et al., 2020).

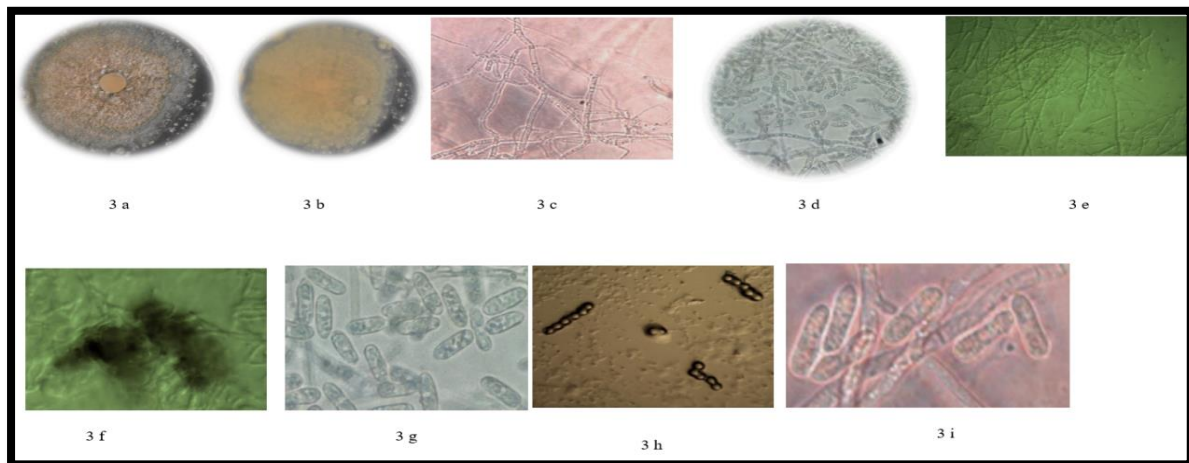


Figura 42. Morfología de *C. gloesporoides* a-b) colonia de frente y reverso, c) micelio liso granuloso, d) conidios, e) conidiomas, f) peritecios, g) ascas con ascosporas, h) ascosporas inmaduras durante la división, i) ascosporas maduras libres.

Por otro lado, la cepa de *M. frutícola* presentó un aspecto pulverulento con colores beige a café oscuro con márgenes ondulados y formación de anillos dispersos después de los 21 días de crecimiento formando estromas de color blanquecinos a naranjas con abundante micelio aéreo de color blanco- grisáceo desarrollando un crecimiento promedio de $16.00 \text{ mm/día}^{-1}$. Estos resultados coinciden con los reportados por Yin et al. (2021) al aislar *M. frutícola* del cultivo de *Eriobotrya japonica* y desarrollaron colonias de gris a marrón con abundante coloración. Además, las colonias aisladas en el sur de Chihuahua se observaron conidios son de forma ovalada o elipsoide globosa y medianos de $23.15 \mu\text{m}$ de diámetro, estructurados en cadena, con crecimiento de micelio liso hialino después de madurar a torna a color oscuro, también se encontró cadenas ramificadas agrupadas de color gris a oscuro y formación de apotecios pedicelados en forma de copa rellenas de ascosporas en proceso de maduración (Figura 43), estas características son específicas de este género (Yin et al., 2020 b)

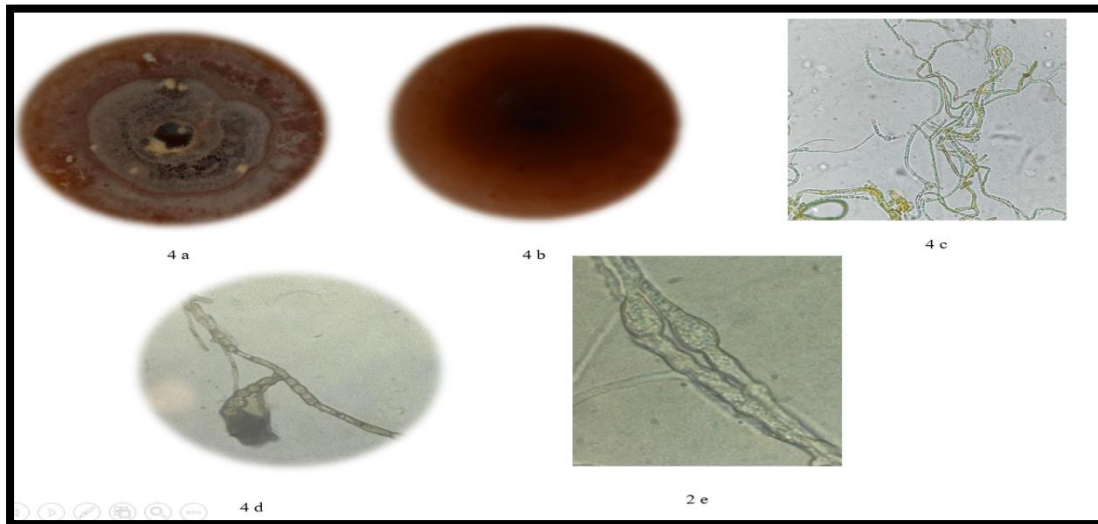


Figura 43. Morfología de *M. frutícola* a-b) colonia de frente y reverso, c) micelio liso hialino, d) conidios en cadena e) formación de apotecios relleno de ascosporas.

5.3.3. Filogenia.

Al comprar la secuencia de la región ITS, de la base de datos de GenBank, presento 99% de igualdad con las especies del género; *Monilinia fruticola* (LC312668, MK834756) (Baltazar et al., 2023), además las especies de *C. gloesporoides* mostraron 100% de similitud (JN887343, MK569271) (Grano-Maldonado et al., 2021), y *Fusarium*

sambucinum mostró 100 % con respecto a OP125543 y X65482 (Figura 44a). Al comparar las secuencias parciales del gen EF1, los resultados mostraron un 99% de similitud de todas las cepas con *Fusarium sambucinum* (KX632088.1:18-614 y KX632088.1:24-612) (Dong et al., 2023b) y para *C. gloeosporioides* mostró 99% (KT282614. 1:86-275) de similitud (Figura 44 b y 44 c). El análisis filogenético multigen confirmó que las cepas de *Monilinia*, *Fusarium* y *Collectotrichum* estudiadas, pertenecen a las especies de *M. fruticola*, *F. sambucinum* y *C. gloeosporioides* con Bootstrap de 84%.

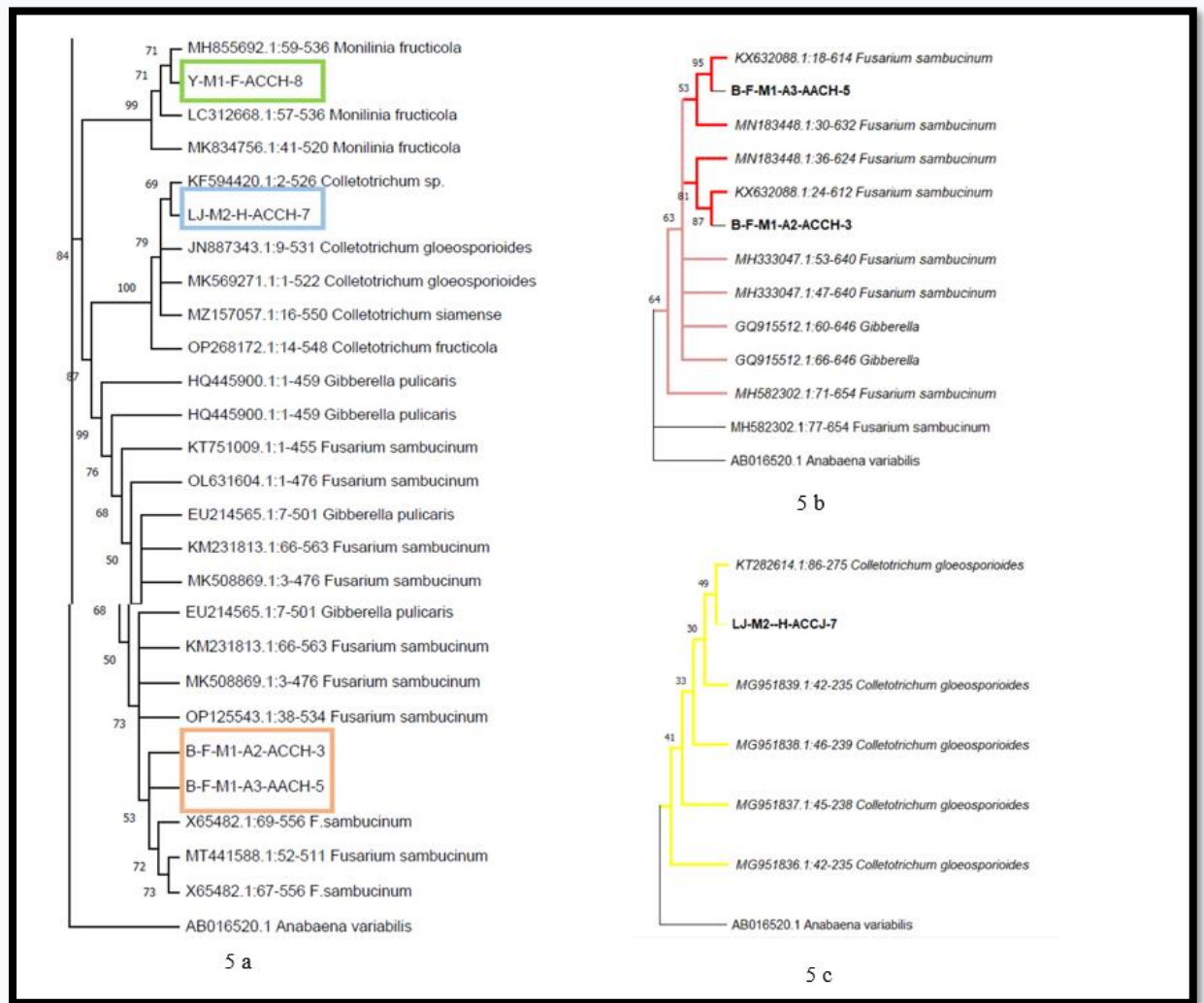


Figura 44. Árbol filogenético de los géneros *Monilinia*, *Fusarium* y *Collectotrichum*, a) inferido por Máxima Verosimilitud a partir del alineamiento concatenado de la zona ITS y b, c) la cadena parcial del gen característico del factor de elongación (TEF). La escala representa las sustituciones del promedio por sitio. Los datos bootstrap $\geq 84\%$ se

muestran arriba de las ramas, junto a los internodos. Las especies estudiadas en esta investigación se exponen en negritas y subrayadas.

5.3.4. Confrontación en plantas de un año de edad.

5.3.4.1. Diámetro de hoja.

Los análisis de varianza (ANOVA) indican el efecto del crecimiento de diámetro de hoja entre los tratamientos y las diferencias significativas con respecto al testigo, entre la inhibición de *T. asperelloides* versus *Fusarium sambucinum*, *Collectotrichum gloesporoides* y *Monilinia frutícola*, siendo altamente significativo ($P < 0.05$) con R^2 de 0.0770 para la cepa B-F-M1-A2-ACCH-3, correspondiente al género *F. Sambucinum* y la cepa LJ-M2-H-ACCH-7 de *C. gloesporoides*. En la Figura 45 se observa que todos los tratamientos tuvieron un efecto similar sobre el control de los patógenos, favoreciendo el crecimiento de la planta de *Prunus persica*.

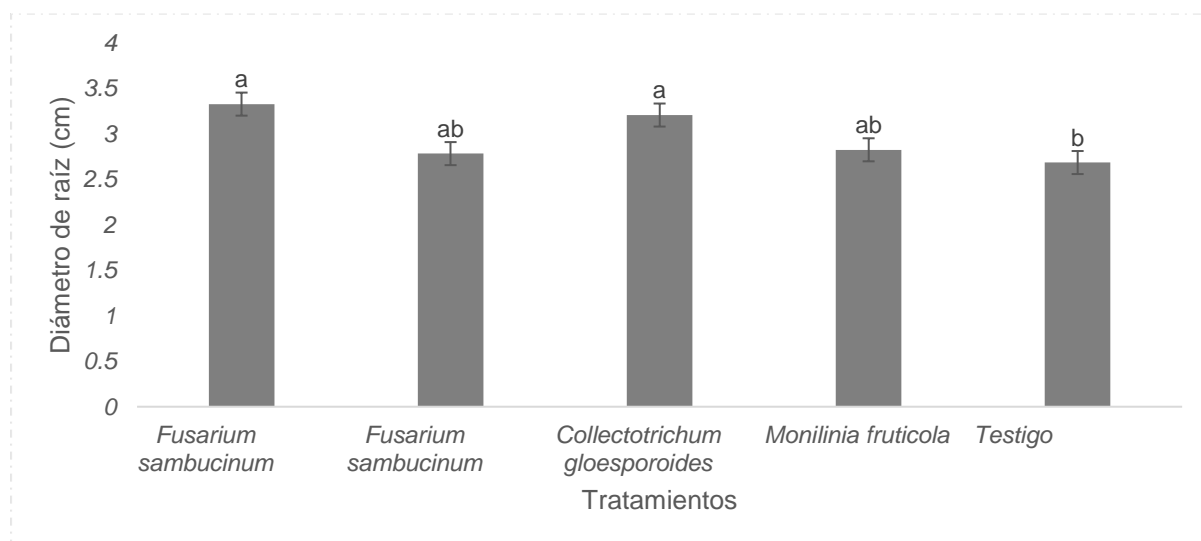


Figura 45. Diámetro de hoja por género evaluado vs *T. asperelloides* en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0,05$).

5.3.3.2. Longitud de hoja.

En la Figura 46, se muestran los resultados de la prueba de medias de Tukey de los datos correspondientes a la longitud de hoja obtenido en cada tratamiento del experimento, con un crecimiento promedio de 3.326 cm para la cepa de B-F-M1-A2-

ACCH-3, correspondiente al género *F. Sambucinum* y la cepa LJ-M2-H-ACCH-7 de *C. gloesporoides* con 3.206 cm, mostrando diferencia significativa con respecto al testigo con una R^2 de 0.988.

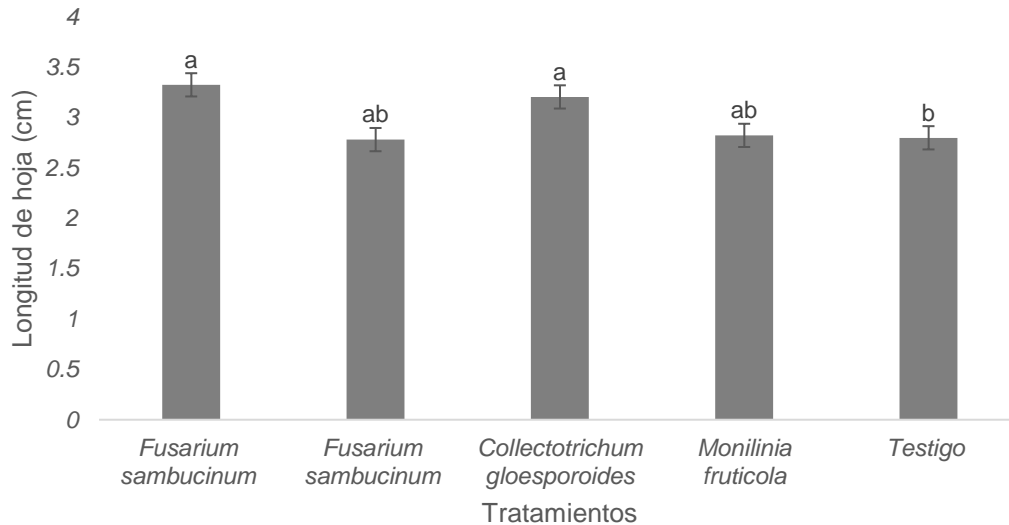


Figura 46. Longitud de hoja por género evaluado vs *T. asperelloides* en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0,05$).

5.3.3.3. Altura.

La evaluación realizada entre los diferentes tratamientos demostró la eficiencia de la cepa de *T. asperelloides* sobre las cepas de los patógenos confrontados, pudiéndose demostrar el efecto sobre las tres cepas de *F. sambucinum*, *C. gloesporoides* y *M. frutícola*, con excepción de la cepa B-F-M1-A3-AACH-5 de *F. sambucinum*, (Figura 47) la cual mantuvo una estrecha correlación de 81.674 cm con respecto al testigo arrojando diferencias significativas con una R^2 de 0.935.

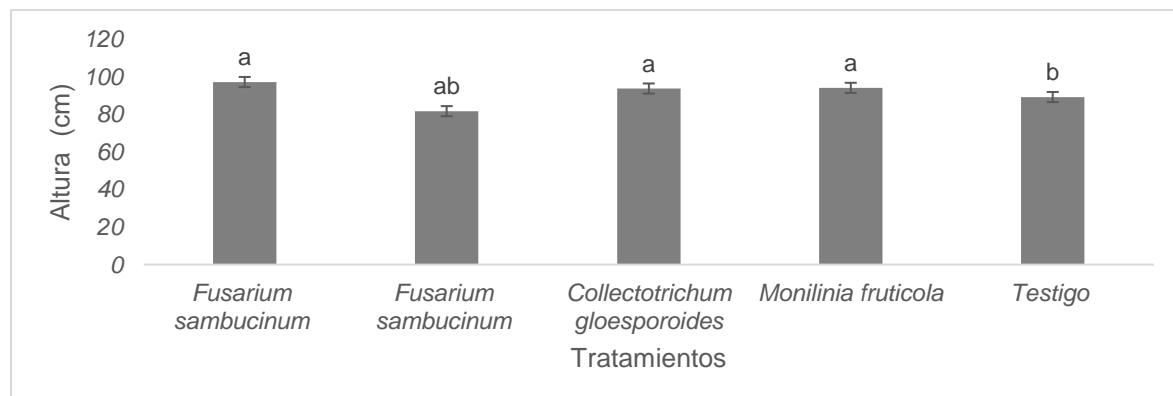


Figura 47. Altura por género evaluado vs *T. asperelloides* en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0,05$).

5.3.3.4. Severidad.

Las hojas inoculadas desarrollaron lesiones irregulares de color marrón con abundante clorosis y marchitamiento sobre la planta, 38 días después de la inoculación las lesiones se volvieron negras y se comenzó a observar destrucción foliar leve y necrosis sobre el mismo síntoma similares a los observados en hojas de durazno naturalmente infectadas. Por otro lado, las hojas del testigo se mantuvieron sin síntomas. La severidad promedio en hojas de durazno inoculadas artificialmente se observan en el cuadro 15. Los aislados mostraron diferencias significativas ($P 0.05$) con respecto al testigo.

Cuadro 15. Porcentaje de severidad en hoja.

Aislado	Género	Grado de escala	Número de lesiones	Severidad (%)
B-F-M1-A2-ACCH-3	<i>Fusarium sambucinum</i>	1	2	11.25 bc
B-F-M1-A3-AACH-5	<i>Fusarium sambucinum</i>	2	5	32.8 ab
LJ-M2-H-ACCH-7	<i>Collectotrichum gleosporoides</i>	1	3	22.7 b
Y-M1-F-ACCH-8	<i>Monilinia frutícola</i>	3	7	61.23 a
Testigo	Test	0	0	0 c

*Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0,05$).

Algunos investigadores han reportado el biocontrol de *T. asperelloides* vs *F. Oxysporum* en planta de *Solanum lycopersicum* de 47% de reducción de síntomas en sobre las ramas de la hortaliza (Ramírez- Cariño et al., 2020), además se han encontrado

la reducción de la invasión de *Rhizoctonia solani* en respuesta a *T. asperelloides* sobre el cultivo de tomate inhibiendo significativamente en dos bioensayo de 83.3% evaluando los efectos con escala de severidad e incidencia y evaluación microscópica sobre micoparasitismo (Heflish et al., 2021).

5.3.3.5. Incidencia.

En cuanto a la incidencia de los fitopatógenos (4 aislados), éstos presentaron micelio, lesiones y coloraciones tanto en tallo como en la hoja de la variedad prisco, desarrollando un 100 % en los bioensayos, por lo que son considerados extremadamente sensibles para el cultivo del duraznero de la zona sur de Chihuahua. Así mismo se han encontrado estudios sobre el efecto de *T. asperelloides* y *T. asperellum* sobre *C. gloesporoides* en plántulas de chile desarrolladas en laboratorio para atacar antracnosis manteniendo una incidencia de 62.07% (Boukaew et al., 2024).

5.4. CONCLUSIONES

Las cuatro cepas de los fitopatógenos aisladas de hoja y fruto de plantas de durazno (*Prunus persica*) en el sur de Chihuahua, fueron caracterizados morfológica y molecularmente, y se determinó que pertenecen a las especies de *Fusarium sambucinum*, *Collectotrichum gloesporoides* y *Monilinia frutícola*.

En cuanto al diámetro y longitud de hoja se presentó mayor crecimiento en la cepa B-F-M1-A2-ACCH-3 de *F. sambucinum* y en la cepa de LJ-M2-H-ACCH-7 correspondiente a *C. gloesporoides* mostrando diferencia significativa respecto al testigo, en cambio en la altura se destaca que *T. asperelloides* no promovió el desarrollo de la planta, con respecto a la cepa B-F-M1-A3-AACH-5 de *F. Sambucinum*, ya que se mostró similar o menor crecimiento al testigo sin inoculación. Todos los aislados mostraron incidencia en todas las unidades experimentales evaluadas en condiciones de invernadero, además de presentar de dos hasta siete lesiones ubicándose en la escala de severidad 1-3, considerando a *Monilinia frutícola* como uno de los hongos con mayor afectación al cultivo del duraznero.

De acuerdo a las variables de respuesta evaluadas se considera la cepa 3 de *T. asperelloides* presenta un alto potencial para el control *in vivo* frente a los fitopatógenos foliares en plantas de durazno de un año de edad.

CAPÍTULO 6. *Epicoccum* spp. y *Alternaria* spp. AGENTES FITOPATÓGENOS DEL CULTIVO DEL DURAZNERO (*Prunus persica* L) ASOCIADOS AL CONTROL BIOLÓGICO⁵.

RESUMEN

Prunus persica es el frutal de hueso más importante en el mundo por su valor nutricional y beneficios a la salud, no obstante, la presencia de hongos fitopatógenos foliares ocasiona severos daños en hojas y frutos generando una disminución de 60 a 90%. El objetivo de este trabajo fue identificar morfológica y molecularmente los hongos fitopatógenos foliares asociados al cultivo del duraznero evaluando la patogenicidad en plantas de un año de edad contra *Trichoderma asperelloides*. Se recolectaron hojas con lesiones color marrón y negras y frutos momificados de 13 huertos comerciales distribuidos en tres municipios de producción en el Estado de Chihuahua México. La identificación de hongos de cuatro aislamientos representativos se realizó utilizando métodos morfológicos, caracterización y análisis filogenético basado en la región espaciadora transcrita interna (ITS1 e ITS4) de ADN ribosomal, parte del factor de elongación de traducción 1-alfa (TEF) un segundo cebador secundario por cada uno de los géneros, *Epicoccum* EF1-728F y B- tubulina, *Alternaria* con GPD y RPB2-5F2-RPB2-7cR Para las confrontaciones en planta se inoculó una concentración de 1×10^6 conidios. mL⁻¹ de patógenos como de *T. asperelloides*, evaluando el diámetro y longitud de hoja, altura, severidad e incidencia. Se logró identificar la presencia de *Epicoccum italicum* y *Poa* y *Alternaria* sp. y *alternata*, además la cepa N-M1-A3-F-ACCH-9 de *E. italicum* obtuvo los valores más altos en la inhibición de las variables de respuesta y en severidad *Epicoccum poae* presentó 81.3% como el valor más alto. Se recomienda probar la cepa 3 para otros géneros de hongos.

Palabras clave: Antagonista, géneros, identificación, variables de respuesta.

⁵Este capítulo se encuentra en proceso de revisión por parte del comité de tesis para enviar a la Revista Journal of Agriculture of the University of Puerto Rico. Febrero-Julio 2024.

ABSTRACT

Prunus persica is the most important stone fruit tree in the world for its nutritional value and health benefits; however, the presence of foliar phytopathogenic fungi causes severe damage to leaves and fruits, generating a decrease of 60 to 90%. The objective of this work was to identify morphologically and molecularly the foliar phytopathogenic fungi associated with the peach tree crop, evaluating the pathogenicity in one-year-old plants against *Trichoderma asperelloides*. Leaves with brown and black lesions and mummified fruits were collected from 13 commercial orchards distributed in three production municipalities in the State of Chihuahua, Mexico. Fungal identification of four representative isolates was performed using morphological methods, characterization and phylogenetic analysis based on the internal transcribed spacer region (ITS1 and ITS4) of ribosomal DNA, part of translation elongation factor 1-alpha (TEF) and a second primer. secondary for each of the genera, *Epicoccum* EF1-728F and B-tubulin, *Alternaria* with GPD and RPB2-5F2-RPB2-7cR. For plant confrontations, a concentration of 1×10^6 conidia was inoculated. mL⁻¹ of pathogens such as *T. asperelloides*, evaluating leaf diameter and length, height, severity and incidence. It was possible to identify the presence of *Epicoccum italicum* and *Poa* and *Alternaria* sp. and *alternata*, in addition the N-M1-A3-F-ACCH-9 strain of *E. italicum* obtained the highest values in the inhibition of the response variables and in severity *Epicoccum poae* presented 81.3% as the highest value. It is recommended to try strain 3 for other fungal genera.

Key words: Antagonist, genders, identification, response variables.

6.1. INTRODUCCIÓN

Prunus persica (L.) Batsch (o melocotón) (Rosaceae) es el cultivo de frutas de hueso más importante en muchas zonas, incluidas el norte de África, Sudáfrica y Europa. Los melocotones son bien conocidos por su sabor, valor nutricional y posibles beneficios para la salud. Durante el consumo del fruto del durazno, generalmente mermeladas, jaleas, jugos y otros productos alimenticios, la semilla y el hueso (hueso) se eliminan como desperdicio (Kumari et al., 2023). En los últimos años este frutal ha disminuido su producción por lo que se le atribuye a que susceptible a diversos hongos patógenos que pueden infectar diferentes partes de la planta, como las flores, el follaje, los frutos, las ramas, los troncos y las raíces, entre estos patógenos, *Taphrina deformans* es la causa principal de la enfermedad del enrollamiento de las hojas en los melocotoneros y afecta del 60 al 90 % de los brotes en Italia, lo que representa una amenaza significativa para los durazneros (Akbar, 2023). Por mencionar algunos se encuentra la sarna del melocotón, causada por *Venturia carpophila*, ocupa el segundo lugar después de la pudrición parda causada por *Monilinia fruticola* como una de las principales enfermedades del melocotón en el sudeste (Schnabel & Brannen, 2022).

Los principales síntomas causados por *Alternaria* spp. provocan el deterioro de las frutas en postcosecha produciendo metabolitos secundarios tóxicos para la salud humana (Meng et al., 2021) las especies de *Alternaria* causan pérdidas significativas tanto en las etapas previas como posteriores a la cosecha (Ahmad et al., 2024), provocando podredumbre negra, con lesiones de $3,03 \pm 0,52$ cm sobre el fruto y hoja (Prencipe, et al., 2023). Recientemente se ha demostrado que aislados de *Epicoccum* spp. son patógenos de cultivos de importancia económica asociados con enfermedades de 46 especies de plantas distribuidas en 20 países, estos patógenos podrían infectar semillas, tallos, hojas y/o frutos, siendo la mancha foliar el síntoma de enfermedad más reportado, destacando los hospedantes más susceptibles *Lotus corniculatus*, *Lens culinaris*, *Z. mays*, *Ilex*, arroz *Cucumis melo* y *pitahaya* (Taguiam et al., 2021; Xu et al., 2022). Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue identificar morfológica y molecularmente los hongos fitopatógenos foliares asociados al cultivo del duraznero evaluando la patogenicidad en plantas de un año de edad contra *Trichoderma asperelloides*.

6.2. MATERIALES Y MÉTODOS

6.2.1. Recolección de muestras.

Se recolectaron hojas y frutos del cultivo del duraznero con síntomas típicos de hongos fitopatógenos en nueve huertos de consumo local, regional e internacional de durazno distribuidos en los municipios de Guachochi, Morelos y Balleza, ubicados en el sur de Chihuahua, México. Se tomaron las lecturas del GPS (Cuadro 16) y las colecciones se llevaron al laboratorio en bolsas de plástico Ziplock.

Cuadro 16. Ubicación de sitios de recolección frutos y hojas sintomáticas en diferentes municipios del estado de Chihuahua, México

Variedad	Identificación de los aislados	Localidad, municipio	Localización geográfica
Amarillo	RS-M3-A1-H-ACCH-1	Rancho Seco, Guachochi	26° 47' 21,7" N, 107° 04' 17.4" W, 2800 msnm
Prisco	SP-M2-A2-F-ACCH-4	San Pablo, Morelos	26° 32' 54.3" N, 107° 47' 38,8" W, 2094 msnm
Blanco	AA-M4-A1-ACCH-6	Agostadero, Balleza	26° 57' 11.5" N, 106° 40' 22,4" W, 2317 msnm
Amarillo	N-M1-A3-F-ACCH-9	Nogalitos, Guachochi	26° 43' 59.3" N, 107° 04' 14,3" W, 2830 msnm

Identificación de aislados: RS: Rancho seco, SP: San Pablo, AA: Agostadero Arroyo, N: Nogalitos, M2, M3, M4: Número de muestra, A1, A2, A3=Número de aislado, F: Fruto, H=Hoja, ACCH: Ángel Ceballos Chávez, 1,4,6,9: Número de aislado identificado molecularmente.

6.2.2. Aislamiento y purificación.

Las hojas sintomáticas se lavaron con jabón neutro y se esterilizó la superficie con alcohol al 96% durante 30 s. Los trozos de hojas (5 mm²) de los márgenes entre los tejidos necróticos y sanos se esterizaron superficialmente con hipoclorito de sodio al 1% durante 60 s. Los trozos de hoja se lavaron con agua destilada estéril y el exceso de

líquido se eliminó con papel de filtro estéril. Se colocaron en placas de PDA y se incubaron a 27 °C durante 9 días en oscuridad. Los tapones de micelio del borde de las hifas fúngicas que se desarrollaron a partir de los tejidos se transfirieron asépticamente a PDA fresco y se incubaron a 27 °C durante 9 días en oscuridad (Gerardo- Lugo, 2020).

6.2.3. Caracterización morfológica y tasa de crecimiento micelial.

Para la identificación de las características macroscópicas y microscópicas de los 5 aislamientos representativos de los géneros *Alternaria*, y *Epicoccum* de sitios de recolección de durazno en Chihuahua, se determinó la tasa de crecimiento micelial de cada aislado, se tomaron discos con micelio de 6 mm de diámetro de cultivos de 10 días y se colocaron en PDA. Las cajas se incubaron a 27 °C en oscuridad realizándose ocho réplicas de cada aislado y se examinaron diariamente durante 9 días. El experimento se realizó por duplicado.

Para los caracteres macromorfológicos de los conidios, clamidosporas, fiálides, macroconidios, microconidios, mesoconidios, largo y ancho de micelio, así como presencia o ausencia de septos en cada uno de los géneros analizados, se prepararon diversos medios de cultivo para la observación de las estructuras de resistencia de *Alternaria* se utilizó jugo de vegetales (V8) después 28 días y *Epicoccum* la observación de la esporulación de los conidios se observó después de los 7 días en agua agar (AA), todo el material fúngico se mantuvo a una temperatura de ± 27 °C con 14 horas luz y 10 horas obscuridad. Para la observación en microscopio se prepararon montajes con glicerina, azul de algodón, safranina y aceite de inmersión (Agu & Chidozie, 2021), mismos que fueron fotografiados por un microscopio compuesto (Imager M2) (n = 5) se visualizaron con el software ZEN.

6.2.4. Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación.

El ADN genómico total se extrajo de micelio de hongos frescos, raspados del margen de cada una colonia, cultivado en cajas Petri con PDA, incubado a ± 27 °C, con el reactivo DNAzol (Invitrogen), siguiendo las instrucciones del fabricante (Ríos et al. 2021). Para la identificación molecular se amplificó el espaciador transcritpo interno (ITS) y el gen parcial de factor de elongación 1 alfa (TEF), mediante PCR utilizando los cebadores ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') / ITS4 (5'-

TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') para todos los géneros (White, 1990) y se utilizó un segundo cebador secundario por cada uno de los géneros, es decir para *Epicoccum* se usó EF1-728F (5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3') (Carbone & Kohn 1999; Papp-Rupar et al., 2023) / B- tubulina (5' GGTAACCAAATCGGTGCTGCTTTC3'), (Fávaro et al., 2011), *Alternaria* con GPD1(5'- CAACGGCTTCGGTCGCATTG-3') (Berbee et al., 1999) y RPB2-5F2 (5'- GGGGWGAYCAGAAGAAGGC-3') y RPB2-7cR (5'- CCCATRGCTTGYTTRCCCAT-3') (Al-Nadabi et al., 2018) respectivamente. La reacción de PCR se realizó en un volumen final de 25 uL, los cuales contenían 1 µL de ADN genómico, Buffer 1X, 1.25 mM de MgCl₂, 0.2 mM de cada iniciador, 0.2 mM de dNTP's y 1U de Taq polimerasa (Invitrogen). Las condiciones de amplificación fueron las siguientes; desnaturalización inicial fue a 95 °C durante 5 min, con 35 ciclos de desnaturalización por 95 °C y 1 min, el anillamiento por 55 °C por un lapso de 1 min (ITS) / 59 °C a 1.5 min, extensión a 72 °C por 40 seg (ITS) / 1.5 min (TEF), con una extensión final de 72 °C durante 5 min. La visualización de los fragmentos amplificados fue en gel de agarosa al 1%, fue teñido con bromuro de etidio, en un fotodocumentador (BIO-RAD). Una vez obtenidos los productos amplificados se secuenciaron utilizando MacroGen (Corea) los cuales se anclan en los ADNr.

6.2.5. Análisis filogenéticos.

Para editar las secuencias se utilizó el software BioEdit versión 7.0.5.3 (Hall, 1999), se compararon con la base de datos GenBank, empleando el algoritmo BLASTn. Las cadenas de cada gen/región fueron alineadas a un set de cadenas de referencia de los géneros *Alternaria*, y *Epicoccum* y la cadena de *Protocrea farinosa* CBS 121551 en ITS1 e ITS4 y para los marcadores secundarios se utilizó *Anabaena variabilis* AB0 16520.1 para con el alineador MUSCLE (Edgar, 2004) e implementado con MEGA11. Los alineamientos concatenaron en MEGA y la matriz resultante se analizó en PartitionFinder versión 1.1.1, para determinar el mejor esquema de particiones. Con respecto al árbol filogenético se llevó a cabo por el método de Máxima Verosimilitud en RAXML versión 7.2.8 (Voglmayr et al., 2016), empleando el modelo GTRGAMMAI y 1000 réplicas Bootstrap. Se utilizó el software FigTree versión 1.4.0 para editar el filograma.

6.2.6. Confrontación en planta.

Se realizó una prueba de confrontación en planta de los 4 aislamientos seleccionados con base a un análisis filogenético inicial de *Epicoccum* spp. (dos aislados) y *Alternaria* sp. (dos aislados) contra la cepa 3 de *Trichoderma asperelloides* previamente identificada (3=SP-M-M5-R-T), las inoculaciones de los fitopatógenos se realizaron mediante la suspensión de esporas de 1×10^6 conidios. mL⁻¹ dando ventaja de 3 días de crecimiento de los patógenos para posteriormente inocular el antagonista, mediante la técnica de aspersión de acuerdo con Udhayakumar et al. (2019), usando atomizadores diferentes para cada aislado sobre plantas de durazno variedad prisco inoculando de 3-4 hojas desarrolladas durante un año de crecimiento. Las plantas inoculadas permanecieron en condiciones de cámaras húmedas en invernadero durante el transcurso de la prueba de confrontación (27 ± 2 °C) con HR 85 %, haciendo observaciones cada 24 horas después de la inoculación (ddi) durante 60 días (Moreno et al., 2018). Cada combinación (fitopatógeno-*Trichoderma*) contó con cuatro repeticiones más un testigo por tratamiento, sembradas en bolsas de polietileno de kg.

6.2.7. Valoración de las variables de respuesta.

Los factores estudiados fueron diámetro de hoja (cm), longitud de hoja (cm) altura (cm) medidos con un vernier digital (marca: LEIDSANY serie: B09XQ987RZ), la severidad se clasificó mediante la escala propuesta por Arafat et al., (2021), en cuatro grados (Cuadro 17) con variabilidad de porcentajes.

Cuadro 17. Escala de severidad en planta de durazno variedad prisco.

Grado	Numero de lesiones	Porcentaje de afectación
1	1-3	Se produjeron manchas graduales entre el 1 y el 25 % de las hojas.
2	4-6	Se produjeron manchas graduales en el 26-50 % de las hojas.
3	7-9	Se produjeron manchas graduales en el 51-75 % de las hojas.

4	≥10	Se produjeron manchas graduales en el 76-100 % de las hojas.
---	-----	--

La severidad se estimó por la fórmula:

$$\text{DSI (o/o): severidad promedio: } \frac{\sum (v \times n)}{N.V} \times 100$$

donde:

v= Representa el valor numérico de la enfermedad escala de índice, n= es el número de plantas asignadas a la escala del índice de enfermedad, N= es el número total de las plantas y V= es el valor numérico de la escala de índice de enfermedad más alta.

El nivel de incidencia de cada tratamiento se calificó por el porcentaje de esporulación después de 7 días de evaluación de acuerdo a la escala propuesta por Özer et al. (2021) para la resistencia de la hoja con la misma cantidad de inóculo (Cuadro 18).

Cuadro 18. Porcentaje de incidencia en hoja.

%	Descripción
0	Extremadamente resistente
0.1-5.0	Altamente resistente
5.1-25	Resistente
25.1-50	Sensible
50.1-75.0	Muy sensible
75≥	Extremadamente sensible

6.2.8. Análisis estadístico

Para determinar la severidad e incidencia en plantas de un año de edad se utilizó un diseño completamente al azar de 4 aislados x 4 repeticiones (más los controles), los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y para la comparación de medias se determinó de acuerdo a la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$), empleando el programa estadístico SAS versión 9.4. (Statistical Analysis System, (SAS Institute Inc), 2022).

6.3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.3.1. Aislamientos de hongos.

El aislamiento de frutos y hojas de durazno sintomáticas resultó en numerosos hongos, siendo los aislados similares a *Alternaria* y *Epicoccum*, los más comunes, basado en la caracterización fenotípica inicial, siguiendo los rasgos morfológicos descritos por Ma et al., (2021) y Rodríguez et al., (2023). Los síntomas observados se mostraron manchas de diversas tonalidades de color café y tornando a negro en fruto y lesiones necroticas de color negro em forma de anillos concéntricos sobre el haz de la hoja, dando estimaciones de sintomatología típica del género *Alternaria* (Figura 48 c y d), confirmando los síntomas reportados por Ahmad et al. (2024) los cuales ocasionaron pudrición blanda, con manchas irregulares sobre el fruto e incluso pudrición total sobre la superficie del fruto, además se ha identificado a la especie de *A. alternata* provocando podredumbre negra sobre la hoja y fruto de pera (Prencipe et al., 2023), similares los encontrados en esta investigación. Por otro lado, se pudo apreciar síntomas característicos de *Epicoccum* siendo este patogénico al cultivo de durazno causando mancha foliar sobre el fruto con manchas marrones irregulares y lesiones café oscuro con destrucción del tejido vegetal (Figura 48a y b), mismos que fueron reportados por Xu et al. (2022) al realizar pruebas de patogenicidad, en planta de maíz los cuales formaron pequeñas elipses de color café con el centro amarillo a grisáceo, con formaciones cloróticas.

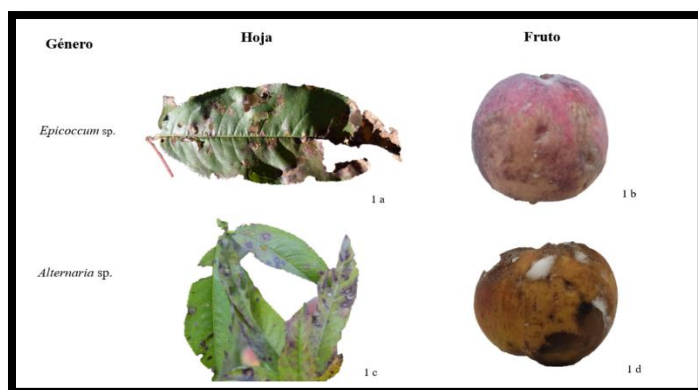


Figura 48. Síntomas en fruto y hoja de durazno asociados a hongos fitopatógenos foliares observados en campo.

6.3.2. Características Morfológicas y Culturales.

Las características culturales de las colonias en medio papa dextrosa agar (PDA) mostró variación entre diferentes aislados. Se lograron obtener dos aislados con características morfológicas y culturales tipológicas del género *Alternaria* sp. (RS-M3-A1-H-ACCH-1), *Alternaria alternata* (SP-M2-A2-F-ACCH-4). Al principio, las cepas se mostraron de color gris verdoso, tornándose más oscuro al envejecer el cultivo después de los nueve días y sus conidios de color pardo a negro con micelio aéreo en forma de anillos concéntricos sobre la superficie del medio empleado, estas características se pueden observar en la Figuras 49 a y b, además hubo esporulación de los conidios después de formar la maduración del micelio a los 13 días de crecimiento (Figuras 49 c y d) con septos longitudinales de 0.59 μm , transversales hasta 3.54 μm y oblicuos de 0.62 μm en forma de bastón (Figuras 2 e, f y g). Según Zhang et al. (2023), realizaron aislamientos de *A. alternata* del cultivo de pino chino y se observó el crecimiento de las colonias, con un regular margen blanco prominente, de color verde oliva a negro 10 días después de la incubación coincidiendo con la coloración de las colonias obtenidas en este estudio. Por otro lado, otros estudios difieren de la dimensión promedio de los conidios logrando una medición de 15–146 \times 3–5 μm , de 1 a 7 septos transversales (Aung et al., 2020), a diferencia de la medición promedio de la investigación realizada en el sur de Chihuahua, México, los cuales mostraron un crecimiento conidial menor.

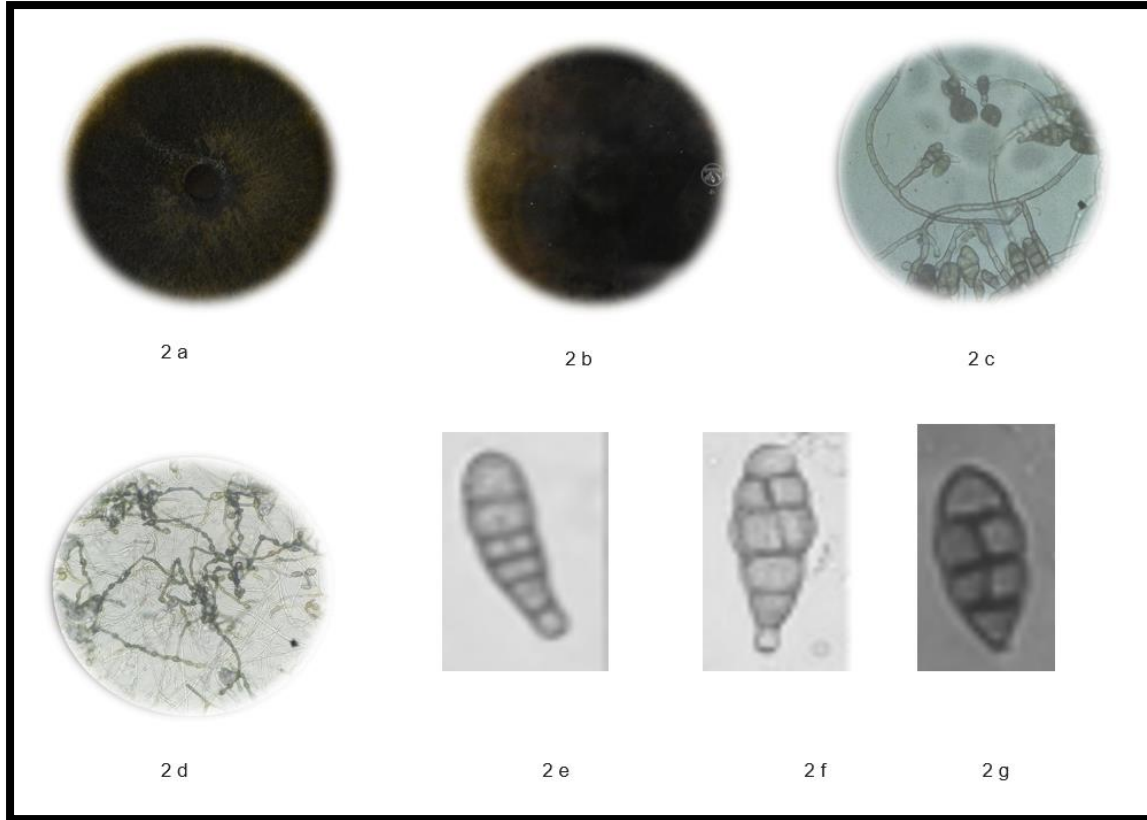


Figura 49. Morfología de *Alternaria* sp. y *A. alternata* a-b) colonia de frente y reverso, c) micelio septado, d) esporulación de conidios, e) septos transversales, f) septos longitudinales, g) septos oblicuos.

Por otro lado, la cepa *Epicoccum italicum* (N-M1-A3-F-ACCH-9) presentó un aspecto micelial aéreo vigoroso, márgenes irregulares, color naranja intenso (vista superior) y color naranja a rojo oscuro (reverso) en PDA después de los 21 días de crecimiento (Figura 50a y b), en el caso de) y *Epicoccum poae* (AA-M4-A1-ACCH-6) se observó un color amarillento con la formación de anillos concéntricos ondulados y al reverse una coloración rojiza del mismo (Figura 50c y d), ambos formaron conidios con morfología similar después de los 25 días. Estas características también fueron descritas por otros autores (Onyango et al., 2024; Wang et al., 2024). Dentro de la morfología se observaron conidióforos en esporoquios de 21.52 μm de largo por 8.78 de μm , con diámetro conidial de 8.18 μm en promedio (Figura 3 e-j). Estas características reafirman la morfología colonial de este género por presentar conidios esféricos y globosos de color

marrón a oscuro con diámetro de 12.5 a 28 μm (Rodríguez et al., 2023). Además, Rad et al. (2019) menciona el crecimiento de conidióforos marrones de 5 a 10 μm x 14 a 30 μm coincidiendo con el rango promedio de las medidas de esta investigación.

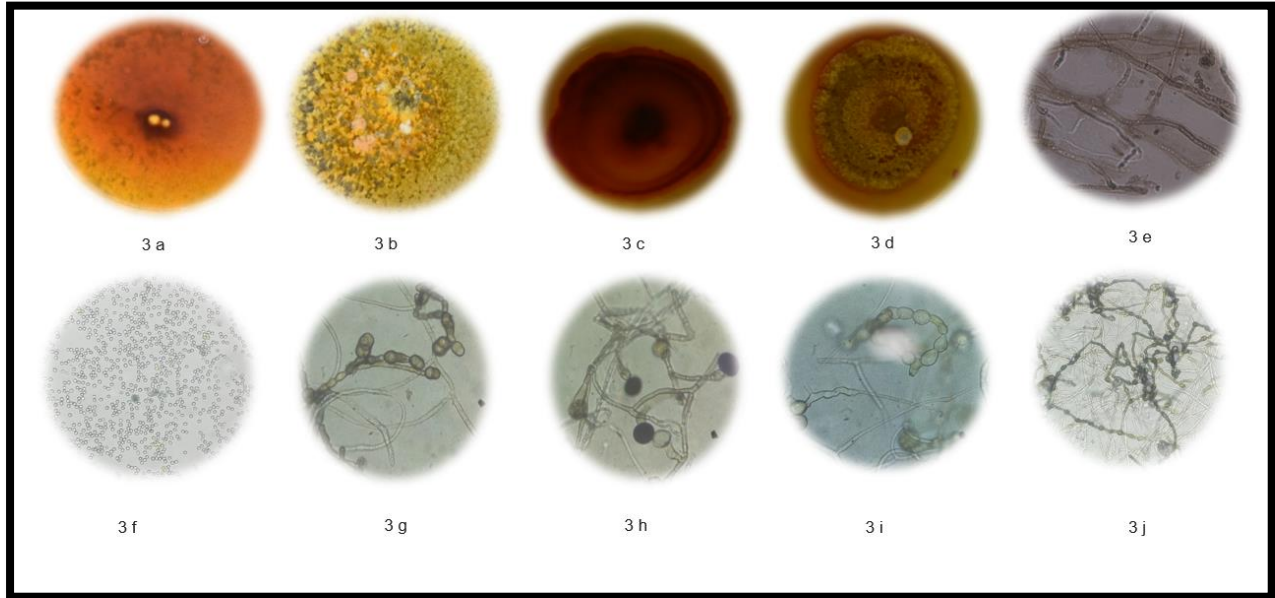


Figura 50. Morfología de *E. italicum* y *poae* a-d) colonia de frente y reverso, e) fragmentos de micelio liso binucleados *E. italicum* f) esporas, g) clamidosporas, h) picnidios, i) conidios en cadena de *E. poae*, j) conidios produciendo esporoquios.

6.3.3. Filogenia.

Al comprar la secuencia de la región ITS, de la base de datos de GenBank, presentó 99% de igualdad con las especies del género; *Alternaria alternata* (OQ947366. 1:54-548, OQ947365. 1:53-547) y *Alternaria* sp. (OQ955305. 1:33-527, OQ933287. 1:20-514) (Mohammadi & Bahramikia, 2019), además las especies de *Epicoccum* sp. mostraron 54% (MT777261. 1:28-526) y 55% de similitud (HQ914805. 1:34-536) (Xu et al., 2022) (Figura 51a). Al comparar las secuencias parciales del gen EF1, con respecto a los cebadores GPD1 y RPB2-5F2-RPB2-7cR los resultados mostraron un 100% de similitud en la cepa de SP-M2-A2-F-ACCH-4 con *A.alternata* (OQ224996. 1:6-578) y en el caso de la cepa RS-M3-A1-H-ACCH-1 se demuestra correlación de 100% *Alternaria* sp. (MG051341. 1:4-470), así como también se ubica en el mismo clado de *A. tenuissima* (MW165223. 1:2:580) (Sun et al., 2023) (Figura 51b) y para los cebadores EF1-728F y B- tubulina de *Epicoccum* la cepa N-M1-A3-ACCH-9 presentó 99% con *E. italicum*

(OP066223. 1:1-523 y OP066223. 1:1-366), por otro lado, la cepa AA-M4-A1-ACCH-6 tuvo 100% de similitud de con *Epicoccum poae* (MK140527. 1: 27-333) de acuerdo a los primers utilizados por Bernardi et al. (2023), Papp-Rupar et al. (2023) y Xu et al. (2024) (Figura 4c). El análisis filogenético multigen confirmó que las cepas de *Alternaria* y *Epicoccum* estudiadas, pertenecen a las especies de *A.alternata* (SP-M2-A2-F-ACCH-4) y *Alternaria* sp. (RS-M3-A1-H-ACCH-1), y *E. italicum* (N-M1-A3-F-ACCH-9) y *E. poae* (AA-M4-A1-ACCH-6) con Bootstrap de 54%.

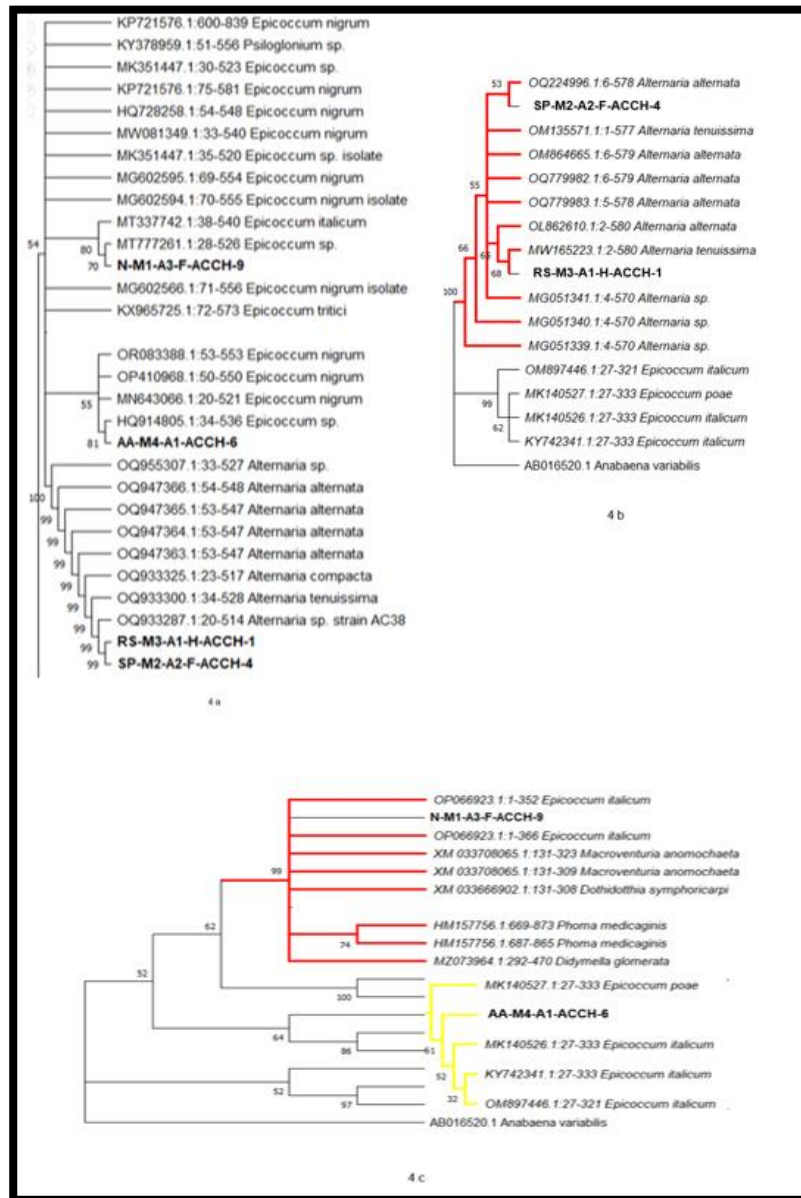


Figura 51. Árbol filogenético de los géneros *Alternaria* y *Epicoccum*, a) inferido por Máxima Verosimilitud a partir del alineamiento concatenado de la zona ITS y b, c) la cadena parcial del gen característico del factor de elongación (TEF). La escala representa las sustituciones del promedio por sitio. Los datos bootstrap $\geq 54\%$ se muestran arriba de las ramas, junto a los internodos. Las especies estudiadas en esta investigación se exponen en negritas.

6.3.4. Confrontación en plantas de un año de edad.

6.3.4.1. Diámetro de hoja.

Las plantas inoculadas con *T. asperelloides* presentaron aumento de crecimiento en el diámetro de hoja para las cepas de *E. italicum* y *E. poae* 1.636 y 1.586 cm y para las cepas de *A. alternata* y *A. spp*, 1.376 y 1.502 cm comparadas con el control que tuvo un crecimiento de 1.341 cm, siendo altamente significativo ($P < 0.05$) con R^2 de 0.0231, observando crecimiento después de los 36 días de experimentación. En la Figura 52 se observa la diferencia entre los tratamientos con respecto al control, favoreciendo el crecimiento de la planta de *Prunus persica*. Se ha identificado la inhibición progresiva de *T. asperelloides* vs *A. alternata* después de 7 días de inoculación sobre el cultivo de tomate provocando abundante crecimiento excesivo de hifas de *T. asperelloides* en el micelio de *A. alternata* reduciendo el daño de 69.2% sobre la planta (Ramírez-Cariño et al., 2020).

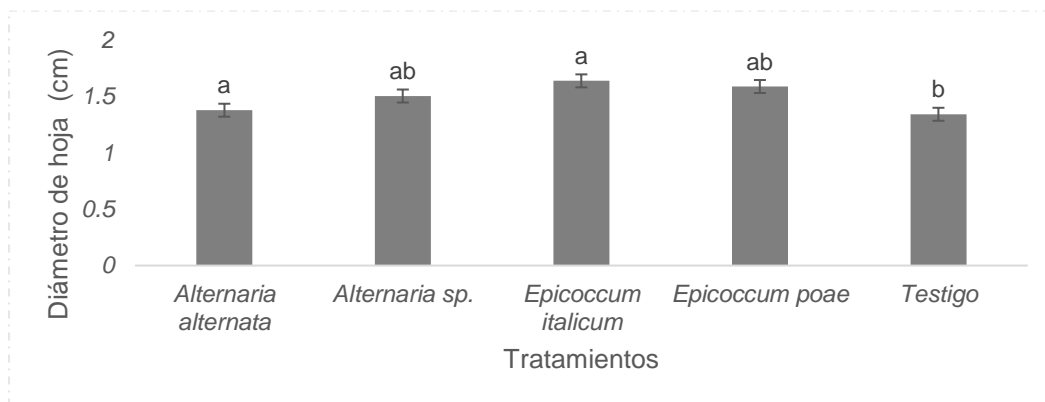


Figura 52. Diámetro de hoja por género evaluado vs *T. asperelloides* en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$).

6.3.4.2. Longitud de hoja.

En relación con la variable de longitud de hoja se observó un crecimiento vegetativo a partir del día 33. En la Figura 53, se muestran los resultados de la prueba de medias de Tukey de los datos correspondientes a la longitud de hoja obtenido en cada tratamiento del experimento, con un crecimiento promedio de 3.246 cm para la cepa de RS-M3-A1-H-ACCH-1, correspondiente al género *Alternaria* sp. y la cepa N-M1-A3-F-ACCH-9 de *E. italicum* con 3.276 cm, mostrando diferencia significativa con respecto al testigo con una R^2 de 0.825. La inducción de significativa de *T. afroharziarum* puede aumentar longitud de brote y raíz de 8.73 y 11.27 cm, con respecto al crecimiento de *A. alternata* en cultivo de tomate (Philip et al., 2024) a diferencia de los aislados del sur de Chihuahua las variaciones estuvieron por debajo del 37.52 % entre el crecimiento de hoja de durazno y tomate.

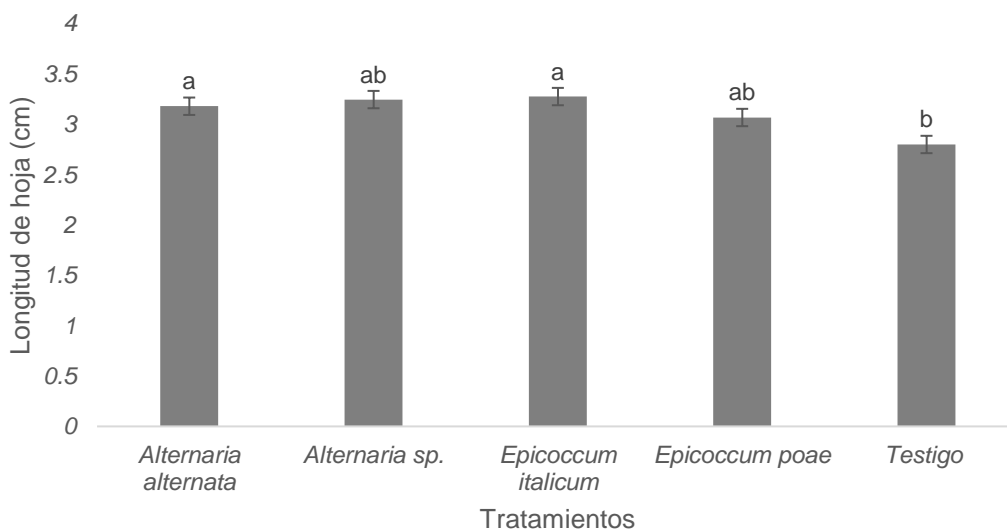


Figura 53. Longitud de hoja por género evaluado vs *T. asperelloides* en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$).

6.3.4.3. Altura.

La evaluación realizada entre los diferentes tratamientos demostró la eficiencia de la cepa de *T. asperelloides* sobre las cepas de los patógenos confrontados, pudiéndose demostrar el efecto sobre las dos cepas de *Alternaria* sp. *E. italicum* con excepción de las cepas SP-M2-A2-F-ACCH-4, de *A. alternata* y la cepa AA-M4-A1-ACCH-

6 de *E. poae* (Figura 54) las cuales mantuvieron una estrecha correlación de 91.34 y 93.24 cm con respecto al testigo arrojando diferencia significativa de R^2 de 0.723. Autores como Ogórek et al. (2020) y Xu et al. (2022) señalan que cepas de *E. nigrum* limitan significativamente el porcentaje de germinación de semillas de berro y la reducción de crecimiento en cultivo de maíz alcanzando el 10% de la pudrición de tallo.

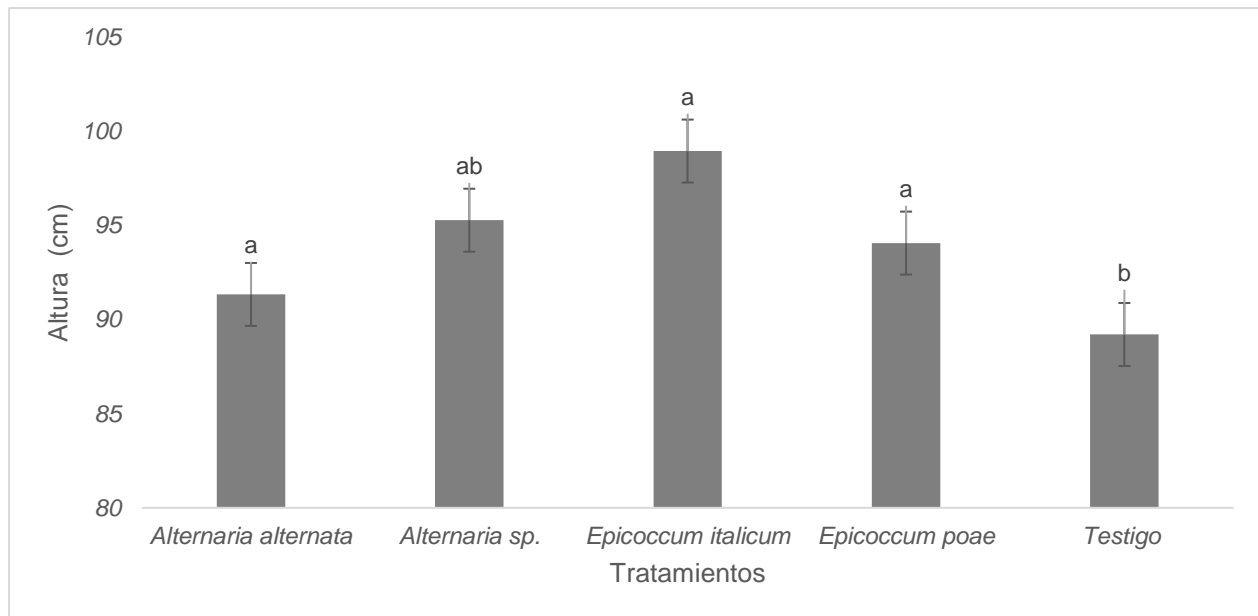


Figura 54. Altura por género evaluado vs *T. asperelloides* en condiciones controladas. *Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$).

6.3.4.4. Severidad.

Las hojas inoculadas con *Alternaria* desarrollaron lesiones podredumbre extensa en la superficie aumentando considerablemente después de los 12 días provocando el enrollamiento y pústulas de color negro sobre la hoja y pudrición del tallo, en el caso de *Epicoccum* se comenzó a observar manchas foliares leves de color marrón con un halo amarillo de color naranja y posteriormente se tornaron a café oscuras después de los 15 días y necrosis sobre el haz de la hoja (Figura 55). Por otro lado, las hojas del testigo se mantuvieron sin síntomas. La severidad promedio en hojas de durazno inoculadas artificialmente se describen en el cuadro 19. Los aislados mostraron diferencias significativas ($P < 0.05$) con respecto al testigo. *Epicoccum* ha demostrado tener una amplia gama de hospedantes actuando como fitopatógeno reduciendo su crecimiento foliar de

20 a 35% de severidad en lentejas, arroz, frijol, maíz, cereza, cuernecillo, trébol criollo (Taguan et al., 2021) lo cual coincide con los rangos obtenidos en esta investigación al estar dentro de los rangos de severidad de ambas cepas sobre la hoja del duraznero.

Cuadro 19. Porcentaje de severidad en hoja.

Aislado	Género	Grado de escala	de Número de lesiones	de Severidad (%)
SP-M2-A2-F-ACCH-4	<i>Alternaria alternata</i>	3	9	52.25 b
RS-M3-A1-H-ACCH-1	<i>Alternaria sp.</i>	2	6	26.8 bc
N-M1-A3-F-ACCH-9	<i>Epicoccum italicum</i>	1	3	23.3 bc
AA-M4-A1-ACCH-6	<i>Epicoccum poae</i>	4	≥10	81.3 a
Testigo	Test	0	0	0 c

*Letras diferentes, entre filas, indican diferencias significativas según la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0,05$).



Figura 55. Síntomas por fitopatógenos en planta de durazno de un año de edad a) Invasión de tallo por *A. alternata*, b) Lesiones sobre la hoja por *A. alternata* C) Lesiones sobre el follaje de *E. Poae*.

6.3.4.5. Incidencia.

En cuanto a la incidencia de los fitopatógenos (4 aislados), éstos presentaron micelio, lesiones y coloraciones tanto en tallo como en la hoja de la variedad prisco, desarrollando un 100 % en los bioensayos, por lo que son considerados extremadamente sensibles para el cultivo del duraznero de la zona sur de Chihuahua. Así mismo se han encontrado estudios sobre el efecto de *T. asperellum* sobre *A.tenuisima* en plantas de manzano lo cual no demostró beneficio alguno como antagonista en árboles de la variedad Granny Smith (Madrid-Molina et al., 2023) coincidiendo con los resultados obtenidos en esta investigación al mantener la incidencia total sobre todas las unidades experimentales evaluadas en plantas de durazno de un año de edad en el sur de Chihuahua, a diferencia de los autores Ramírez- Cariño et al. (2020) demostraron el biocontrol de *T. asperelloides* contra *A. alternata* en cultivo de tomate manteniendo la incidencia de 53.8%.

6.4. CONCLUSIONES

Las cuatro cepas de los fitopatógenos aisladas de hoja y fruto de plantas de durazno (*Prunus persica*) en el sur de Chihuahua, fueron caracterizados morfológica y molecularmente y se determinó que pertenecen a las especies de *Alternaria alternata*, *Alternaria* sp. *Epicoccum italicum* y *Epicoccum poae*.

En cuanto al diámetro y longitud de hoja se presentó mayor crecimiento en la cepa N-M1-A3-F-ACCH-9 de *E. italicum* y en la cepa de RS-M3-A1-H-ACCH-1 correspondiente a *Alternaria* sp. mostrando diferencia significativa respecto al testigo, en cambio en la altura se destaca que *T. asperelloides* no promovió el desarrollo de la planta, con respecto a las cepas SP-M2-A2-F-ACCH-4 de *A. alternata*, y a la cepa AA-M4-A1-ACCH-6 de *E. Poae*, ya que se mostraron crecimiento similar al testigo sin inoculación. Todos los aislados mostraron incidencia en todas las unidades experimentales evaluadas en condiciones de invernadero, además de presentar de una hasta más de 10 lesiones ubicándose en la escala de severidad 1-4, considerando a *Epicoccum poae* como uno de los hongos con mayor afectación al cultivo del duraznero.

De acuerdo a las variables de respuesta evaluadas se considera la cepa 3 de *T. asperelloides* presenta un potencial considerable para el control *in vivo* frente a los fitopatógenos foliares en plantas de durazno de un año de edad.

CAPITULO 7. CONCLUSIONES GENERALES

Los cuatro aislados de *Trichoderma* derivados de la parte del suelo (rizosfera) de las plantas de durazno (*Prunus persica*) y pino (*Pinus arizonica*) en el sur de Chihuahua, fueron caracterizados morfológica y molecularmente y se determinó que pertenecen a la especie *T. asperelloides*, así como los 10 aislados de hongos fitopatógenos corresponden a los géneros de *Monilinia frutícola*, *Alternaria alternata*, *Fusarium sambucinum*, *Collectotrichum gloesporoides* y *Epicoccum italicum* y *poae*.

Todos los aislados mostraron una alta inhibición del crecimiento micelial contra los cinco géneros de hongos, considerando a la estirpe 3 (SP-M-M5-R-T) presentó un alto potencial para el control *in vitro* frente a los fitopatógenos.

En cuanto a la medición de variables de respuesta, con respecto al diámetro y longitud de hoja se presentó mayor crecimiento en la cepa B-F-M1-A2-ACCH-3 de *F. sambucinum*, LJ-M2-H-ACCH-7 correspondiente a *C. gloesporoides* N-M1-A3-F-ACCH-9 de *E. italicum* y en la cepa de RS-M3-A1-H-ACCH-1 correspondiente a *Alternaria* sp. mostrando diferencia significativa respecto al testigo, en cambio en la altura se destaca que *T. asperelloides* no promovió el desarrollo de la planta, con respecto a las cepas B-F-M1-A3-AACH-5 de *F. Sambucinum*, SP-M2-A2-F-ACCH-4 de *A. alternata* y a la cepa AA-M4-A1-ACCH-6 de *E. Poae*, ya que se mostró similar o menor crecimiento al testigo sin inoculación. Todos los aislados mostraron incidencia en todas las unidades experimentales evaluadas en condiciones de invernadero, además de presentar de una hasta más de 10 lesiones ubicándose en la escala de severidad 1-4, considerando a *Epicoccum poae* como uno de los hongos con mayor afectación al cultivo del duraznero.

Con respecto al rango de hospedantes la variedad amarilla del duraznero es considerada la más susceptible a todos los aislados patogénicos; así mismo, *Alternaria* spp., *Collectotrichum* sp. y *Monilinia* sp. fueron los fitopatógenos más agresivos. Todos los hongos presentaron incidencia en hojas, por lo que se consideran variedades extremadamente sensibles. El fruto de fresa es el más susceptible ante los fitopatógenos foliares del durazno mientras que la manzana mostró mayor resistencia al presentar menor porcentaje de severidad.

De los ocho medios de cultivo probados en cuatro cepas de *T. asperelloides* durante ambos bioensayos se destacaron papa dextrosa agar, agar bacteriológico y PDA con polvo de trigo con el valor más alto de crecimiento y el medio MacConkey no presentó crecimiento en los tratamientos y se demostró la cepa 3 con la más alta producción conidial al llenar una caja de 90 mm de los diferentes medios de cultivo en 3 días de experimentación. En todos los sustratos se presentó viabilidad para la reproducción conidial del hongo y se demostró que las semillas de trigo y los granos de arroz son una fuente ideal para su crecimiento a temperaturas cálidas ($17.5^{\circ}\text{C} \pm 2$) y frías ($7^{\circ}\text{C} \pm 2$),

Se recomienda probar los sustratos orgánicos en cultivos de la región ya sea en condiciones controladas como en campo abierto, agregándolos de forma sólida sobre el suelo, de igual manera se recomienda hacer uso del medio papa dextrosa agar para la reproducción conidial y así poder realizar las inoculaciones de forma líquida.

De acuerdo a las variables de respuesta evaluadas se considera la cepa 3 de *T. asperelloides* presenta un alto potencial para el control *in vivo* frente a los fitopatógenos foliares en plantas de durazno de un año de edad, así como la aplicación de microorganismos antagonistas es una alternativa biológica para el control de fitopatógenos foliares en cultivos de durazno, en condiciones controladas *in vitro* como *in vivo*.

CAPITULO 8. LITERATURA CITADA

- Acuña P.R. (2010). Compendio de bacterias y hongos de frutales y vides en Chile. Primera edición, editorial: Comunicación y Prensa, SAG. <https://biblioteca.sag.gob.cl/DataFiles/60-2.pdf>
- Africano P., K. L., Almanza-Merchán, P. J. y Balaguera-López, H. E. (2015). Fisiología y bioquímica de la maduración del fruto de durazno (*Prunus persica* (L.) Batsch]. Una Revisión. Revista Colombiana de Ciencias Hortícolas, 9(1): 161–172. <https://doi.org/10.17584/rcch.2015v9i1.3754>
- Agrios GN. (2005). Plan pathology. Fifth edition. Elsevier Academic Press. California, USA.922p. ISBN: 9780080473789.
- Agu, K. C., & Chidozie, C. P. (2021). An improved slide culture technique for the microscopic identification of fungal species. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development*, 6(1), 243-254. www.ijtsrd.com
- Aung, S. L. L., Liu, H. F., Pei, D. F., Lu, B. B., Oo, M. M., & J. X. Deng, (2020). Morphology and molecular characterization of a fungus from the *Alternaria alternata* species complex causing black spots on pyrus sinkiangensis (Koerle pear). *Mycobiology*, 48(3), 233-239. <https://doi.org/10.1080/12298093.2020.1745476>
- Ahumada-Rudolph, R., Novoa, V. y Becerra, J. (2018). Morphological response to salinity, temperature, and pH changes by marine fungus *Epicoccum nigrum*. *Environmental Monitoring and Assessment* 191(1):35 <https://doi.org/10.1007/s10661-018-7166-5>
- Ahmad, H.; Venugopal, K.; Rajagopal, K.; De Britto, S.; Nandini, B.; Pushpalatha, H. G.; Konappa, N.; Udayashankar, A. C.; Geetha, N. and Jogaiah, S. (2020). Green synthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using eucalyptus globules and their fungicidal ability against pathogenic fungi of apple orchards. *Biomolecules*. 10(3): article e425). <https://doi.org/10.3390/biom10030425>
- Ahmad, T., Xing, F., Cao, C., & Liu, Y. (2024). Characterization and toxicological potential of *Alternaria alternata* associated with post-harvest fruit rot of *Prunus avium* in China. *Frontiers in Microbiology*, 15, 1273076. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2024.1273076>

- Akbar, F., (2023). Current status of peach leaf curl disease in Pakistan and future management strategies. *Agrobiological Records*, 12, 22-33. <https://doi.org/10.47278/journal.abr/2023.012>
- Akter, S. and Sadia S. (2020). Evaluation of the biological efficacy of fungus and bacteria isolated from mushroom substrates against pathogenic fungi. *International Journal of Environmental and Agriculture Research (IJOEAR)*. 6(3): 38-40. www.ijoeear.com
- Alvarado, B.R.; Pompa, G.J.M.; Zúñiga, V.J. y Jiménez C.M. (2019). Spatial analysis of phenotypic variables in a clonal orchard of *Pinus arizonica* Engelm. in northern Mexico. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales y del Ambiente* 25 (2):185–199. <https://doi.org/10.5154/r.rchscfa.2018.11.086>
- Álvarez, V. y Centellas A. (2012). Manejo integrado de plagas en la producción de plantines de durazno. (1^{era} ed). Cochabamba PROINPA. <https://www.proinpa.org/web/pdf/Frutales/Durazno/Manejo%20integrado%20de%20plagas%20en%20la%20produccion%20de%20plantines%20de%20duraznero.pdf>
- Allaire JJ (2011, Julio 03) *RStudio: Integrated Development Environment for R*. <https://www.r-project.org/conferences/useR-2011/abstracts/180111-allairejj.pdf>
- Allende, M.R., Picos, M.P.A., Márquez, Z.I., Carrillo, F.J.A., García, E.R.S. y León FJ. (2013). Identificación morfológica y molecular de *Penicillium oxalicum* causante de pudrición de tallos y frutos de tomate. *Revista Mexicana de Fitopatología* 30:13-19. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v31n1/v31n1a2.pdf>
- Almaraz-Sánchez, A., Ayala-Escobar, V., Tlatilpa-Santamaría, I. F., & Nieto-Angel, D. (2018). *Fusarium sambucinum* Fuckel agente causal de la pudrición de frutos de chile manzano (*Capsicum pubescens*) en México. *Revista Mexicana de Fitopatología(En Línea)/Revista Mexicana de Fitopatología*, 37(1). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1810-2>
- Al-Nadabi, H. H., Maharachchikumbura, S. S. N., Agrama, H., Al-Azri, M., Nasehi, A., & Al-Sadi, A. M. (2018). Molecular characterization and pathogenicity of *Alternaria* species on wheat and date palms in Oman. *European journal of plant pathology*, 152, 577-588. <https://doi.org/10.1007/s10658-018-1550-4>
- Anderson, J.B. y Ullrich, R.C. (1979). Especies biológicas de *Armillaria Mellea* en América del Norte. *Revista de Mycologia*, 71 (2), 402–414. doi: 10.1080 / 00275514.1979.12021018

- Ara. I., Rizwana, H., Al-Othman, M. y Bakir, M. (2012). Antagonism of actinomycete against *Pestalotiopsis mangiferae*, causal agent of mango brown rot in postharvest storage. *African Journal of Microbiology Research* 6(8):1782-1789
<https://doi.org/10.5897/AJMR11.1254>
- Antomarchi, O.Y.: Tamayo, R.E.; Guerra, B.J.L; Siannah, M.M.D. y Barrera, A.A.L. (2023). Producción de hongo *Trichoderma harzianum* a-34 en sustratos sólidos alternativos. *Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria*. 5(1): 259-267.
<http://editorialalema.org/index.php/pentaciencias/article/view/440/572>
- Andrade HP, Luna CA, Osorio HE, Molina GE, Landero VN, Barrales CHJ (2019) Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de Chile. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10(6): 1259–1272.
- Arafat, K. H., Hassan, M., & Hussein, E. A. (2021). Detection, disease severity and chlorophyll prediction of date palm leaf spot fungal diseases. *New Valley Journal of Agricultural Science*, 1(2), 98-110.
 DOI: 10.21608/nvjas.2022.110022.1027
- Arévalo, E.; Cayotopa, J.; Olivera, D.; Gárate, M.; Trigoso, E.; Costa, B.; y Leon, B. (2017). Optimización de sustratos para la producción de conidias de *Trichoderma harzianum* por fermentación sólida en la Region de San Martín Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas - Journal of High Andean Research*. 19 (2): 135-144.
<https://doi.org/10.18271/ria.2017.272>
- Asis A, Shahriar SA, Naher L, Saallah S, Fatimah HNN, Kumar V, Siddiquee, S (2021). Identification patterns of *Trichoderma* strains using morphological characteristics, phylogenetic analyses and lignocellulolytic activities. *Molecular Biology Reports* 48(4): 3285–3301.
- Bacha, S. A. S., Li, Y., Nie, J., Jalal, A., Xu, G. and Iqbal, B. (2023). Identification, characterization, and expression analysis of PpCPK gene family in response to *Alternaria*-infected peach fruits collected from different geographical regions of China. In *South African Journal of Botany* (Vol. 158, pp. 214–223). Elsevier BV.
<https://doi.org/10.1016/j.sajb.2023.05.015>
- Baker, K. and Cocinero R.J. (1974). *Control biológico de patógenos vegetales*. Primera edición. WH Freeman and Company. San Francisco., Estados Unidos. 433p.

- Baltazar, E., Rodrigues, S., Ares, A., Camelo, A., Brandão, I., Espirito Santo, C., Trovão, J., Garcia, E., and Costa, J. (2023). Morphological, Molecular and Genomic Identification and Characterisation of *Monilinia fructicola* in *Prunus persica* from Portugal. *Agronomy* 13(6): 1493. <https://doi.org/10.3390/agronomy13061493>
- Bao, X. T., Dharmasena, D. S. P., Li, D. X., Wang, X., Jiang, S. L., Ren, Y. F., Wang, D. L., Song, B. A., & Chen, Z. (2019). First report of *Epicoccum sorghinum* causing leaf spot on tea in China. *Plant Disease* 103(12): 3282–3282. <https://doi.org/10.1094/pdis-06-19-1296-pdn>
- Bastida LM, Gutiérrez SA, Carmona MA. (2019). Aislamiento y caracterización sintomática de *Pyricularia spp.* en arroz y otros hospedantes en la provincia de Corrientes (Argentina). *Summa Phytopathologica* 45:200-203. <http://dx.doi.org/10.1590/0100-5405/172270>
- Bastidas O. (2018). Conteo celular con hematócitometro (uso elemental del hematócitometro). Nota técnica No 1 Neubauer chamber cell counting. Celeromics. 6p <https://xdoc.mx/documents/conteo-celular-con-hematocitometro-606bdf1d4e7c7>
- Balkrishan., Tanwar, S. and Bhan, P.U. (2021). Medicinal and Nutritional Aspect of Genus *Prunus* L. with Phytoetymology. *International Journal of Unani and Integrative Medicine* 2021; 5(2): 24-27. <https://www.unanijournal.com/articles/165/5-1-10-561.pdf>
- Battistini, G., Gazzetti, K., & Collina, M. (2022). A New Approach: Determining cyt b G143A Allele Frequency in *Zymoseptoria tritici* by Digital Droplet PCR. *Biology*, 11(2), 240. <https://doi.org/10.3390/biology11020240>
- Bell DK, Well HD, Markham CR (1982) *In vitro* Antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Ecology and epidemiology* 72: 379-382.
- Benavides, M.E., V.F. Pinto y G. Pose. (2019). *Alternaria* species associated with apple and pear crops in the region of Alto Valle del Río, Argentina. *Revista de Cultura Científica* 17: 18-31.
- Berbee, M.L., Pirseyedi, M. & S. Hubbard (1999). *Cochliobolus Phylogenetics* and the Origin of Known, Highly Virulent Pathogens, Inferred from ITS and Glyceraldehyde-3-Phosphate Dehydrogenase Gene Sequences. *Mycologia*, 91(6), 964–977. <https://doi.org/10.2307/3761627>
- Bernardi, C., Rey, M. S., Júnior, A. W., Pietrobon, J. H., & D. R. De Barros, (2023). First report of *Epicoccum nigrum* causing leaf spot of eugenia involucrata in Brazil. *Plant Disease*, 107(1), 230. <https://doi.org/10.1094/pdis-09-21-1925-pdn>

- Bevacqua, D.; Génard, M.; Lescourret, F.; Martinetti, D.; Vercambre, G.; Valsesia, P. and Mirás-Avalos, J. M. (2019). Coupling epidemiological and tree growth models to control fungal diseases spread in fruit orchards. *Scientific Reports*. 9(1): article e8519. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44898-6>
- Bian, J.-Y., Fang, Y.-L., Song, Q., Sun, M.-L., Yang, J.-Y., Ju, Y.-W., Li, D.-W., and Huang, L. (2021). The fungal endophyte *Epicoccum dendrobii* as a potential biocontrol agent against *Colletotrichum gloeosporioides*. *Phytopathology*®. 111(2): 293–303 <https://doi.org/10.1094/phyto-05-20-0170-r>
- Bhandari, S.; Pandey, K.R.; Joshi, Y.R. and Lamichhane, S.K. (2021). An overview of multifaceted role of *Trichoderma* spp. for sustainable agriculture. *Archives of Agriculture and Environmental Science*. 6(1): 72–79. <https://doi.org/10.26832/24566632.2021.0601010>
- Bloeju, M. (2007). Estudio de estabilidad y algunas propiedades tecnológicas de pigmentos sintetizados por *Epicoccum nigrum* (Tesis de Maestría) Biotecnología de los Alimentos de la Facultad de Ciencia e Ingeniería de los Alimentos de la Universidad” Dunare a de Jos”, Galati, (Rumania).
- Blanco, C.J.L. (2007). Los postulados de Koch: revisión histórica y perspectiva actual. *Revista de anidad vegetal y animal* 2: 262-266. <https://core.ac.uk/download/pdf/38810012.pdf>
- Boukaew, S., Chumkaew, K., Petlamul, W., Srinuanpan, S., Nooprom, K., & Zhang, Z. (2024). Biocontrol effectiveness of *Trichoderma asperelloides* SKRU-01 and *Trichoderma asperellum* NST-009 on postharvest anthracnose in chili pepper. *Food Control*, 163, 110490. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110490>
- Bustillo, A. E. (2010). Método para cuantificar suspensiones de esporas de hongos y otros organismos. Universidad Nacional de Colombia. *Research Gate* 1:1-5. <https://doi.org/10.13140/RG.2.1.3594.5128>
- Cáceres, Y.H. y Galliani, P.C.L. (2020). Production of *Trichoderma viride* in local organic substrates of the Ica region – Peru. *Plant Pathol Microbiol*. 11(490): 1-7. doi: 10.35248/2157-7471.20.11.490.

- Cai F, Druzhinina IS (2021) In honor of John Bissett: authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. *Fungal diversity* 107(1): 1–69.
- Calderón-Zavala, G., Rodríguez-Alcazar, J., Espíndola-Barquera, M. de la C., y García-Ávila, A. (2021). Variedades mejoradas de durazno (*Prunus pérsica* L.). *Agro-Divulgación*. 1(0). <https://doi.org/10.54767/ad.v1i1.11>
- Cancino, S., Cancino, G. y Quevedo, E. (2018). Generación de valor: factor clave en la toma de decisiones de las pymes. *Económicas CUC*, 39(2). 63-76. DOI: <http://dx.doi.org/10.17981/econcuc.39.2.2018.04>.
- Camargo, P.Y.; Zambrano, M.G.; Ortega, C.M., Gutierrez, M.D.J. and Yepes, E.J.A. (2021). Actividad antifúngica *in vitro* del aceite esencial de *Swinglea glutinosa* Merr sobre *Colletotrichum* sp. patógeno de mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Colombiana de Biotecnología*. 23(1):62–71. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v23n1.88025>
- Carraro, T. de A., R.R. Moreira, J. Gelain y L.L.M. De Mio. (2022). Etiology and epidemiology of diseases caused by *Colletotrichum* spp. in persimmon, apple, peach, and grapevine. *Revista Anual de Patología de Plantas* 28: 136–162.
- Carbone, I., & Kohn, L. M. (1999). A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Mycologia*, 91(3), 553-556. <https://doi.org/10.1080/00275514.1999.12061051>
- Cárdenas, J. y Fischer, G. (2013). Clasificación botánica y morfología de manzano, peral, duraznero y ciruelo. Miranda D, Fischer G y Carranza C (Eds). *Los frutales caducifolios en Colombia - Situación actual, sistemas de cultivo y plan de desarrollo*. (pp.21-30). Sociedad Colombiana de Ciencias Hortícolas, Bogotá. <https://vdocuments.mx/clasificacion-botanica-y-morfologica-de-manzano-peral-duraznero-y-ciruelo.html?page=1>
- Castello, G., F.A. Paglioni, G. Martin, M. Morelli y R. Manfrino. (2019). Prospección y patogenicidad de hongos patógenos para el control de carpocapsa en frutales. *Investigación Joven* 6(2): 43-43.
- Chen, F.P., Fan, J.R., Zhou, T. and Liu, X.L. (2012). Baseline Sensitivity of *Monilinia fructicola* from China to the DMI Fungicide SYP-Z048 and Analysis of DMI-Resistant Mutants. *Plant Disease*. 96(3): 416-422. <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS-06-11-0495>

- Ceballos, Ch. Á. R., Lizárraga S.G. J., López, V. B. E. Félix, G. R. Longoria, E. R. M. y Beltrán, P. H. (2021). Uso de *Trichoderma asperellum* y lombricomposta para el control de secadera en *Physalis ixocarpa* Brot. Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ. 16: 7-18. <https://erevistas.uacj.mx/ojs/index.php/cienciafrontera/article/view/4873/5692>
- Corke ATK (1975) Biological control of plant pathogens. by Kenneth F. Baker and R. James Cook. San Francisco: Freeman (1974), pp. 433. Experimental Agriculture 11(2): 159–159.
- Cotes, A.M., Zapata, Y., Beltrán-Acosta, C., Kobayashi, S., Uribe, L and Elad Y. (2018). Biological control of foliar pathogens. Cotes, A.M. (Ed). Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros (pp. 61-119). AGROSAVIA. file:///C:/Users/DELL/Downloads/CB%20CAPITULO%201%20-%20WEB.pdf
- Cuenca, S.J.A.; Quevedo, G.J.N.; Tuz, G.I.G. and Chabla, C.J.E. (2022). *Trichoderma* spp: Propagación, dosificación y aplicación en el cultivo de maíz (*Zea mays* L.). Ciencia y Agricultura.19(3): 32-44. <https://doi.org/10.19053/01228420.v19.n3.2022.14692>
- Cruz RL, Silva MKL, González CJC, Elorza MP, Purroy VR (2020). Análisis campo-sustancia de TRIZ para el uso de *Trichoderma asperelloides* como antagonico en *Citrus sinensis*. Revista Biológico Agropecuaria Tuxpan 8(2): 8–13.
- Christova, P.K. and Slavov S.B. (2021). *Epicoccum nigrum* – isolation, characterization and potential for biological control of *Botrytis cinérea*. Bulgarian Journal of Agricultural Science, 27(4): 693–698. <https://www.agrojournal.org/27/04-08.pdf>
- Da Silva Neto, J. A., De Queiroz Ambrósio, M. M., Araújo, M. B. M., Da Silva, R. M., Pinto, P. S. L., & Holanda, I. S. A. (2022). Morphological, molecular and pathogenic characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from mango. *Revista Caatinga*, 35(3), 514-527. <https://doi.org/10.1590/1983-21252022v35n302rc>
- Degani O, Dor S (2021). *Trichoderma* biological control to protect sensitive maize hybrids against late wilt disease in the field. Journal of fungi 7(4):315.
- De Rezende, L. C.; De Andrade, C. A. L.; Costa, L. B.; De Almeida, H.V. B.; Silva, L. G.; Pinto, Z. V.; Morandi, M. A. B.; De Medeiros, F. H. V.; Mascarin, G. M. and Bettioli, W. (2020). Optimizing mass production of *Trichoderma asperelloides* by submerged liquid

- fermentation and its antagonism against *Sclerotinia sclerotiorum*. World Journal of Microbiology and Biotechnology 36(8):113- <https://doi.org/10.1007/s11274-020-02882-7>
- Dirlewanger, E., Pronier, V., Parvery, C., Rothan, C., A. Guye, Q. and R. Monet, R. (1998). Genetic linkage map of peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) using morphological and molecular markers. Theor Appl Genet 97: 888—895. https://www.researchgate.net/profile/Elisabeth-Dirlewanger/publication/227027871_Genetic_linkage_map_of_peach_Prunus_persica_L_Batsch_using_morphological_and_molecular_markers/links/565c5c5508ae4988a7bb6c1f/Genetic-linkage-map-of-peach-Prunus-persica-L-Batsch-using-morphological-and-molecular-markers.pdf
- Dong, J., Shi, H., Wu, Y., Yang, L., Zhu, F., and Ji, Z. (2023). Identification and pathogenicity analysis of *Fusarium* spp. on peach in China. Research Square Platform LLC. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2671628/v1>
- Dong, J., Shi, H., Wu, Y., Yang, L., Zhu, F., & Ji, Z. (2023). Identification and pathogenicity analysis of *Fusarium* spp. on peach in China. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-2671628/v1>
- Dowling, M., Peres, N., Villani, S., and Schnabel, G. (2020). Managing *Colletotrichum* on Fruit Crops: A “Complex” Challenge. Plant Disease 104(9): 2301–2316. <https://doi.org/10.1094/pdis-11-19-2378-fe>
- Duarte LY, Lamz PA y Martínez CB. (2017). *In vitro* antagonism of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg isolates against *Sclerotium rolfsii* Sacc. Revista de Protección Vegetal 32(3):1-11. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v32n3/rpv03317.pdf>
- Dutta, P., M. Deb L., Debbarma, R.K., Patidar y M. Pathak. (2020). *Monilinia fructicola* (G. Winter) Honey as the first report of brown rot of peach (*Prunus persica* (L) Batsch.) from Meghalaya of North East India. Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry 9(4): 449-452.
- Edgar RC (2004). MUSCLE: multiple sequence alignment with high accuracy and high throughput. nucleic acids research 32(5): 1792–1797.
- EPPO Global Database. (2020). *Fusarium*. En línea: <https://gd.eppo.int/taxon/1FUSAG> (consulta: julio de 2020).

- Ezziyyani M, Requena ME, Egea GC, Candela ME (2007) Biological control of *phytophthora* root of pepper using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei*. *Combination*. Journal of phytopathology 155(6): 342–349.
- Fabrega, A., Agut, M. Y Calvo, M^a A. (2002). El género *Alternaria*: características morfológicas y capacidad de producción de micotoxina. Anales de la Real Academia de Doctores (6): 357-367. <https://www.radoctores.es/doc/1V6N2-calvo-generoalternaria.pdf>
- Fávaro, L. C. de L., de Melo, F. L., Aguilar-Vildoso, C. I., & Araújo, W. L. (2011). Polyphasic Analysis of Intraspecific Diversity in *Epicoccum nigrum* Warrants Reclassification into Separate Species. PLoS ONE, 6(8), e14828. doi: 10.1371/journal.pone.0014828
- FAO, Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. (2020). <http://www.fao.org/faostat/es/#data> (Consulta, junio 2020).
- FAOSTAT. (2024). Food and Agriculture Organization of the United Nations. <https://www.fao.org/faostat/en/#data/QCL> (consulta de julio 15, 2024).
- Feijóo-Vivas, K.; Bermúdez-Puga, S. A.; Rebolledo, H.; Figueroa, J. M.; Zamora, P. y Naranjo-Briceño, L. 2021. Bioproductos desarrollados a partir de micelio de hongos: Una nueva cultura material y su impacto en la transición hacia una economía sostenible. Bionatura. 6(1): 1637–1652. <https://doi.org/10.21931/rb/2021.06.01.29>
- Franco, M.M.D., Requia, P.F., Ferreira, F.A.C. y Antonioli, Z.I. (2012). *Trichoderma* Brazil: the fungus and the bioagent. Revista de Ciencias Agrárias 35: 274-288. <https://www.semanticscholar.org/paper/TRICHODERMA-IN-BRAZIL%3A-THE-FUNGUS-AND-THE-BIOAGENT-Machado-Parzianello/8753bed25298fb9bb7c5bfcc799b4d4273e9270e>
- Fernández MMR, Pérez GS, Parra QR, Mondragón JC, Roa DR, Zacatenco GMG, Chávez JML y Rumayor RAF. (2011). Variedades mejoradas y seleccionadas del durazno del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Campo experimental centro de ciencias de investigación región centro. Folleto técnico No. 15, Zacatecas, México. 36p. <http://zacatecas.inifap.gob.mx/publicaciones/varDurMInifap.pdf>
- Fira D, Dimkić I, Berić T, Lozo J, Stanković S (2018) Control biológico de fitopatógenos por especies de *Bacillus*. Journal of biotechnology 285: 44–55.

- Fletcher, I.A. (2019). Effect of temperature and growth media on mycelium growth of pleurotus ostreatus and ganoderma lucidum strains. Cohesive journal of microbiology and infectious disease, 2 (5): 1-5 <https://doi.org/10.31031/CJMI.2019.02.000549>
- Gal HI, Atanasova L, Komon ZM, Druzhinina IS, Viterbo A, Yarden O (2011). Marine isolates of *Trichoderma* spp. as potential halotolerant agents of biological control for arid-zone agriculture. Applied and environmental microbiology 77(15):5100–5109.
- Garrido FC, Cedano SC, Delgado JM, Neira SZ (2021) Actividad micoparasítica de nueve aislamientos de diferentes cepas de *Trichoderma* sp. sobre *Rhizoctonia solani* en frijol Caupí (*Vigna unguiculata* L.). Tayacaja 4(2): 59–65.
- Gato CY. 2010. Métodos de conservación y formulación de *Trichoderma harzianum* rifai. Revista de Fitosanidad. 14:189-195. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=209115199008>
- García, M.C.A., M. Acosta-Ramos, O. Vázquez-Martínez, M. Pérez-Sato, A. García, R.M. Acosta, M.O. Vázquez et al. (2017). Morphological, molecular and pathogenic diagnostic of fungi in lawn's root and neck in Mexico. Revista Phytion 86: 258-264.
- Gelain, J., N.A.Hamada y L.L.M. De Mio. (2022). Survival of pathogens after dormancy in apple tree twigs indicates potential risk as source of inoculum. Acta Scientiarum. Agronomy 44: 53816.
- Gerardo-Lugo, S.S., J.M. Tovar-Pedraza, S.S.N. Maharachchikumbura, M.A. Apodaca-Sánchez, K.C. Correia, C.P. Saucedo-Acosta et al. (2020). Characterization of *Neopestalotiopsis* Species Associated with Mango Grey Leaf Spot Disease in Sinaloa, Mexico. Journal in Pathogens 9 (10): 788.1-17.
- Guigón, L.C., Guerrero, P.V. (2010). Molecular Identification of *Trichoderma* spp. strains, *in vitro* growth rate and antagonism against plant pathogen fungi. Journal mexican of phytopatology 28:87-96. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v28n2/v28n2a2.pdf>
- Gómez, J.R., Villarreal, B.T., Vásquez, L.A., Arteaga, G.R.I y Osuna, G.J.A. (2017). Actividad esporicida de la solución electrolizada con pH neutro en hongos de importancia poscosecha. Revista Mexicana Ciencias Agrícolas 9(12): 3993-4007 https://www.researchgate.net/profile/Tania-Villarreal-Barajas/publication/337499295_Sporicidal_activity_of_neutral_electrolyzed_water_in_fu

ngi_of_postharvest_importance/links/5ddc49b5458515dc2f4dbcd5/Sporicidal-activity-of-neutral-electrolyzed-water-in-fungi-of-postharvest-importance.pdf

- González-León, Y., Ortega-Bernal, J., Anducho-Reyes, M. A., & Mercado-Flores, Y. (2022). *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. *Deleted Journal*, 25. <https://doi.org/10.22201/fesz.23958723e.2022.520>
- Gununu, P. R., Munhuweyi, K., Obianom, P. C., & Sivakumar, D. (2019). Assessment of eleven South African peach cultivars for susceptibility to brown rot and blue mould. *Scientia Horticulturae* 254:1–6. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2019.04.067>
- Grano-Maldonado, M. I., Ramos-Payan, R., Rivera-Chaparro, F., Aguilar-Medina, M., Romero-Quintana, J. G., Rodríguez-Santiago, A., & Nieves-Soto, M. (2021). First Molecular Characterization of *Colletotrichum* sp. and *Fusarium* sp. Isolated from Mangrove in Mexico and the Antagonist Effect of *Trichoderma harzianum* as an Effective Biocontrol Agent. *Plant Pathology Journal/The Plant Pathology Journal*, 37(5), 465-475. <https://doi.org/10.5423/ppj.oa.03.2021.0048>
- Grechi, I, Sauge-Collet M.H., Benoîtenoit Sauphanor, N.H, Rachid Senoussi, et al.. How does winter pruning affect peach tree- *Myzus persicae* interactions?. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 2008, 128 (3), pp.369-379. [ff10.1111/j.1570-7458.2008.00720.x](https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2008.00720.x). [ffhal-00857825f](https://doi.org/10.1111/j.1570-7458.2008.00720.x)
- Hall T.A. (1999). BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic acids symposium series* 41(49): 95-98.
- Heflish AA, Abdelkhalek A, Al-Askar AA Behiry SI (2021) Efectos protectores y curativos de *Trichoderma asperelloides* Ta41 en la pudrición de la raíz del tomate causada por *Rhizoctonia solani* Rs33. *Agronomía* 11(6): 1162.
- Hernández, G.R. (2005). Evaluación *in vitro* del hongo comestible *Pleurotus eryngii*: Efecto de diferentes suplementos orgánicos en el crecimiento micelial y producción de cuerpos fructíferos. *Revista Mexicana de Micología* 21:77-84. <https://doi.org/10.33885/sf.2005.3.960>

- Hernández-Amasifuen, A. D., Cortez-Lázaro, A. A., Argüelles-Curaca, A., y Díaz-Pillasca, H. B. (2022). Callogénesis *in vitro* de durazno (*Prunus persica* L.) var. Huayco rojo a partir de explantes foliares. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 23(1): e2032. https://doi.org/10.21930/rcta.vol23_num1_art:2032
- Hoyos, P.P y R.R.D. Zarate. (1985). Estudios etiológicos y epidemiológicos de la mancha blanca del "guanabano, *Annona muricata* L. en el valle del Cauca. *Acta Agronomica* 35(1) 81-92.
- Huang, R., Sun, W., Wang, L., Li, Q., Huang, S., Tang, L., ... & Hsiang, T. (2021). Identification and characterization of *Colletotrichum* species associated with anthracnose disease of banana. *Plant Pathology*, 70(8), 1827-1837. DOI: 10.1111/ppa.13426
- Hrustic, J., Mihajlovic, M., and Tanovic, B. (2023). Postharvest fungal pathogens of peach fruit in Serbia. *Acta Horticulturae* 1363: 187–192. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2023.1363.28>
- Hu MJ, Cox KD, Schnabel G, Luo CX (2011) *Monilinia* species causing brown rot of peach in China. *PLoS ONE* 6(9): Article e24990. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0024990>
- Hu, M.J., A. Grabke, y G. Schnabel. (2015). Investigation of the *Colletotrichum gloeosporioides* species complex causing peach anthracnose in South Carolina. *Journal In Plant Disease* 6: 797-805
- Imran I, Amanullah A, Arif M, Shah Z, Bari A (2020) Soil application of *Trichoderma* and peach (*Prunus persica* L.) residues possesses biocontrol potential for weeds and enhances growth and profitability of soybean (*Glycine max*). *Sarhad journal of agriculture* 36(1): 10-20.
- INIFAP, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. (2016) <https://www.gob.mx/inifap/prensa/inifap-promueve-variedades-de-durazno-en-el-oeste-de-chihuahua> (Consulta, junio 2020).
- Inglis PW, Mello SCM, Martins I, Silva JBT, Macêdo K, Sifuentes DN, Valadares IMC (2020) *Trichoderma* from Brazilian garlic and onion crop soils and description of two new species:

- Trichoderma azevedoi* and *Trichoderma peberdyi*. PLoS ONE 15(3): Article e0228485. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228485>
- Inoue, K., and Nasu, H. (2000). Black Spot of Peach Caused by *Alternaria alternata* (Fr.) Keissler. Journal of General Plant Pathology 66(1): 18–22). <https://doi.org/10.1007/pl00012916>
- Instituto Nacional de Estadística y Geografía (INEGI).(2021). Aspectos geográficos Chihuahua. https://inegi.org.mx/contenidos/app/areasgeograficas/resumen/resumen_08.pdf (Consultado enero de 2023).
- Iñiguez-Moreno, M., Sandoval-Contreras, T., Ragazzo-Sánchez, J. A., & Calderón-Santoyo, M. (2023). Modelado del crecimiento de hongos fitopatógenos aislados de frutos de aguacate Hass. *Acta de Ciencia en Salud*, (20). <https://actadecienciaensalud.cutonala.udg.mx/index.php/ACS/article/view/127>
- Iqbal, S., Abbas, A., Mubbenn, I., Sathish, M., Razaq, Z., Mubeen, M., Kamran, M., Haroon, M., Syed, S.-A., Naqvi, S.-A.-H., and Ahmed, M. A. A. (2022). Taxonomy, distribution, epidemiology, disease cycle and management of brown rot disease of peach (*Monilinia* spp.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 50(1):12630). <https://doi.org/10.15835/nbha50112630>
- Ipiates, J.J.P.; Pineda, I.J.A.; Barrigas, R.D.A.; Muñoz, P.F.A. y Pineda S.C.A.(2021). Producción del hongo-moho (*Trichoderma harzianum*): una revisión. *Revista de biorrefinería*. 4(4):1.-6. <https://www.cebaecuador.org/wp-content/uploads/2022/01/14.pdf>
- Ismail, A, Cirvilleri, G. and Polizzi G. (2013). Characterization and pathogenicity of *Pestalotiopsis uvicola* and *Pestalotiopsis clavispora* causing grey leaf spot of mango (*Mangifera indica* L.) in Italy. *Europe Journal Plant Pathology* 135:619-625. <https://doi.org/10.1007/s10658-012-0117-z>
- Iwamoto, K., S. Takamatsu, y M. Yamamoto. 2019. *Alternaria alternata* causing black spot of peach produces a host-specific toxin. *Journal of General Plant Pathology* 85(5): 395-400.
- Jahan, J.: Sabinha, S.; Adhikary, S.K.; Sanzida, R. y Suraiya Y. (2013). Evaluation Of The Growth Performance Of *Trichoderma harzianum* (Rifai.) On Different Culture Media. *Journal of Agriculture and Veterinary Science* 3(4):44-50. <http://www.iosrjournals.org/>

- Jakobija, I., B. Bankina, A. Klūga, A. Roga, E. Skinderskis, D. Fridmanis. (2022). The diversity of fungi involved in damage to Japanese quince. *Plants* (11)19: 2572.
- Jang S, Kwon SL, Lee H, Jang Y, Park MS, Lim YW, Kim C, Kim JJ (2018) New report of three unrecorded species in *Trichoderma harzianum* species complex in Korea. *Mycobiology* 46(3): 177–184.
- Jayawardena, R.S, Hyde, K.D, Chen, Y.J., Papp, V., Palla, B., Papp D., Bhunjun, C.S., Hurdeal, V.G., Senwana, C., Manawasinghe, I.S., Harischandra, D.L., Gautam, A.K., Avasthi, S., Chuankid, B., Goonasekara, I.D., Hongsanan, S, Zeng XY, Liyanage KK, Liu NG, Karunarathna A, Hapuararchchi KK, Luangharn T., Raspé, O., Brahamage, R., Doilom, M., Lee, H.B., Mei, L., Jeewon, R., Huanraluek. N., Chaiwan, N., Stadler, M., Wang, Y. (2020) One stop shop IV: taxonomic update with molecular phylogeny for important phytopathogenic genera 103:87–218. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00460-8>
- Jiang Y, Wang JL, Chen J, Mao LJ, Feng XX, Zhang CL, Lin FC. (2016). *Trichoderma* biodiversity of agricultural fields in east China reveals a gradient distribution of species. Kothe (Ed.), *PLOS ONE* 11(8): Article e0160613. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0160613>
- Kardam, V. K., A. Shukla, D.P. Sharma, y N. Kumar. (2021). Screening of germplasm of peach and nectarines against *Taphrina deformans*. *Indian Phytopathology* 74(3): 831-833.
- Karlsson, I., Edel-Hermann, V., Gautheron, N., Durling, M. B., Kolseth, A. K., Steinberg, C., ... & Friberg, H. (2016). Genus-specific primers for study of *Fusarium* communities in field samples. *Applied and environmental microbiology*, 82(2), 491-501. DOI: <https://doi.org/10.1128/AEM.02748-15>
- Kubicek, CH. P and Harman G.E. (2002). *Trichoderma glocadium*: basic biology taxonomy and genetics. First edition (Eds) Gams W and Bisett J., Editorial: Taylor and Francis Ltd, 1 Gunpowder Square, London, EC4A 3DE. https://books.google.es/books?hl=es&lr=&id=F01ZDwAAQBAJ&oi=fnd&pg=PA3&dq=morphology+of+the+genus+Trichoderma&ots=2_Qwvc52W9&sig=_z0ZL0AGYkaIRjl0a_YAsXDZdjU#v=onepage&q=morphology%20of%20the%20genus%20Trichoderma&f=false
- Kubicek CP, Steindorff AS, Chenthamara K, Manganiello G, Henrissat B, Zhang J, Cai F, Kopchinskiy AG, Kubicek EM, Kuo A, Baroncelli R, Sarrocco S, Noronha EF, Vannacci G,

- Shen Q, Grigoriev IV, Druzhinina IS (2019) Evolution and comparative genomics of the most common *Trichoderma* species. *BMC Genomics* 20(1): 485.
- Kumar, D., V. Ratan, A. Kumar, J.S. Kumar, J. Kumar, K. Pal y M. Kumar. (2021). Pathogenicity tests and antagonistic effect of bioagents on *Fusarium oxysporum* f. Sp. *Lycopersici* (FOL). *The Pharma Innovation Journal* 10(11): 1887-1891.
- Kumari, N., Radha, Kumar, M., Puri, S., Zhang, B., Rais, N., Pundir, A., Chandran, D., Raman, P., Dhumal, S., Dey, A., Senapathy, M., Kumar, S., Pokharel, B., Deshmukh, V., Damale, R. D., Thiyagarajan, A., Balamurgan, V., Sathish, G., . . . J. M. Lorenzo, (2023). Peach (*Prunus persica* (L.) Batsch) seeds and kernels as potential plant-based functional food ingredients: A review of bioactive compounds and health-promoting activities. *Food Bioscience*, 54, 102914. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102914>
- Kyei, S.; Dogbadze, E.; Tagoh, S. and Mwanza E.(2020). Unorthodox ophthalmic preparations on the Ghanaian market: a potential risk for ocular and enteric infections. *African Health Sciences*. 20(1):515-523. <https://creativecommons.org/licenses/by/4.0>
- Lahlali R, Mchachti O, Radouane N, Ezrari S, Belabess Z, Khayi S (2020). The potential of novel bacterial isolates from natural soil for the control of brown rot disease (*Monilinia fructigena*) on apple fruits. *Agronomy* 10:1814. <https://doi.org/10.3390/agronomy10111814>
- Lanfear R, Calcott B, Ho SYW, Guindon S (2012) Partition finder: combined selection of partitioning schemes and substitution models for phylogenetic analyses. *Molecular biology and evolution* 29(6): 1695–1701.
- Laurel, N. R., De Torres, R. L., Mendoza, J.-V. S., Balendres, M. A. O., and De la Cueva, F. M. (2021). Identification of *Epicoccum sorghinum* and its Effect on Stalk Sugar Yield. *Sugar Tech* 23(6): 1383–1392. <https://doi.org/10.1007/s12355-021-01017-y>
- Landa, B.B., Navas, C.J.A. y Montes, B.M. (2017). *Xylella fastidiosa* y la enfermedad de Pierce de la vid, ¿Una amenaza para la viticultura Española? *Revista de Phytoma España* 288: 1-15.
https://www.phytoma.com/images/pdf/2017/288_abril17_encuentro_vid_xylella_y_pierce.pdf
- Larqué, S.B.S., Sangerman-Jarquín, D.M., Ramírez, V.B., Navarro, B.A. Y Serrano F.M.E. (2009). Aspectos técnicos y caracterización del productor de durazno en el estado de

- México, México. Agricultura Técnica en México. 35(3): 305-313.
<https://www.scielo.org.mx/pdf/agritm/v35n3/v35n3a7.pdf>
- Lee, D. M., O. Hassan, y T. Chang. (2020). Identification, characterization, and pathogenicity of *Colletotrichum* species causing anthracnose of peach in Korea. *Journal of Mycobiology* 48(3): 210-218.
- Lenth R, Buerkner P, Giné VL, Herve M, Jung M, Love J, Miguez F, Riebl H, Singmann H (2022) diciembre 06). Emmeans: Estimated Marginal Means, Aka Least-Squares Means. <https://cran.r-project.org/web/packages/emmeans/emmeans.pdf>
- Liang, S.M.; Zheng, F.L.; Fathi Abd_Allah, E.; Muthuramalingam, P.; Wu, Q.-S. and Hashem, A. (2021). Spatial changes of arbuscular mycorrhizal fungi in peach and their correlation with soil properties. *Saudi Journal of Biological Sciences*: 28(11): 6495–6499. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.07.024>
- Lin, S., N.J. Taylor y F. Peduto Hand. (2018). Identification and characterization of fungal pathogens causing fruit rot of deciduous holly. *Plant Disease* 102(12): 2430-2445.
- López, F.U. del C., Brito, V. H., López, M. D., Salaya, D. J.M. y Gómez, M. E. (2017). Papel de *Trichoderma* en los sistemas agroforestales - cacao tal como un agente antagónico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20(1): 91-100. <https://www.redalyc.org/pdf/939/93950595003.pdf>
- López VBE, Armenta BAD, Hernández VS, Apodaca SMA, Samaniego GJA, Leyva MKY y Valdez OA. (2015). Selección in vitro e identificación de aislados de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. nativos para el control de *Phymatotrichopsis omnívora*. *Revista para la información técnica económica agraria* 111(4):310-325. <http://dx.doi.org/10.12706/itea.2015.020>
- López VB, Tzintzun CO, Armenta BA, Valenzuela EF, Lizárraga SG, Ruelas IJ, González MD (2022) Microorganismos del género *Trichoderma* productores de fitohormonas y antagonistas de fitopatógenos. *Bioagro* 34(2): 163–172.
- López, Z.S. P. y Z.J. Castaño. (2019). Manejo integrado del mal de Panamá [*Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. sp. cubense (E.F. SM.) W.C. Snyder y amp; H.N. Hansen]: una revisión. *Revista U.D.C.A Actualidad y amp; Divulgación Científica* 22: 1-13.
- López-Martínez, T. de los Á.; Páramo Aguilera, L. A. y Delgado Silva, H. D. (2022). Reproducción masiva de hongos *Trichodermas* previamente identificados de suelos nicaragüenses en

- diferentes sustratos orgánicos. Nexo Revista Científica. 35(03): 700–712. <https://doi.org/10.5377/nexo.v35i03.15000>
- Lugo M, Iriarte HJ, Crespo TML, Ontivero E, Risio LV, Menoyo E, Ballesteros SL (2018) Preparación de soluciones y colorantes. Manual de metodologías para el trabajo con hongos y sus simbiosis (1ª ed., Vol. 1, 54-61). San Luis: Nueva Editorial Universitaria.
- Luo, C.X., G. Schnabel, M. Hu, y A. De Cal. (2022). Global distribution and management of peach diseases. Journal In Phytopathology Research 4(30): 1-15.
- Mokobi F. (2020). *Fusarium* spp. En línea: <https://microbenotes.com/fusarium-spp/> (Consulta, junio 2023).
- Mancera, M. E.; Izquierdo, W. F.; Escalante, A.; Ibarra, J. E., y Barrera, J. (2018). Encapsulation of *Trichoderma harzianum* conidia as a method of conidia preservation at room temperature and propagation in submerged culture. Biocontrol Science and Technology. 29(2):107–130. <https://doi.org/10.1080/09583157.2018.1535053>
- Ma, G., Bao, S., Zhao, J., Sui, Y., & X. Wu, (2021). Morphological and molecular characterization of *Alternaria* species causing leaf blight on watermelon in China. *Plant Disease*, 105(1), 60-70. <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-20-0130-RE>
- Madrid-Molina, M., Pérez-Álvarez, S., Escobedo-Bonilla, C. M., & C. Urías-García, (2023). Application of *Trichoderma asperellum* in apple trees as a growth regulator and antagonist for the control of *Alternaria* sp. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 51(1), 13108. <https://doi.org/10.15835/nbha51113108>
- Manganaris, G. A., Minas, I., Cirilli, M., Torres, R., Bassi, D., & Costa, G. (2022). Peach for the future: A specialty crop revisited. *Scientia Horticulturae*, 305, 111390. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2022.111390>
- Martínez B, Infante D y Reyes Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista Protección Vegetal* 28:1-11. <https://repositorio.iica.int/bitstream/handle/11324/2647/BVE17038725e.pdf;jsessionid=F7934B62A9AD5FD1D322FC8CE25BDC09?sequence=1>
- Martínez DA, Buglione BM, Filippi MV, Reynoso LC, Rodríguez GE y Agüero MA. (2015). Evaluación del crecimiento micelial de *Pleurotus ostreatus* y *Agrocybe aegeritas* sobre

orujos de pera. *Revistas anales de biología* 37: 1-10.
<http://dx.doi.org/10.6018/analesbio.37.1>

Martínez, B., Infante, D. y Peteira B. (2015). Taxonomía polifásica y variabilidad en el género *Trichoderma*. *Revista de Protección Vegetal*. 30: 11-22.
<http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v30s1/rpv004s15.pdf>

Martini, C. and Mari, M. (2014). *Monilinia fructicola*, *Monilinia laxa* (*Monilinia* Rot, Brown Rot). Bautista- Baños S (ed). *Postharvest decay Control Strategies*. (pp. 233-258) Elsevier Inc.
<http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-411552-1.00007-7>

Martini, M., Musetti, R., Grisan, S., Polizzotto, R., Borselli, S., Pavan, F., & Osler, R. (2009). DNA-dependent detection of the grapevine fungal endophytes *Aureobasidium pullulans* and *Epicoccum nigrum*. *Plant Disease*, 93(10), 993-998. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-10-0993>

Mazrou YSA, Makhoulouf AH, Elseehy MM, Awad MF, Hassan MM (2020) Antagonistic activity and molecular characterization of biological control agent *Trichoderma harzianum* from Saudi Arabia. *Egyptian journal of biological pest control* 30(1): 1-8.

Meng, J., Guo, W., Zhao, Z., Zhang, Z., Nie, D., Tangni, E. K., and Han, Z. (2021). Production of *Alternaria* Toxins in Yellow Peach (*Amygdalus persica*) upon Artificial Inoculation with *Alternaria alternate*. *Toxins* 13(9): 656. <https://doi.org/10.3390/toxins13090656>

Mishra, S., Bhattacharjee, A., and Sharma, S. (2021). An Ecological Insight into the Multifaceted World of Plant-Endophyte Association. *Critical Reviews in Plant Sciences* 40(2) 127–146). <https://doi.org/10.1080/07352689.2021.1901044>

Mohammadi, A., & S. Bahramikia, (2019). Molecular identification and genetic variation of *Alternaria* species isolated from tomatoes using ITS1 sequencing and inter simple sequence repeat methods. *Current Medical Mycology*. <https://doi.org/10.18502/cmm.5.2.1154>

- Mondino, P. Alaniz, S. y Leoni C. (2010). Manejo integrado de las enfermedades del duraznero en Uruguay. Manual de manejo de plagas y enfermedades en frutales de carozo. Serie Actividades de difusión - INIA Las Brujas. <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/11720/1/sad-593-2009-p.47-86.pdf>
- Moreno, L.J.P., D.A.A. Prado y S.Y.A Herrera. (2018). Hongos fitopatógenos asociados a enfermedades foliares de *Cattleya*, *Miltoniopsis* y *Oncidium* en viveros de fusagasugá (Cundinamarca, Co). Revista de Fitopatología Colombiana 42(1): 13-16.
- Murray, M. y Altson, D. (2020). Plagas frutales de durazno y nectarina. Revista utahstate university 1: 1-6. https://digitalcommons.usu.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1940&context=extension_cultural
- Mulatu A, Megersa N, Abena T, Kanagarajan S, Liu Q, Tenkegna TA, Vetukuri RR (2022). Biodiversity of the genus *Trichoderma* in the rhizosphere of coffee (*Coffea arabica*) plants in Ethiopia and their potential use in biocontrol of coffee wilt disease. 2(2):120–141.
- Mulatu, A.; Alemu, T.; Megersa, N. and Vetukuri, R. R. (2021). Optimization of culture conditions and production of bio-fungicides from *Trichoderma* species under solid-state fermentation using mathematical modeling. Microorganisms 9(8): 1675. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081675>
- Nawaz K, Shahid AA, Bengyella L, Subhani MN, Ali M, Anwar W, Iftikhar S, Ali SW (2018) Diversity of *Trichoderma* species in chili rhizosphere that promote vigor and antagonism against virulent *Phytophthora capsici* scientia horticultrae 239: 242–252.
- Oliveira RSD, Martins A, Martins A LL, Nunes HV, Nunes BHDN, Chagas LFB, Chagas JAF (2021) Biocontrol *in vitro* of *Trichoderma* spp. to pathogens *Rhizoctonia solani*, *Fusarium oxysporium* and, *Curvularia lunata*. Revista de Ciências Agrárias 44(1): 61-70.
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAOSTAT) (2022, agosto 28). Producción mundial de cultivos <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC>
- Ogórek, R., Przywara, K., Piecuch, A., Cal, M., Lejman, A., & K. Matkowski, (2020). Plant–Fungal Interactions: A Case Study of *Epicoccum nigrum* Link. *Plants*, 9(12), 1691. <https://doi.org/10.3390/plants9121691>
- Onyango, E. A., Kituyi, S. N., Hunja, C. W., Kimatu, J. N., & E. N. Nyaboga, (2024). First time morphological and molecular isolation of *Epicoccum sorghinum* pathogenicity in the

- cassava brown leaf spot disease in Kenya. *Research Square (Research Square)*. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-4228831/v1>
- Orozco, S.M, Manzo, S.G., Guzmán, G.S, Farías, L.J. y Timmer, L.W. (2004). Crecimiento y Cambios Morfológicos de *Colletotrichum acutatum* Simmonds, Agente Causal de la Antracnosis del Limón Mexicano (*Citrus aurantifolia* Christm. Swingle) Incubado en Diferentes Medios. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:423-428. <https://www.redalyc.org/pdf/612/61222316.pdf>
- Özer, N., H.I. Uzun, B. Aktürk, C. Özer, M. Akkurt, y S. Aydın. (2021). Resistance assessment of grapevine leaves to downy mildew with sporulation area scoring. *European Journal of Plant Pathology* 160 (2): 337-348.
- Ozkilinc, H., G. Yildiz, E. Silan, K. Arslan, H. Guven, H.H. Altinok, R. Altindag y M.R. Durak. (2020). Species diversity, mating type assays and aggressiveness patterns of *Monilinia* pathogens causing brown rot of peach fruit in Turkey. *European Journal of Plant Pathology* 157(4): 799-814.
- Pakdamani BS (2013). Toward the quantification of confrontation (Dual Culture) Test: A case study on the biological control of *Pythium aphanidermatum* with *Trichoderma asperelloides*. *Journal of Biofertilizers & Biopesticides* 04(02): Article e1000137 <https://doi.org/10.4172/2155-6202.1000137>
- Panizo MM, Reviákina V, Montes W, González G (2005) Mantenimiento y preservación de hongos en agua destilada y aceite mineral. *Revista de la sociedad venezolana de microbiología* 25(1):35-40.
- Papp-Rupar, M., Olivieri, L., Saville, R., Passey, T., Kingsnorth, J., Fagg, G., McLean, H., & Xu, X. (2023). From Endophyte Community Analysis to Field Application: Control of Apple Canker (*Neonectria ditissima*) with *Epicoccum nigrum* B14-1. *Agriculture* 13(4): 809 <https://doi.org/10.3390/agriculture13040809>
- Perera, T.V.R.C.; Pakeerathan, K. and Nirosha, A.(2021). eco-friendly management common lab contaminant *Trichoderma* spp. in oyster mushroom production using agrobased industry's by-products. *Proceedings of the 5th International Conference on Climate Change* 5(1): 65-71 <https://doi.org/10.17501/2513258X.2021.5111>
- Pérez-Reyes M.CJ., Sánchez- Hernández G., Martínez – Flores R., Garza- Rivera J.L. y Espinoza Rodríguez J .(2023).Importancia del género *Alternaria*

https://masam.cuautitlan.unam.mx/mohos_toxigenos_unigras/alternaria.html#introduccion (Consulta julio, 2023).

- Pinzón, E.H., Morillo, C.A. and Fischer, G. (2014). Physiological aspects of peach (*prunus persica* [L.] Batsch) in the high tropical zone. a review. *Revista U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica* 17 (2): 401 – 411. <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v17n2/v17n2a11.pdf>
- Piwovarczuk, C.E. (2017). Podredumbre morena, “brown rot”. *Revista de Divulgación Técnica Agropecuaria, Agroindustrial y Ambiental. Facultad de Ciencias Agrarias.* 4 (2): 18-22. <http://revistafcaunlz.gramaweb.com.ar/wp-content/uploads/2017/07/piwovarczuk.pdf>
- Porras, F.D.; Anchondo, P.C.; González, A.A.; Piñón M.M.A. y Anchondo, A.A. (2021). Diagnosis, technology transfer and technical support for the development of family production units in the municipality of Morelos, Chihuahua. *Revista Biologica Agripecuaria Tuxpan* 9 (2):62-71. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v9i2.363>
- Puvača, N., Bursić, V., Vuković, G., Budakov, D., Petrović, A., Merkuri, J., Avantaggiato, G. and Cara, M. (2020). Ascomycete Fungi (*Alternaria* spp.) Characterization as Major Feed Grains Pathogens. *Journal of Agronomy, Technology and Engineering Management* 3(6), 499-505. [https://www.fimek.edu.rs/downloads/casopisi/jatem/issue/v3_6/01-\(1\)._Puvaca_et_al_2020_3\(6\)_499-505.pdf](https://www.fimek.edu.rs/downloads/casopisi/jatem/issue/v3_6/01-(1)._Puvaca_et_al_2020_3(6)_499-505.pdf)
- Philip, B., Behiry, S. I., Salem, M. Z. M., Amer, M. A., El-Samra, I. A., Abdelkhalek, A., & A. Heflish, (2024). *Trichoderma afroharzianum* TRI07 metabolites inhibit *Alternaria alternata* growth and induce tomato defense-related enzymes. *Scientific Reports*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-024-52301-2>
- Prencipe, S., Meloni, G. R., Nari, L., Schiavon, G., & D. Spadaro, (2023). Pathogenicity, molecular characterization, and mycotoxigenic potential of *Alternaria* spp. Agents of black spots on fruit and leaves of *pyrus communis* in Italy. *Phytopathology®*, 113(2), 309-320. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-22-0103-R>
- Quezada, G.A., Sánchez, E., Muñoz, E., Martínez, L.R. y Villalobos, E. (2008). Diagnosis of the microbiological quality of fruits and vegetables in Chihuahua, Mexico. *Revista internacional de botánica experimental* 77: 129-136. <https://doi.org/10.32604/phyton.2008.77.129>

- Quinchuqui, A. y Khaterine, L. (2017). Identificación morfológica y molecular de hongos causantes de enfermedades postcosecha del durazno (*Prunus persica*) de la variedad "Diamante" en la provincia de Pichincha. Revista de dispositorio dspace 21: 34-41 <http://repositorio.espe.edu.ec/handle/21000/12910>
- Rad, S. H., Ebrahimi, L., & H. Shahbazi, (2019). First record of *Epicoccum andropogonis* growing on *Paspalum dilatatum* ergot in Iran. *Mycologia Iranica*, 6(1), 49-54. <https://doi.org/10.22043/mi.2020.121093>
- Rai, D.; Ranjan R.K. and Kumar, M. (2023). Evaluation of local solid and liquid substrates for growth and sporulation of *Trichoderma asperellum*. The Pharma Innovation Journal. 12(3): 15-18. <https://www.thepharmajournal.com/archives/2023/vol12issue3/PartA/11-12-654-306.pdf>
- Ramírez, A.R., Sánchez, E.R., Chimal, C.Y. y Chan, M.D. (2011). Selección de *Bacillus* spp. con actividad antagónica *in vitro* contra *Macrophomina phaseolina* (tassi) goid. en diferentes medios de cultivo. Revista de Fitosanidad 15:117-121. <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209122297007.pdf>
- Ramírez CHF, Guadarrama MPC, Sánchez LV, Cuervo PJA, Ramírez RT, Dunlap CA, Valadez BR (2020) Biocontrol de *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum* por *Trichoderma asperelloides* y *Bacillus paralicheniformis* en plantas de tomate. *Antonie van Leeuwenhoek* 113(9): 1247–1261.
- Ramírez-Cariño, H. F., Guadarrama-Mendoza, P. C., Sánchez-López, V., Cuervo-Parra, J. A., Ramírez-Reyes, T., Dunlap, C. A., & R. Valadez-Blanco, (2020). Biocontrol of *Alternaria alternata* and *Fusarium oxysporum* by *Trichoderma asperelloides* and *Bacillus paralicheniformis* in tomato plants. *Antonie Van Leeuwenhoek*, 113(9), 1247-1261. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01433-2>
- Rhaim, A.I.R. (2014). Isolation of *Trichoderma* and evaluation of their antagonistic potential against *Alternaria porri*. *Journal of Phytopathology* 162:567–574. <https://doi.org/10.1111/jph.12228>

- Rebollar, R.S., Hernández, M.J. y González, R.F.J. (2009). Profitability and competitiveness of peach crop (*Prunus Pérsica*) in the southwest of state of Mexico. *Revista panorámica administrativo* (7)27-38.
<https://pistaseducativas.celaya.tecnm.mx/index.php/raites/article/viewFile/129/127>
- Ren, F.; Dong, W. and Yan, D.H. 2019. Organs, cultivars, soil, and fruit properties affect structure of endophytic mycobiota of pinggu peach trees. *Microorganisms*. 7(9): article e322.
<https://doi.org/10.3390/microorganisms7090322>
- Rios-Velsaco, C., Caro-Cisneros, J., Berlanga-Reyes, D., Ruíz-Cisneros, M. F., Ornelas-Paz, J., Salas-Marina, M., Villalobos-Pérez, E., & Guerrero-Prieto, V. (2015). Identification and antagonistic activity *in vitro* of *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. isolates against common phytopathogenic fungi. *Revista Mexicana de Fitopatología (En Línea)/Revista Mexicana de Fitopatología*. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1507-1>
- Ríos HTA, U-c VA, Evangelista MZ (2021) Biological control of *Fusarium oxysporum* causal agent of gladiolus corm rot by streptomycetes. *Mexican Journal of Phytopathology* 39(3): 391-413.
- Rivas, M.L. y Mühlhauser, M. (2014). *Alternaria* spp. *Revista Chilena Infectol* 31 (5): 605-606.
<https://scielo.conicyt.cl/pdf/rci/v31n5/art13.pdf>
- Ricci, A., Sabbadini, S., Prieto, H., Padilla, I. M., Dardick, C., Li, Z., Scorza, R., Limerá, C., Mezzetti, B., Perez-Jimenez, M., Burgos, L., and Petri, C. (2020). Genetic Transformation in Peach (*Prunus persica* L.): Challenges and Ways Forward. *Plants* 9(8): Article e971-
<https://doi.org/10.3390/plants9080971>
- Rodrigues, A.C.; Fontão, A.I.; Coelho, A.; Leal, M.; Soares da Silva, F.A.G.; Wan, Y.; Dourado, F. and Gama, M. (2019). Response surface statistical optimization of bacterial nanocellulose fermentation in static culture using a low-cost medium. *New Biotechnology*. 49:19–27. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2018.12.002>
- Rodríguez, T.; Morales D. y Ramírez, M. A.(2000). Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos cultivos tropicales. 21(2): 79-82.
<https://www.redalyc.org/pdf/1932/193215024014.pdf>
- Rodríguez, J., Vázquez, L., Flórez, A. B., & B. Mayo, (2023). *Epicoccum* sp. as the causative agent of a reddish-brown spot defect on the surface of a hard cheese made of raw ewe

- milk. *International Journal of Food Microbiology*, 406, 110401.
<https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2023.110401>
- Rojo-Báez, I., Álvarez-Rodríguez, B., García-Estrada, R. S., León-Félix, J., Sañudo-Barajas, A., & Allende-Molar, R. (2017). Situación actual de *Colletotrichums* spp. en México: Taxonomía, caracterización, patogénesis y control. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35(3):549-570. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1703-9>
- Romero RT, Acuña SJ, Azuara DA, Lázaro DMA, Monteon OA, Vargas MH, Secundin EY (2021) Identification and *in vitro* antagonism evaluation of native strains of *Trichoderma* spp. on phytopathogenic fungi associated with chalice spot in jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L). *Tropical and subtropical agroecosystems* 24(1): 1-10.
- Rubio TS, Osorio HE, Estrada DB, Silva EJHT, Rodríguez MMDL Nava JRA (2021) Biocontrol antagonista *in vitro* de *Fusarium oxysporum* y *Dickeya chrysanthemi*. *Revista Mexicana de Fitopatología* 39(3): 515-528.
- Ruschioni, S.; Loreto, N.; Foligni, R.; Mannozi, C.; Raffaelli, N.; Zamporlini, F.; Pasquini, M.; Roncolini, A.; Cardinali, F.; Osimani, A.; Aquilanti, L.; Isidoro, N.; Riolo, P. and Mozzon, M. 2020. Addition of olive pomace to feeding substrate affects growth performance and nutritional value of mealworm (*Tenebrio molitor* L.) Larvae. *Foods*. 9(3), article e317. <https://doi.org/10.3390/foods9030317>
- Ruta, C., M. Lambardi, y E.A. Ozudogru. (2020). Biobanking of vegetable genetic resources by *in vitro* conservation and cryopreservation. *Journal in Biodiversity and Conservation* 29(13): 3495-3532.
- Samiksha, A. and Kumar, S. (2021). Molecular Taxonomy, Diversity, and Potential Applications of Genus *Fusarium*. *Fungal Biology* (pp. 277–293). https://doi.org/10.1007/978-3-030-67561-5_8
- Sánchez, M.M.D., Moreno M.L.M. y Páramo, A.L.A. (2021). Morphological and molecular identification of native *Trichoderma* spp. isolated from soils of agricultural importance. *El Higo Revista Científica* 11(01):26-42. DOI: <https://doi.org/10.5377/elhigo.v11i1.11715>
- Santoyo, J.J.A. y Fundación Produce Sinaloa (FPS). (2012). Producción y manejo de durazno. *In* Pérez VL y González ME (eds). Consejo consultivo zona sur. El Rosario, Sinaloa, 19p. <https://www.fps.org.mx/portal/index.php/publicaciones/100-frutales/1318-produccion-y-manejo-de-durazno>

- SAS. Statistical Analysis System, [SAS Institute Inc]. 2011. JMP versión 9.0.1. Statistical Discovery. From SAS. USA: Author. A Business Unit of SAS Campus Drive Cary, NC 27513. https://www.sas.com/en_us/software/stat.html
- Statistical Analysis Software. (SAS), (2012). Users' Guide Statistics Version 9.4. SAS Institute Inc., Cary. <https://support.sas.com/software/94/>
- Savín MJ, Hernández MLG, Ceiro CW, Ávila QGD, Palacios EA, Ruiz EFH, Romero BM (2021) Caracterización morfológica y potencial de biocontrol de especies de *Trichoderma* aisladas de suelos semiáridos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 39(3): 435-451.
- Servicio Nacional de Sanidad Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA).(2023). https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/633031/Fusarium_spp__ma_z__2020.pdf (consulta, junio 2023)
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2022, septiembre 30). Producción nacional de durazno en México. https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. 2019. <https://www.gob.mx/siap/articulos/durazno-una-suave-caricia-al-paladar?idiom=es> (Consulta, junio 2020).
- SIAP. (2022). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/ (consulta julio 15, 2024).
- Sid, A.A.; Pérez, S.C.; Egea C. and Candela M.E.(1999). Evaluation of *Trichoderma harzianum* for controlling root rot caused by *Phytophthora capsici* in pepper plants. *Plant Pathology* 48: 58–65. <https://bsppjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1046/j.1365-3059.1999.00317.x>
- Singh, R.; Tomer, A.; Prasad, D. and Viswanath, H. S. (2020). Biodiversity of *Trichoderma* species in different agro-ecological habitats. *Soil Biology* 21–40. https://doi.org/10.1007/978-3-030-54758-5_2
- Silva, M. A. F.; De Moura, K. E.; De Salomão, D. and Patricio, F. R. A. (2018). Compatibility of *Trichoderma* isolates with pesticides used in lettuce crop. *Summa Phytopathologica* 44(2): 137–142. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/176873>
- Silva de OR, Borges ChLF, Lima MAL, Costa SM, Lima LL, Luane GF, Chagas JAF (2022). *Trichoderma* in the phytopathogenic biocontrol. *Bulgarian Journal of Agricultural Science* 28 (4): 717–724.

- Silva-Neto, J. A. D., Ambrósio, M. M. D. Q., Araújo, M. B. M., SILVA, R., Pinto, P. S. L., & Holanda, I. S. A. (2022). Morphological, molecular and pathogenic characterization of *Colletotrichum gloeosporioides* isolated from mango. *Revista Caatinga*, 35, 514-527. <https://doi.org/10.1590/1983-21252022v35n302rc>
- Shina, A.; Harshita, D.R; Sing, R.; Gouvind, R.S. and Verma, A. (2018). Comprehensive evaluation of *Trichoderma harzianum* and *Trichoderma viride* on different culture media & at different temperature and pH. *The Pharma Innovation Journal* 7(2): 193-195. <https://www.thepharmajournal.com/archives/2018/vol7issue2/PartC/7-2-8-168.pdf>
- Schnabel, G., & P. M. Brannen, (2022). Biology, epidemiology, and management of diseases of peach driving the spray program in the southeastern United States. *Scientia Horticulturae*, 295, 110818. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2021.110818>
- Sun, H. F., Jiang, X., Li, Z. L., Yan, Y., Wang, H., Yang, H. Y., Wei, M. Y., & N. Li, (2023). First report of *Alternaria* leaf blight caused by *Alternaria alternata* on *Phedimus aizoon* in China. *Plant Disease*, 107(4), 1243. <https://doi.org/10.1094/pdis-08-22-1923-pdn>
- Udayanga D, Miriyagalla SD, Herath IS, Castlebury LA, Fernandez HS, Manamgoda DS (2020) Foliar pathogenic fungi: growing threats to global food security and ecosystem health. *Ceylon Journal of Science* 49(5):337.
- Soria, B.J. (2010). Manual del duraznero Manejo integrado de plagas y enfermedades. In Alanis S, Mujica MV, Canessa S, Nuñez S, Leoni C, Paullier J, Maesso TDC, Scatoni I y (99^{ed.}). ISBN: 978-9974-38-288-6 <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/2796/1/18429300810095644.pdf>
- SNAVyMP, Sistema nacional argentino de vigilancia y monitoreo de plagas. 2019. *Prunus pérsica*. <https://www.sinavimo.gov.ar/cultivo/prunus-persica#:~:text=El%20Durazno%20Prunus%20persica%20L,de%20velocidad%20en%20el%20fruto>. (Consulta, junio 2020).
- Sutton, B.C. (1992) The genus *Glomerella* and its anamorph *Colletotrichum*. In: Bailey JA, Jeger MJ (eds) *Colletotrichum: biology, pathology and control*. BSPP/CAB International. Wallingford, UK, pp 1–26 [https://www.scirp.org/\(S\(lz5mqp453edsnp55rrgjct55.\)\)/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2694947](https://www.scirp.org/(S(lz5mqp453edsnp55rrgjct55.))/reference/referencespapers.aspx?referenceid=2694947)

- Summerell, B. A. (2019). Resolving *Fusarium*: Current Status of the Genus. In Annual Review of Phytopathology 57(1): 323–339. <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082718-100204>
- Sumida CH, Daniel JFS, Araujod APCS, Peitl DC, Abreu LM, Dekker RFH, Canteri MG (2018) *Trichoderma asperelloides* antagonism to nine *Sclerotinia sclerotiorum* strains and biological control of white mold disease in soybean plants. Biocontrol Science and Technology 28(2): 142–156.
- Schuster, A., and Schmoll, M. (2010). Biology and biotechnology of *Trichoderma*. Applied Microbiology and Biotechnology. 87(3): 787–799). <https://doi.org/10.1007/s00253-010-2632-1>
- Stamatakis A. (2006) RAxML-VI-HPC: maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. Bioinformatics (22)21: 2688–2690.
- Steffen G, Maldaner J, Steffen R, Saldanha C, Peccatti, A (2019). *Trichoderma asperelloides* promueve crecimiento inicial em mudas de *Corymbia citriodora*. Enciclopedia Biosfera 16(29): 1699–1708
- Statistical Analysis Software. (SAS).(2012). Users' Guide Statistics Version 9.4. SAS Institute Inc., Cary. <https://support.sas.com/software/94/>
- Taguiam, J. D., Evallo, E., and Balendres, M. A. (2021). *Epicoccum* species: ubiquitous plant pathogens and effective biological control agents. European Journal of Plant Pathology 159(4):713–725). <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02207-w>
- Talhinhas, P., and Baroncelli, R. (2021). *Colletotrichum* species and complexes: geographic distribution, host range and conservation status. Fungal Diversity 110(1):109–198). <https://doi.org/10.1007/s13225-021-00491-9>
- Tan, Q., Schnabel, G., Chaisiri, C., Yin, L.-F., Yin, W.-X., & Luo, C.-X. (2022). *Colletotrichum* species associated with peaches in China. Journal of Fungi 8(3): 313. <https://doi.org/10.3390/jof8030313>
- Thomas, L.M. and Gangadhara, N.B.(2017). Evaluation of different culture media, fungicides and bio control agents on the growth of *Phytophthora capsici* Leonian. causing foot rot of black pepper *in vitro*. Chemical Science Review and Letters 6(21), 279-286. Article CS092048024 https://chesci.com/wp-content/uploads/2017/01/V6i21_51_CS092048024_Narasimha_279-286.pdf

- Udhayakumar, R., S. Usharani y A. Muthukumar. (2019). Pathogenicity variation, morphological and cultural characteristic of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates. *Plant Archives* 19(1): 425-430.
- Umaña CJ, Orozco CS, Umaña CR, Molina BR (2018) Identificación molecular y características fisiológicas de aislamientos de *Trichoderma* para el biocontrol de dos patógenos en la piña. *Revista de Ciencias Ambientales* 53(1): 125.
- United States Department of Agriculture (USDA). Nomenclature Fact Sheets *Monilinia fructigena* and related brown fruit rots. Agricultural Research Services. https://nt.ars-grin.gov/sbmlweb/onlineresources/nomenfactsheets/rptBuildFactSheet_onLine.cfm?thisName=Monilinia%20fructigena%20and%20related%20brown%20fruit%20rots¤tDS=specimens (18 de febrero de 2023).
- Usman, H. M., Tan, Q., Karim, M. M., Adnan, M., Yin, W.-X., Zhu, F.-X., & Luo, C.-X. (2021). Sensitivity of *Colletotrichum fructicola* and *Colletotrichum siamense* of peach in China to multiple classes of fungicides and characterization of pyraclostrobin-resistant isolates. *Plant Disease* 105(11): 3459–3465. <https://doi.org/10.1094/pdis-04-21-0693-re>
- Varanda, C.M.R., Materatski, P., Landum, M., Campos, M.D., Félix, M.D.R. (2019) Fungal communities associated with peacock and cercospora leaf spots in olive. *Plan Theory* 8(6):169. <https://doi.org/10.3390/plants8060169>
- Vasić, M., Duduk, N., Vico, I., Rančić, D., Pajić, V., Backhouse, D. (2016). Comparative study of *Monilinia fructigena* and *Monilia polystroma* on morphological features, RFLP analysis, pathogenicity and histopathology. *European Journal of Plant Pathology* 144:15-30. <https://doi.org/10.1007/s10658-015-0740-6>
- Vázquez, L.A.; Tlapal, B.B.; Yáñez, M.M.J.; Pérez, P.R. y Quintos, E.M. (2009). Etiology of pepper wilt disease of 'chile de agua' (*Capsicum annum* L.) in Oaxaca, México. *Revista de Fitotecnia México* 32 (2): 127 – 134. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rfm/v32n2/v32n2a8.pdf>
- Velmourougane, K.; Prasanna, R.; Chawla, G.; Nain, L.; Kumar, A. and Saxena, A.K. (2019). *Trichoderma*-Azotobacterbiofilm inoculation improves soil nutrient availability and plant growth in wheat and cotton. *Journal of Basic Microbiology*. 59(6): 632–644. <https://doi.org/10.1002/jobm.201900009>

- von Arx, J.A. (1957) Die Arten der Gattung *Colletotrichum* Cda. *Phytopathol Z* 29:414–468
<https://www.scienceopen.com/document?vid=1e4e365a-8dbe-4e94-b803-647319f9d275>
- Voglmayr H, Akulov OY, Jaklitsch WM (2016) Reassessment of *Allantonectria*, phylogenetic position of *Thyronectroidea*, and *Thyronectria caraganae* sp. nov. *Mycological Progress* 15(9): 921–937
- Wang, Q., Fan, K., Li, D., Han, C., Qu, Y., Qi, Y., & Wu, X. (2020). Identification, Virulence and Fungicide Sensitivity of *Colletotrichum gloeosporioides* s.s. Responsible for Walnut Anthracnose Disease in China. *Plant Disease*, 104(5), 1358-1368. <https://doi.org/10.1094/pdis-12-19-2569-re>
- Wang, Y., Tu, Y., Chen, X., Jiang, H., Ren, H., Lu, Q., Wei, C., & W. Lv, (2024). Didymellaceae species associated with tea plant (*Camellia sinensis*) in China. *MycoKeys*, 105, 217-251. <https://doi.org/10.3897/mycokeys.105.119536>
- Watanabe, T.(2002).Pictorial atlas of soil and seed fungi : morphologies of cultured fungi and key to species/ Tsuneo Watanabe.—2nd ed. CRC PRESS. Boca Raton London New York Washington, D.C. ISBN 0-8493-1118-7
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor J (1990) Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics *PCR Protocols*. Elsevier 315–322.
- Wobbrock JO, Findlater L, Gergle D, Higgins JJ. (2011, mayo 11). The aligned rank transform for nonparametric factorial analyses using only anova procedures. In *Proceedings of the SIGCHI Conference on Human Factors in Computing Systems*. <https://doi.org/10.1145/1978942.1978963>
- Wu S, Zhen C, Wang K, Gao H (2019) Effects of *Bacillus subtilis* CF-3 VOCs combined with heat treatment on the control of *Monilinia fructicola* in peaches and *Colletotrichum gloeosporioides* in litchi fruit. *Journal of food science* 84(12): 3418–3428.
- Xu, X., Li, J., Yang, X., Zhang, L., Wang, S., Shen, G., ... & W. Xiang, (2022). *Epicoccum* spp. causing maize leaf spot in Heilongjiang Province, China. *Plant Disease*, 106(12), 3050-3060. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-21-1948-RE>
- Xu, Z., Xu, L., Liu, J., Chen, D., Cui, H., Xue, L., & C. Li, (2024). High diversity of *Epicoccum* species associated with leaf spot on Italian ryegrass in southwestern China: six new records and three new species. *Plant Disease*. <https://doi.org/10.1094/pdis-06-23-1044-re>

- Xu, X., Zhang, L., Yang, X., Li, J., Wang, X., Zhao, J., & W. Xiang, (2022). First report of maize stalk rot caused by *Epicoccum laticollum* on maize (*Zea mays*) in China. *Plant Disease*, 106(8), 2255. <https://doi.org/10.1094/pdis-11-21-2392-pdn>
- Yikilmazsoy, G., & Tosun, N. (2021). Characterization of *Fusarium sambucinum* isolates associated with potato dry rot and evaluation of cultivar susceptibility and fungicides. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, 45(2), 222-233. <https://doi.org/10.3906/tar-2006-100>
- Yin, L-F., Chen, S-N., Chen, G-K., Schnabel, G., Du S-F., Chen, C. (2015). Identification and characterization of three *Monilinia* species from plum in China. *Plant Disease* 99:1775-1783. <https://doi.org/10.1094/pdis-12-14-1308-re>
- Yin, L. F., Mo, W., Guo, D. Y., & Luo, C. X. (2020). First Report of Brown Rot of *Prunus mume* Caused by *Monilinia fructicola* in China. *Plant Disease*, 104(4), 1253. <https://doi.org/10.1094/pdis-09-19-1847-pdn>
- Yin, L., Zhang, S., Du, J., Wang, X., Xu, W., and Luo, C. (2021). *Monilinia fructicola* on loquat: An old pathogen invading a new host. *Journal of Integrative Agriculture* 20(7): 2009–2014 [https://doi.org/10.1016/s2095-3119\(20\)63375-5](https://doi.org/10.1016/s2095-3119(20)63375-5)
- Yudytska, I., & Klechkovskyi, Y. (2021). Species composition of harmful entomocomplex in peach orchards of Southern Ukraine. *Scientific Horizons*, 24(1), 61-67. [https://doi.org/10.48077/scihor.24\(1\).2021.61-67](https://doi.org/10.48077/scihor.24(1).2021.61-67)
- Zervakis G, Philippoussis A, Ioannidou S and Diamantopoulos P. (2001). Mycelium growth kinetics and optimal temperature conditions for the cultivation of edible mushroom species on lignocellulosic substrates. *Folia Microbiologica* 46:231-234.
- Zin NA, Badaluddin NA (2020) Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Annals of agricultural sciences* 65(2): 168–178.
- Zhang, N.; Xu, H.; Xie, J.; Cui, J.; Yang, J.; Zhao, J.; Tong, Y. and Jiang, J. (2021). Screening of cucumber *Fusarium* wilt bio-Inhibitor: high sporulation *Trichoderma harzianum* mutant cultured on moso bamboo medium. *Frontiers in Microbiology*. (12): article e763006 <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.763006>
- Zhang X, Wu F, Gu, N, Yan X, Wang K, Dhanasekaran S, Gu X, Zhao L, Zhang H (2020) Postharvest biological control of *Rhizopus* rot and the mechanisms involved in induced

- disease resistance of peaches by *Pichia membranefaciens*. *Postharvest biology and technology* 163: Article e111146. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2020.111146>
- Zhan Q, Wang N, Jin S, Tan R, Jiang Q, Wang Y (2018) ProbPFP: A multiple sequence alignment algorithm combining partition function and hidden markov model with particle swarm optimization. *IEEE International conference on bioinformatics and biomedicine (BIBM)* 1290-1295.
- Zhang, S., D. Xiang, C. Sun, K. Han, T. Li, J. Zhou y B. Xu. (2022). Morphological and molecular identification of peach brown rot disease in tibet and exploration of the biocontrol efficiency of *Trichoderma*. *Journal of Fungi* 8(11): 1174.
- Zhang, M., Zheng, X., Li, H., & F. Chen, (2023). *Alternaria alternata*, the causal agent of a new needle blight disease on *Pinus bungeana*. *Journal Of Fungi*, 9(1), 71. <https://doi.org/10.3390/jof9010071>
- Zhu, J. Z., Li, C. X., Zhang, C. J., Wang, Y., Li, X. G., and Zhong, J. (2019). *Fusarium solani* causing fruit rot of peach (*Prunus persica*) in Hunan, China. *Crop Protection* 122: 171–174. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2019.05.009>

CAPÍTULO 9. ANEXOS

ANEXO 1. Congreso de ciencias agrícolas 2021

Evaluación de patogenicidad de aislados nativos del sur de chihuahua en fruto del duraznero (*Prunus persica*).

Ceballos Chávez Ángel R¹, López Valenzuela Blanca E¹, Lizárraga Sánchez Glenda J²
Leyva Madrigal Karla Y², Saucedo Acosta Carlos P¹, Lujan-Holguín Ramiro³ y Félix
Gastelum Ruben²

Universidad Autónoma de Sinaloa, Calle 16 y Av. Japaraqui S/N, CP 8111, Juan José Ríos, Sinaloa México¹angel.cebillos.chavez@gmail.com.

Universidad Autónoma de Occidente-UR Los Mochis. Blvd. Macario Gaxiola y carretera Internacional, México 15, CP 81216, Los Mochis, Sinaloa, México.²

Universidad Tecnológica de la Tarahumara, Carr. Guachochi-Yoquivo, km. 1.5, Turuseachi, 33180, Guachohi, Chihuahua, México³.

Resumen

Entre las enfermedades que limitan la producción del duraznero en México se destacan Pudrición blanca de raíces, Marchitez del durazno, Tiro de munición Verrucosis, Cenicilla, Pudrición café, causando pérdidas mayores a 54.4% en *Prunus persica*. El objetivo de este trabajo fue evaluar la patogenicidad en fruto de durazno variedad amarillo con patógenos nativos en el sur de Chihuahua. Se realizó la obtención de aislados comprendiendo los municipios productores Guachochi, Morelos, Batopilas y Balleza, del sur de Chihuahua, durante los muestreos se recolectaron hojas y frutos con síntomas característicos al material fúngico; se aplicó la técnica de desinfección con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% por un minuto, después se colocó en cajas Petri con PDA para su crecimiento, una vez purificados los patógenos se realizó la prueba de patogenicidad en fruto, mediante la técnica de aspersion , con suspensiones de esporas entre 1×10^6 conidios. mL⁻¹ evaluado a través de escala de severidad mediante 5 grados según su posición y pudrición con 4 días para su determinación. Se obtuvieron 139 asilados identificados con el material fúngico, 65 correspondientes a Guachochi, 33 de Balleza, 28 de Morelos y 13 de Batopilas de los cuales 36 fueron patogénicos clasificados de la siguiente manera: 3 de nivel 1, 2 de nivel 2, 7 de nivel 3 y 24 nivel 4, con porcentajes de severidad entre 60% y 85.7%.

Palabras clave: Patógeno, durazno, aislado

Abstract

Among the diseases that limit peach production in Mexico are White root rot, Peach wilt, Ammunition shot, Verrucosis, Ash, Brown rot, causing losses greater than 54.4% in *Prunus persica*. The objective of this work was to evaluate the pathogenicity in yellow variety peach fruit with native pathogens in southern Chihuahua. Isolates were obtained, comprising the producing municipalities Guachochi, Morelos, Batopilas and Balleza, in southern Chihuahua. During the samplings, leaves and fruits with symptoms characteristic of fungal material were collected; The disinfection technique with sodium hypochlorite (NaClO) at 1% was applied for one minute, then it was placed in Petri dishes with PDA for its growth, once the pathogens were purified, the pathogenicity test was carried out on the fruit, using the technique of aspersion, with spore suspensions between 1×10^6 conidia. mL⁻¹ evaluated through a severity scale by means of 5 degrees according to its position and rot with 4 days for its determination. 139 isolates identified with the fungal material were obtained, 65 corresponding to Guachochi, 33 from Balleza, 28 from Morelos and 13 from Batopilas of which 36 were pathogenic to the yellow variety fruit classified as follows: 3 level 1, 2 level 2, 7 level 3 and 24 level 4, with severity percentages between 60% and 85.7%.

Keywords: Pathogen, peach, isolated.

Introducción

El durazno (*Prunus persica*) a nivel mundial ocupa el segundo lugar entre los cultivos de frutales con hueso, después de la nectarina, y el lugar 12 de frutales. Los principales países productores son: China, Italia, España y México (FAOSTAT, 2021) por su producción se encuentra lugar número seis siendo Chihuahua el principal productor con 34,194.00 t seguido de Michoacán con 27921.89 t (SIAP, 2021), sin embargo, se ve afectado por patógenos como *Coryneum beijerinckii*, *Taphrina deformans*, *Sphaeroteca pannosa*, *Monilinia frutícola*, *Tranzschelia discolor*, *Collectotrichum*, entre otros, dañando más del del 54.4% de la producción nacional (SIAP, 2021). El objetivo de este trabajo fue evaluar la patogenicidad en fruto de durazno variedad amarillo, con patógenos nativos en el sur de Chihuahua.

Materiales y métodos

El área de estudio comprendió la zona productora de durazno del sur del estado de Chihuahua. Para determinar el muestreo se usó la técnica propuesta por Bastida *et al.*, (2019), se realizaron cortes vegetativos de 2 a 4 mm² a partir del borde de las lesiones; se sumergieron en hipoclorito de sodio (NaClO) 1% por 1 minuto. El material vegetal se colocó en cajas Petri con PDA y se incubó a 25°C ± 1 en condiciones de oscuridad por 72 horas con discos miceliales de 12 mm de diámetro.

Para la prueba de patogenicidad se hicieron inoculaciones en fruto, con suspensiones de esporas entre 1x10⁶ conidios. mL⁻¹, con 5 mL mediante aspersion. Se mantuvieron en cámara húmeda a temperatura ambiente, haciendo observaciones diarias después de la inoculación, se realizaron 36 tratamientos, de los patógenos y un control en un diseño completamente al azar con cinco repeticiones por tratamiento (Ko, 2007). Para llevar a cabo el análisis de varianza (ANOVA) se utilizó una prueba paramétrica de acuerdo con el diseño experimental utilizando el método de comparación de medias de Tukey, (P < 0.05), empleando para ello el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS) v.9.4.

El control consistió en una cámara húmeda con frutos a la cual solo se le agregó agua destilada esterilizada evaluándose el daño mediante la escala de severidad 0= sin pudrición, 1=0% al 25% de la superficie, 2=25% al 50% de la superficie con podredumbre, 3=50% al 75% de putrefacción y 4= \geq 75% con putrefacción (Shiyuan *et al.*, 2019).

Resultados y discusión

Se obtuvieron 36 aislados los cuales fueron patogénicos al fruto clasificados de la siguiente manera: 3 de nivel 1, 2 de nivel 2, 7 de nivel 3 y 24 nivel 4, con porcentajes de severidad entre 60% y 85.7%, coincidiendo con los resultados obtenidos por Shiyuan *et al.*, 2019 en aislados de *Molinilia fruticula* en fruto de durazno en Shanghai, China.

Conclusiones

De los municipios muestreados, todos mostraron presencia de aislados patogénicos en diferentes niveles de severidad.

Literatura citada

Bastida, L.M., Gutiérrez, S.A., y Carmona, M. A.2019. Aislamiento y caracterización sintomática de *Pyricularia spp.* en arroz y otros hospedantes en la provincia de

Corrientes (Argentina). Summa Phytopathologica 45, 200-203. doi.org/10.1590/0100-5405/190957

Ko Y. 2007. First report of gray leaf spot of mango (*Mangifera indica*) caused by *Pestalotiopsis mangiferae* in Taiwan. Plant Disease 91, 16-84. doi.org/10.1094/PDIS-91-12-1684B

Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAO), 2021. Producción mundial de cultivos <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> (consultado, agosto de 2021).

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2021. Producción nacional de durazno en México, https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/ (consultado, agosto de 2021).

Shiyuan, W., Chaoying, Z., Ke W and Haiyan, G. (2019). Effects of *Bacillus Subtilis* CF-3 VOCs Combined with Heat Treatment on the Control of *Monilinia fructicola* in Peaches and *Colletotrichum gloeosporioides* in Litchi Fruit. Journal food science 0,1-11. doi: 10.1111/1750-3841.14949



ANEXO 2. Capítulo de libro
Aislamiento y control *in vitro* de fitopatógenos foliares del duraznero (*prunus persica* L) en el sur de Chihuahua.

Ceballos Chávez Ángel Rosario¹, López Valenzuela Blanca Elvira^{1*}, Lizárraga Sánchez Glenda Judith² Leyva Madrigal Karla Yeriana², Romero Félix Celia Selene¹, Hernández Payan Alexandro³ y Lujan Holguín Ramiro³

Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Av. Japaraqui y Calle 16 S/N, CP 81110, Juan José Ríos, Sinaloa México¹angel.ceballos.chavez@gmail.com blancalopezvzla@favf.mx*

Universidad Autónoma de Occidente-UR Los Mochis. Blvd. Macario Gaxiola y carretera Internacional, México 15, CP 81216, Los Mochis, Sinaloa, México.²

Universidad Tecnológica de la Tarahumara. Carr. Guachochi-Yoquivo, km. 1.5, Turuseachi, CP. 33180, Guachohi, Chihuahua, México³.

Resumen

Entre los hongos de mayor importancia que afectan la producción del duraznero en México se destacan *Taphrina deformans*, *Fusarium* sp. *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructicola*, *Alternaria* sp. causando pérdidas mayores a 42.70%. El objetivo de este trabajo fue determinar el nivel de antagonismo de cepas de *Trichoderma* spp. contra agentes causales de enfermedades foliares mediante confrontación *in vitro*. Se realizó la obtención de aislados comprendidos en el sur de Chihuahua, recolectando frutos con síntomas característicos al material fúngico; se aplicó la técnica de desinfección con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% por un minuto, después se colocó en cajas Petri con PDA para su crecimiento, una vez purificados los fitopatógenos se realizó la confrontación *in vitro*, de *Trichoderma* spp. vs *Collectotrichum* sp, *Fusarium* sp. *Epicoccum* sp, *Monilinia* sp, *Alternaria* sp., evaluando la capacidad antagónica a través de escala de interacción antagonista-patógeno con cinco grados (Bell et al., 1982), midiendo nivel de colonización, a los cuatro, seis, siete y nueve días para su determinación. Se obtuvieron 35 aislados identificados con el material fúngico, 12 correspondientes a Guachochi, 8 a Balleza, 12 a Morelos y 3 a Batopilas. Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza no paramétrica utilizando la prueba de Aligned Rank Transformation (ANOVA) obteniendo porcentajes de inhibición entre 57.5% y 85.7%. Resultando microorganismos colonizados

por cuatro cepas de *Trichoderma* spp. Se sugiere realizar evaluaciones de biocontrol a nivel invernadero y a campo abierto.

Palabras clave: *Trichoderma* sp, antagonismo, agente causal de enfermedades.

Abstract

Among the most important fungi that affect peach production in Mexico are *Taphrina deformans*, *Fusarium* sp. *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructicola*, *Alternaria* sp. causing losses greater than 42.70%. The objective of this work was to determine the level of antagonism of strains of *Trichoderma* spp. against causal agents of foliar diseases through in vitro confrontation. Isolates from the south of Chihuahua were obtained, collecting fruits with symptoms characteristic of fungal material; the disinfection technique was applied with sodium hypochlorite (NaClO) at 1% for one minute, then it was placed in Petri dishes with PDA for its growth, once the phytopathogens had been purified, the in vitro confrontation of *Trichoderma* spp. vs. *Collectotrichum* sp., *Fusarium* sp. *Epicoccum* sp, *Monilinia* sp, *Alternaria* sp., evaluating the antagonistic capacity through the antagonist-pathogen interaction scale with five degrees (Bell et al., 1982), measuring colonization level, at four, six, seven and nine days for its determination. 35 isolates identified with the fungal material were obtained, 12 corresponding to Guachochi, 8 to Balleza, 12 to Morelos and 3 to Batopilas. The results were subjected to a non-parametric analysis of variance using the Aligned Rank Transformation (ANOVA) test, obtaining inhibition percentages between 57.5% and 85.7%. Resulting microorganisms colonized by four strains of *Trichoderma* spp. It is suggested to carry out biocontrol evaluations at greenhouse and open field levels.

Keywords: *Trichoderma* sp, antagonism, causal agent of diseases.

Introducción

El durazno es el tercer cultivo arbóreo mundial económicamente importante (Obi et al., 2018), las causas de pérdidas de frutos en *Prunus persica* L. previo como posterior a la cosecha son generalmente de orden fisiológico y/o patogénico. En México se han presentado pérdidas con más de un 42.70% (SIAP, 2022), atribuido a las infecciones fúngicas más comunes y destructivas, causadas por hongos (Zapata et al., 2017; Obi et al., 2018).

En los últimos 10 años, ha aumentado gradualmente la resistencia hongos foliares fitopatógenos en el cultivo (Udayanga et al., 2020) y ha resultado en una pérdida de producción total del 30 al 50% de la industria del durazno en China (Yang et al., 2022).

El nacimiento del control biológico poscosecha inicio cuando Pusey y Wilson (1984) inocularon melocotones con *Bacillus subtilis* para el control de la pudrición parda causada por *Monilinia fructicola* durante la poscosecha (Zapata et al., 2017), otro de los microorganismos ha sido *Trichoderma* utilizado en el control biológico debido a su plasticidad ecológica, fácil producción a gran escala y eficiencia contra muchos patógenos de plantas (Cai y Druzhinina, 2021). El objetivo del presente trabajo fue determinar a nivel *in vitro* la capacidad antagónica de cepas de *Trichoderma* spp. contra agentes causales de enfermedades foliares del duraznero mediante la técnica de confrontación dual.

Materiales y métodos

Obtención de aislados: El área de estudio comprendió la zona productora de durazno del sur del estado de Chihuahua de los municipios de Morelos, Balleza, Batopilas y Guachochi. Se seleccionaron plantas de durazno de diferentes variedades (Amarillo, criollo, prisco y blanco) al azar, con un total de 35 puntos de muestreo.

Aislamiento: Se realizaron cortes vegetativos de 2 a 4 mm² a partir del borde de las lesiones; se sumergieron en hipoclorito de sodio (NaClO) 1% por 1 minuto. El material vegetal se colocó en cajas Petri con PDA y se incubo a 25°C ± 1 en condiciones de oscuridad por 72 horas con discos miceliales de 12 mm de diámetro Bastida et al., (2019).

Identificación morfológica de fitopatógenos y *Trichoderma* spp: Las características macro y microscópicas a considerar fueron textura de la colonia, presencia de micelio, anillos concéntricos, conidios, meso conidios tinción de la colonia al reverso, forma y tamaño de conidios y fiálides (este último en el caso de *Trichoderma* spp.)

Confrontación *in vitro*: La técnica de cultivos duales se empleó para determinar la actividad antagónica de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* sobre *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp., *Monilinia* sp. y *Colectotrichum* sp. (Andrade et al., 2019). En placas Petri con medio de cultivo PDA, con ayuda de un sacabocado se tomaron discos de 10 mm de diámetro con micelio del antagonista-patógeno y se colocaron en los extremos de la placa Petri a 6.0 cm de separación uno de otro, para evaluar, se midió el

crecimiento de cada organismo durante cuatro, seis, siete y nueve días. Los datos obtenidos se transformaron en una escala de capacidad antagónica (Bell et al., 1982) la cual consta de cinco clases: en la uno, el antagonista ocupa completamente la superficie del medio de cultivo cubriendo totalmente al patógeno; en la dos, el antagonista llega a sobrepasar las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo; en la tres, el antagonista y el patógeno colonizan cada uno aproximadamente la mitad de la superficie del medio y ninguno parece dominar al otro; en la cuatro, el patógeno sobrepasa al crecimiento del antagonista colonizando tres cuartas partes de la caja Petri y en la clase cinco, el agente fitopatógeno llega a cubrir totalmente el plato Petri (López et al., 2015).

Tasa de crecimiento micelial: En la determinación de la tasa de crecimiento de micelio en antagonistas y patógenos, crecidos en PDA, se realizaron mediciones cada 12 horas (Andrade et al., 2019).

Análisis estadístico: Los datos del PICR, expresados en porcentaje, se realizaron mediante la prueba de Aligned Rank Transformation ANOVA. Los datos obtenidos para cada uno de los ensayos se sometieron a un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$). Dichos datos se analizaron con el paquete estadístico R versión 2021

Resultados y discusión

Se obtuvieron 35 aislados los cuales fueron fitopatógenos, correspondientes a los municipios de Guachochi (12), Balleza (8), Morelos (12) y Batopilas (3) con condiciones climatológicas que oscilan entre -10 y 48 °C correspondientes a los géneros de fitopatógenos foliares de *Collectotrichum* sp., *Fusarium* sp., *Epicoccum* sp., *Monilinia* sp. y *Alternaria* sp.

De acuerdo a Yang et al., (2022), las estructuras de resistencia demuestran gran parte de presencia de los fitopatógenos en el sur de chihuahua.

Los aislados con mayor crecimiento corresponden al fitopatogeno *Epicccocum* sp, las cuales se desarrollaron en la misma cantidad de tiempo, cubriendo completamente la superficie de la caja.

Todas las cepas aisladas mostraron las clases 1 y 2 de antagonismo contra los patógenos de acuerdo a la escala de capacidad antagónica propuesta por Bell et al., (1982), y al análisis estadístico se observó diferencia significativa en cada uno de los

tratamientos (figura 1), las cepas de ambos bioensayos *in vitro* presentaron menor crecimiento en los aislados de la cepa uno con respecto al testigo, cabe mencionar que los cinco hongos fitopatógenos presentaron alto porcentaje de inhibición 57.5% y 85.7%.

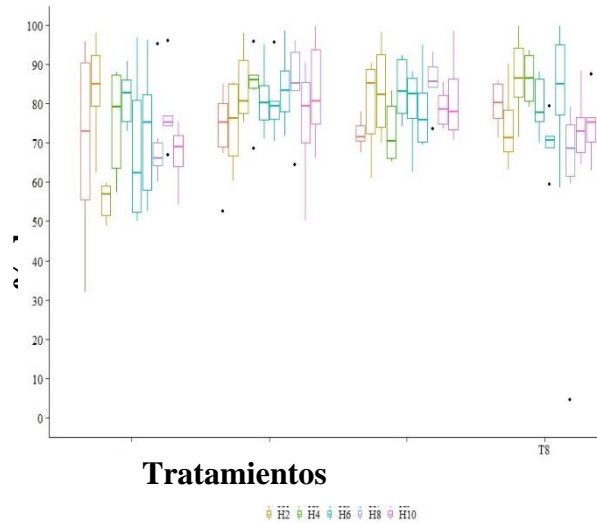


Figura 1. Porcentaje de inhibición de *Trichoderma* sp. contra patógenos de *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Colectotrichum* sp., y *Monilinia* sp.

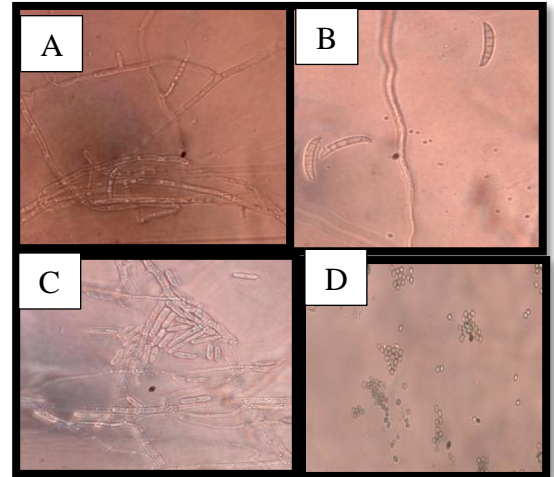


Figura 1. Morfología típica de fitopatógenos de esporas de *Epicoccum* sp (A)., mesoconidios de *Fusarium* sp (B)., micelio y conidios de *Colectotrichum* sp (C)., y esporas de *Monilinia* sp (D).

Conclusiones

De los municipios muestreados, se identificó la presencia de fitopatógenos en condiciones de competencia por espacio y nutrientes en evaluación *in vitro*. Las pruebas con microorganismos antagonistas- fitopatógenos, han demostrado la existencia de alternativas biológicas para el control de fitopatógenos foliares en el duraznero, por lo que se sugiere realizar evaluaciones de biocontrol en invernadero y a campo abierto.

Referencias bibliográficas

- Andrade Hoyos, P., Luna Cruz, A., Osorio Hernández, E., Molina Gayosso, E., Landero Valenzuela, N., y Barrales Cureño, H. J. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. In Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas (Vol. 10, Issue 6, pp. 1259–1272). Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326>
- Bastida, L.M., Gutiérrez, S.A., y Carmona, M. A. (2019). Aislamiento y caracterización sintomática de *Pyricularia* spp. en arroz y otros hospedantes en la provincia de

- Corrientes (Argentina). *Summa Phytopathologica* 45, 200-203. doi.org/10.1590/0100-5405/190957
- Bell, D. K., Well, H. D., and Markham, C. R. (1982). *In vitro* Antagonism of *Trichoderma* species against Six Fungal Plant Pathogens. *Phytopathology*, 72, 379-382. https://doi.org/10.1094 / Phyto-72-379
- Cai, F., and Druzhinina, I. S. (2021). In honor of John Bissett: authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. In *Fungal Diversity* (Vol. 107, Issue 1, pp. 1– 14 69). Springer Science and Business Media LLC. https://doi.org/10.1007/s13225-020- 00464-4
- López Valenzuela BE., Armenta Bojórquez, AD., Hernández Verdugo S., Apodaca Sánchez MA., Samaniego Gaxiola, JA., Leyva Madrigal KY. and Valdez Ortiz A. (2015). Selección *in vitro* e identificación de aislados de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. nativos para el control de *Phymatotrichopsis omnivora*. *Rev. Inf. Téc. Econ. Agr.*, 111(4), 310-325. https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5286156
- Obi, V. I., Barriuso, J. J., and Gogorcena, Y. (2018). Peach Brown Rot: Still in Search of an Ideal Management Option. In *Agriculture* (Vol. 8, Issue 8, p. 125). MDPI AG. https://doi.org/10.3390/agriculture8080125
- Pusey, P. L., and Wilson, C. L. (1984). Postharvest biological control of stone fruit brown rot by *Bacillus subtilis*. *Plant Diseases*, 68(9), 753-756. doi:10.1094/PD-69-753.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2021). Producción nacional de durazno en México, https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/ (consultado, agosto de 2022).
- Udayanga, D., Miriyagalla, S. D., Herath, I. S., Castlebury, L. A., Fernandez, H. S., and Manamgoda, D. S. (2020). Foliar pathogenic fungi: growing threats to global food security and ecosystem health. In *Ceylon Journal of Science* (Vol. 49, Issue 5, p. 337). Sri Lanka Journals Online (JOL). https://doi.org/10.4038/cjs.v49i5.780
- Yang, L., Wang, L., Cao, J., Zhu, Y., Zhang, L., Jin, W., Zhu, F., and Ji, Z. (2022). Molecular and Biological Characterization of Two New Species Causing Peach Shoot Blight in China. In *Plant Disease* (Vol. 106, Issue 1, pp. 182–189). Scientific Societies. https://doi.org/10.1094/pdis-05-21-1046-re

Zapata Y., Marina CA., Jijakli H., and Wisniewski M. (2017). Biological control of postharvest pathogens. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (agrosavia) 2 Gembloux Agro Bio-tech, Université de Liège 3 USDA-ARS, Appalachian Fruit Research Station. Pp.226-248 <https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/34060/CB%20CAP%20ITULO%203%20-%20WEB.pdf?sequence=5>



Zapopan, Jalisco a 24 de diciembre de 2022.

Ángel Rosario Ceballos Chávez
Autor

Presente.

Estimado Ángel Rosario Ceballos Chávez, me es grato comunicarle que su obra titulada: *Investigación en Ciencias Agrícolas. Desarrollo científico y tecnológico en la producción agrícola sustentable*, del que forma parte el capítulo de su autoría: "Aislamiento y control in vitro de fitopatógenos foliares del duraznero (*Prunus persica* L) en el sur de Chihuahua"; se evaluó con su previa autorización, por analistas de esta casa editorial, como: libro científico susceptible de ser publicable y comercializable.

El resultado fue altamente positivo por lo que le informo que se decidió editarlo y fue publicado con el I.S.B.N.: 978-84-19548-50-4, en su descripción de publicación electrónica-digital: descarga y online; detalle de formato: EPUB; con posibilidad de lectura sin conexión.

Se trata de una obra que por su calidad ha servido para crecer nuestro catálogo así como el acervo cultural de esta casa editorial.

Todo el personal que forma parte de esta empresa agradecemos la confianza depositada y su labor desempeñada.

Sin otro asunto que tratar al respecto quedo de usted:

Muy atentamente



José Rincón Valenzuela
Edición
Astra Ediciones SA de CV
Tel. móvil: 3336775025

Astra Ediciones SA de CV, Av. Acueducto #829, Col. Santa Margarita, C.P. 45140, Zapopan, Jalisco.
Tels: 33 38 34 82 36. www.astraeditorial.com.mx E-mail: edicion@astraeditorial.com.mx

5.1 Aislamiento y control in vitro de fitopatógenos foliares del duraznero (*Prunus persica* L.) en el sur de Chihuahua

Ceballos Chávez Ángel Rosario¹, López Valenzuela Blanca Elvira^{1}, Lizárraga Sánchez Glenda Judith², Leyva Madrigal Karla Yeriana², Romero Félix Celia Selene¹, Hernández Payan Alexandro³ y Lujan Holguín Ramiro³*

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Av. Japaraqui y Calle 16 S/N, CP 81110, Juan José Ríos, Sinaloa México. angel.cebillos.chavez@gmail.com blanca.lopezvzla@favf.mx*. ²Universidad Autónoma de Occidente-UR Los Mochis. Blvd. Macario Gaxiola y carretera Internacional, México 15, CP 81216, Los Mochis, Sinaloa, México. ³Universidad Tecnológica de la Tarahumara. Carr. Guachochi-Yoquiwo, km. 1.5, Turuseachi, C.P. 33180, Guachochi, Chihuahua, México





XXV Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas
25 años de desarrollo científico y tecnológico en la producción agrícola sustentable

Universidad Autónoma de Baja California
Instituto de Ciencias Agrícolas

Otorga la presente

CONSTANCIA

a

Ceballos Chávez Ángel Rosario, López Valenzuela Blanca Elvira, Lizárraga Sánchez Glenda Judith, Leyva Madrigal Karla Yeriana, Romero Félix Celia Selene, Hernández Payan Alexandro y Lujan Holguín Ramiro

Por su participación como PONENTES con el trabajo titulado
AISLAMIENTO Y CONTROL in vitro DE FITOPATÓGENOS FOLIARES DEL DURAZNERO (*Prunus persica* L.) EN EL SUR DE CHIHUAHUA

en la Modalidad Presentación oral de la temática **Parasitología Agrícola**.

Dr. Daniel González Mendoza
Director del Instituto de Ciencias Agrícolas

Dr. Carlos Enrique Al Calzím
Presidente del XXV Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas

Mexicali, Baja California, octubre de 2022
"Por la realización plena del ser"



Investigación en Ciencias Agrícolas

Resumen

Entre los hongos de mayor importancia que afectan la producción del duraznero en México se destacan *Taphrina deformans*, *Fusarium sp.*, *Botrytis cinerea*, *Monilinia fructicola*, *Alternaria sp.* causando pérdidas mayores a 42.70 %. El objetivo de este trabajo fue determinar el nivel de antagonismo de cepas de *Trichoderma spp.* contra agentes causales de enfermedades foliares mediante confrontación in vitro. Se realizó la obtención de aislados comprendidos en el sur de Chihuahua, recolectando frutos con síntomas característicos al material fúngico; se aplicó la técnica de desinfección con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1 % por un minuto, después se colocó en cajas Petri con PDA para su crecimiento, una vez purificados los fitopatógenos se realizó la confrontación in vitro, de *Trichoderma spp.* vs *Collectotrichum sp.*, *Fusarium sp.*, *Epicothium sp.*, *Monilinia sp.*, *Alternaria sp.*, evaluando la capacidad antagonista a través de escala de interacción antagonista-patógeno con cinco grados (Bell et al., 1982), midiendo nivel de colonización, a los cuatro, seis, siete y nueve días para su determinación. Se obtuvieron 35 aislados identificados con el material fúngico, 12 correspondientes a Guachochi, ocho a Balleza, 12 a Morelos y tres a Batopilas. Los resultados fueron sometidos a un análisis de varianza no paramétrica utilizando la prueba de Aligned Rank Transformation (ANOVA) obteniendo porcentajes de inhibición entre 57.5 % y 85.7 %. Resultando microorganismos colonizados por cuatro cepas de *Trichoderma spp.* Se sugiere realizar evaluaciones de biocontrol a nivel invernadero y a campo abierto.

Introducción

El durazno es el tercer cultivo arbóreo mundial económicamente importante (Obi et al., 2018), las causas de pérdidas de frutos en *Prunus persica* L. previo como posterior a la cosecha son generalmente de orden fisiológico y/o patogénico. En México se han presentado pérdidas con más de un 42.70 % (SIAP. 2022). atribuido a las infecciones fúngicas

ANEXO 3. Congreso SUMUCAAB 2022
Evaluación de patogenicidad de aislados nativos del sur de Chihuahua en hoja
del duraznero (*Prunus persica* L).

Ángel Rosario Ceballos-Chávez ¹, Blanca Elvira López-Valenzuela ^{1*}, Glenda Judith Lizárraga-Sánchez ² Karla Yeriana Leyva-Madrigal ², Fernando Albero Valenzuela-Escoboza¹, Carlos Arturo Rodríguez-Alarcón⁴ y Leidy Erisleida Chávez-García³

RESUMEN

Entre las enfermedades que limitan la producción del duraznero en México se destacan Pudrición blanca de raíces, Marchitez del durazno, Tiro de munición Verrucosis, Cenicilla, Pudrición café, causando pérdidas mayores a 42.70 % en *Prunus persica*. El objetivo de este trabajo fue evaluar la patogenicidad en hoja de durazno de las variedades amarillo, blanco y prisco con fitopatógenos nativos en el sur de Chihuahua. Se realizó la obtención de aislados comprendiendo los municipios productores Guachochi, Morelos, Batopilas y Balleza, del sur de Chihuahua, durante los muestreos se recolectaron hojas y frutos con síntomas característicos al material fúngico; se aplicó la técnica de desinfección con hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% por un minuto, después se colocó en cajas Petri con PDA para su crecimiento, una vez purificados los patógenos se realizó la prueba de patogenicidad en hoja, mediante la técnica de aspersion , con suspensiones de esporas entre 1×10^6 conidios. mL⁻¹ evaluado a través de escala de severidad mediante 4 grados según la insidencia y severidad en la parte aerea con siete días para su determinación. Para llevar a cabo el análisis de varianza (ANOVA) se utilizó una prueba paramétrica de acuerdo con el diseño experimental utilizando el método de comparación de medias de Tukey, (P < 0.05), empleando para ello el paquete estadístico Statistical Analysis System (SAS) v.9. 4. Se realizaron 36 aislamientos de hongos con diferentes características macroscópicas y microscópicas, se lograron identificar cinco aislados, los cuales fueron nombrados según las siglas de la colección de cultivos: *Colletotrichum* sp. LJ-M2-H, *Alternaria* sp. RS-M3-A1, *Fusarium* sp. BF-M1-A3, *Epicoccum* sp. SP-M2-A2, y *Monilinia* sp. Y-M1-F, clasificándose en el nivel de escala 2 para la variedad prisco y 3 para la variedad amarillo y blanco en los diferentes patógenos, con porcentajes de severidad que oscilan entre 45% a 100%.

Palabras clave: fitopatógeno, durazno, aislado, hoja.

ABSTRACT

Among the diseases that limit peach production in Mexico, white root rot, peach wilt, shot verrucosis, powdery mildew, and brown rot stand out, causing losses greater than 42.70% in *Prunus persica*. The objective of this work was to evaluate the pathogenicity in peach leaves of the yellow, white and prisco varieties with native phytopathogens in southern Chihuahua. Isolates were obtained from the producing municipalities of Guachochi, Morelos, Batopilas and Balleza, in southern Chihuahua. During the sampling, leaves and fruits with symptoms characteristic of fungal material were collected; the disinfection technique was applied with sodium hypochlorite (NaClO) at 1% for one minute, then it was placed in Petri dishes with PDA for its growth, once the pathogens had been purified, the pathogenicity test was performed on the leaf, using the technique of spray, with spore suspensions between 1×10^6 conidia. mL⁻¹ evaluated through a severity scale through 4 degrees according to incidence and severity in the aerial part with seven days for its determination. To carry out the analysis of variance (ANOVA), a parametric test was used according to the experimental design using Tukey's method of comparison of means, ($P < 0.05$), using the Statistical Analysis System (SAS) statistical package. v.9. 4. 36 isolates of fungi with different macroscopic and microscopic characteristics were made, five isolates were identified, which were named according to the initials of the culture collection: *Colletotrichum* sp. LJ-M2-H, *Alternaria* sp. RS-M3-A1, *Fusarium* sp. BF-M1-A3, *Epicoccum* sp. SP-M2-A2, and *Monilinia* sp. Y-M1-F, classified at scale level 2 for the prisco variety and 3 for the yellow and white variety in the different pathogens, with severity percentages ranging from 45% to 100%.

Keywords: Phytopathogen, peach, isolated, leaf.

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Av. Japaraqui y Calle 16 S/N, CP 81110, *Juan José Ríos, Sinaloa México*

²Universidad Autónoma de Occidente-UR Los Mochis. Blvd. Macario Gaxiola y carretera Internacional, México 15, CP 81216, Los Mochis, Sinaloa, México.

³Universidad Tecnológica de la Tarahumara. Carr. Guachochi-Yoquivo, km. 1.5, Turuseachi, CP. 33180, Guachohi, Chihuahua, México³.

4Universidad Autónoma de Ciudad Juárez- Instituto de Ciencias Biomedicas. Av. Bnejamin Franklin 4650, CP 32315, Ciudad Juarez, Chihuahua.

Autor de correspondencia: blancalopezvzla@favf.mx

SOMUCAAB
Sociedad Multidisciplinaria en Ciencias Agrícolas Aplicadas y Biotecnología A.C.

UNIVERSIDAD NACIONAL DE COLOMBIA
CENICANA
Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia

IB
Instituto de Biotecnología

UACAM
Universidad Autónoma de Campeche

CEDESU
Centro de Estudios de Desarrollo Sostenible y Aprovechamiento de la Vida Silvestre de la Universidad Autónoma de Campeche

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CIUDAD JUÁREZ

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SIMILCOA

La Sociedad Multidisciplinaria en Ciencias Agrícolas Aplicadas y Biotecnología A.C. La Universidad Nacional de Colombia. El Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia. La Asociación Colombiana de Fomento y Proyección de Cultivos. El Grupo de Investigación de Interacciones Biotécnicas. El Grupo de Investigación de Agronomía Sede Palmira. La Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte de la Universidad Autónoma de Similco. El Centro de Estudios en Desarrollo Sostenible y Aprovechamiento de la Vida Silvestre de la Universidad Autónoma de Campeche. El Departamento de Parasitología y Programa Docente de Ingeniería en Biotecnología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

Otorgan la presente

CONSTANCIA

Ángel Rosario Ceballos Chávez

Blanca Elvira López-Valenzuela, Glenda Judith Lizárraga-Sánchez, Karla Yeriana Leyva-Madrigal, Fernando Alberto Valenzuela-Escoboza, Carlos Arturo Rodríguez-Alarcón y Leidy Erisleida Chávez-García

Por su participación como **PONENTE** en el **IV CONGRESO INTERNACIONAL Y VI ENCUENTRO DE LA RED DE VINCULACIÓN SOMUCAAB 2022** - Modalidad virtual desarrollado los días 16, 17 Y 18 de noviembre de 2022; con el trabajo titulado:
Evaluación de patogenicidad de aislados nativos del sur de Chihuahua en hoja del duraznero (*Prunus persica* L)

"Sembrando conocimiento, cosechando desarrollo"

Dr. Fernando Alberto Valenzuela Escoboza
Director de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte
Universidad Autónoma de Similco

Dr. Marco Adán Juárez Verdades
Carrera de Ingeniería en Biotecnología
Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro

Dr. Mario Augusto García Dávila
Decano de la Facultad de Ciencias Agropecuarias
Universidad Nacional de Colombia Sede Palmira

Dr. Freddy Garcés
Director Centro de Investigación de la Caña de Azúcar de Colombia

Dra. Yolanda Rodríguez Pagaza
Presidente 2023-2023
SOMUCAAB A.C.

SOMUCAAB
Sociedad Multidisciplinaria en Ciencias Agrícolas Aplicadas y Biotecnología A.C.
R.F.C. A.C. 19027190

Mantel de Morelia No. 55, Col. Los Naranjales de Morelia, Morelia, Michoacán de Ocampo, México. Código Postal 58100. RFC: ACA190220JAV7. www.somucaab.com.mx • Telf.: (051) 7 703994

<https://somucaabac.webnode.mx>

ANEXO 4. Congreso de control biológico 2022
Actividad *in vitro* de cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de fitopatógenos foliares.

Ceballos-Chávez Ángel Rosario¹, López-Valenzuela Blanca Elvira^{1*}, Lizárraga-Sánchez Glenda Judith² Leyva-Madriral Karla Yeriana², López -Bautista Everardo¹, Hernández-Payan Alexandro³ y Lujan-Holguín Ramiro³

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Av. Japaraqui y Calle 16 S/N, CP 81110, *Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México*. Correo electrónico angel.ceballos.chavez@gmail.com ; blancalopezvzla@favf.mx*

²Universidad Autónoma de Occidente-UR Los Mochis. Blvd. Macario Gaxiola y carretera Internacional, México 15, CP 81216, Los Mochis, Sinaloa, México.

³Universidad Tecnológica de la Tarahumara. Carr. Guachochi-Yoquivo, km. 1.5, Turuseachi, CP. 33180, Guachochi, Chihuahua, México.

Resumen

En la actualidad el cuidado del medio ambiente es primordial, por lo que se disponen escasos fungicidas biológicos autorizados para su control, repercutiendo en una eficacia errática. El objetivo de este trabajo fue determinar la efectividad *in vitro* de control biológico de cepas de *Trichoderma* spp. contra fitopatógenos foliares en el cultivo de durazno (*Prunus persica* L). La evaluación de antagonismo se realizó mediante la técnica de confrontación por cultivos duales, de *Trichoderma* spp. vs *Collectotrichum* sp., *Fusarium* sp. *Epicoccum* sp., *Monilinia* sp., y *Alternaria* sp., evaluando la capacidad antagónica a través de escala de interacción antagonista-patógeno con cinco grados (Bell *et al.*, 1982), midiendo nivel de colonización, a los cuatro, seis, siete y nueve días para su determinación sometiénolo a un análisis de varianza no paramétrica utilizando la prueba de Aligned Rank Transformation (ANOVA) de los cuales se obtuvo la cepa con mayor grado de antagonismo. Con base a que la cepa 3 de *Trichoderma* spp. ejerce un control efectivo en el crecimiento de los patógenos a nivel *in vitro* en un 57.5% a 85.7%, respecto al control 100%, se sugiere realizar evaluaciones de biocontrol a nivel invernadero y a campo abierto.

Palabras clave: *Trichoderma*, antagonismo, enfermedades de plantas, microorganismos benéficos, nativas.

Introducción

En los últimos 10 años, ha aumentado gradualmente la resistencia a fitopatógenos foliares en el duraznero (Udayanga *et al.*, 2020) y ha resultado en una pérdida de la producción total del 30 al 50% de la industria del durazno (*Prunus persica* L) en China (Yang *et al.*, 2022).

Varios factores afectan el crecimiento y el rendimiento de los cultivos agrícolas; siendo uno de ellos el uso excesivo de agroquímicos, malas prácticas agrícolas y el mal manejo de los microorganismos (Imran *et al.*, 2020).

La aplicación de agentes de control biológico ha sido una alternativa a los fungicidas sintéticos (Moraes *et al.*, 2019) por lo que *Trichoderma* es uno de los microorganismos que ha sido utilizado en el control microbiano debido a su plasticidad ecológica, fácil producción a gran escala y eficiencia contra muchos patógenos de plantas (Cai y Druzhinina, 2021).

México es uno de los principales exportadores de durazno a nivel mundial y una de las limitantes para el desarrollo óptimo de este cultivo son las enfermedades fúngicas. En Chihuahua, son escasos los estudios realizados con respecto a la patogenicidad de enfermedades fúngicas; los cuales dan origen a síntomas severos desde plántulas hasta su vida de anaquel, estos agentes pueden afectar a las plantas en diferentes etapas fenológicas y disminuir su vida útil. Debido a lo anterior, es necesario probar la actividad antagónica *in vitro* de hongos benéficos como *Trichoderma* spp, contra los fitopatógenos favoreciendo con esta práctica la implementación de nuevas alternativas sustentables que contribuyan a la sanidad del cultivo y al medio ambiente.

El objetivo del presente trabajo fue determinar la efectividad *in vitro* de control biológico de cepas de *Trichoderma* spp contra fitopatógenos foliares en el cultivo de durazno.

Existen al menos dos géneros de patógenos presentes en el cultivo de durazno en el sur de Chihuahua, que muestren susceptibilidad a hongos antagónicos como *Trichoderma* spp.

Estos resultados científicos proveerán información a los productores que les permitirá tomar decisiones adecuadas y proporcionará alternativas sustentables para lograr un mayor rendimiento, mejorando la inocuidad del cultivo de durazno y reducir la

contaminación por agroquímicos del ambiente, favoreciendo el uso de *Trichoderma* spp. como estrategia de control biológico.

Materiales y métodos

Aislamiento de fitopatógenos: Se realizaron cortes vegetativos de 2 a 4 mm² a partir del borde de las lesiones; se sumergieron en hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% por 1 minuto. El material vegetal se colocó en cajas Petri con PDA y se incubó a 25°C ± 1 en condiciones de oscuridad por 72 horas con discos miceliales de 12 mm de diámetro (Bastida *et al.*, 2019).

Aislamiento de antagonistas: El área de estudio comprendió la zona productora de durazno del sur del estado de Chihuahua. Se seleccionaron al azar plantas de tres especies vegetales: durazno (*Prunus persica* L.) variedad amarilla y blanco, pino silvestre (*Pinus sylvestris*) y Madroño (*Arbutus unedo*), con un total de 10 puntos de muestreo, de todas las especies vegetales, se tomaron pequeños cortes de raíz, utilizadas como material de origen para el aislamiento de hongos del género *Trichoderma* spp., las muestras se tomaron a 15 cm de distancia respecto a la base del tallo de la planta y a 10 cm de profundidad (López *et al.*, 2015).

Confrontación *in vitro*: La técnica de cultivos duales se empleó para determinar la actividad antagónica de los diferentes aislamientos de *Trichoderma* sobre *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp., *Monilinia* sp. y *Colectotrichum* sp. (Andrade *et al.*, 2019). En cajas Petri con medio de cultivo PDA, con ayuda de un sacabocado se tomaron discos de 10 mm de diámetro con micelio del antagonista-patógeno y se colocaron en los extremos de la caja Petri a 6.0 cm de separación uno de otro, para evaluar, se midió el crecimiento de cada organismo durante cuatro, seis, siete y nueve días. Los datos obtenidos se transformaron en una escala de capacidad antagónica (Bell *et al.*, 1982) la cual consta de cinco clases: en la uno, el antagonista ocupa completamente la superficie del medio de cultivo cubriendo totalmente al patógeno; en la dos, el antagonista llega a sobrepasar las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo; en la tres, el antagonista y el patógeno colonizan cada uno aproximadamente la mitad de la superficie del medio y ninguno parece dominar al otro; en la cuatro, el patógeno sobrepasa al crecimiento del antagonista colonizando tres cuartas partes de la caja Petri y en la clase cinco, el agente fitopatógeno llega a cubrir totalmente la caja Petri (Bell *et al.*, 1982).

Producción masiva de *Trichoderma* spp. se usaron formulaciones de arroz + CaCO₃, como medio de propagación, a una temperatura de 5°C y 27°C. Para ello se vertió el arroz en agua común durante 24 h, después se lavó profundamente hasta eliminar el almidón; se agregó 500 g de arroz se resguardo en bolsas de polietileno y se esterilizaron a 121°C por 60 min; por último, se inocularon 15 mL de solución con *Trichoderma* mediante orificios con el uso de una aguja hipodérmica. Se mezcló diariamente *Trichoderma* spp. (Gato, 2010).

Análisis estadístico: Los datos del porcentaje de inhibición el crecimiento radial (PICR), se procesaron mediante la prueba de Aligned Rank Transformation ANOVA. Los datos obtenidos para cada uno de los ensayos se sometieron a un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$). Dichos datos se analizaron con el paquete estadístico R versión 2021.

Resultados

Se obtuvieron 10 aislados de los géneros de fitopatógenos foliares: *Collectotrichum* sp. (1 aislado), *Fusarium* sp. (2 aislados), *Epicoccum* sp. (4 aislados), *Monilinia* sp. (1 aislado). y *Alternaria* sp. (2 aislados).

Los aislados con mayor crecimiento corresponden al fitopatógeno *Epicoccum* sp, las cuales se desarrollaron en la misma cantidad de tiempo, cubriendo completamente la superficie de la caja Petri.

Todas las cepas de *Trichoderma* spp. aisladas mostraron las clases 1 y 2 de antagonismo contra los patógenos de acuerdo a la escala de capacidad antagónica propuesta por Bell *et al.*, (1982), y en el análisis estadístico se observó diferencia significativa en cada uno de los tratamientos (figura 1), las cepas de ambos bioensayos *in vitro* presentaron menor crecimiento en los aislados de la cepa 1 con respecto al testigo, cabe mencionar que *Trichoderma* spp. contra los cinco hongos fitopatógenos presentaron alto porcentaje de inhibición 57.5% a 85.7%.

Discusión

Los aislamientos de *Trichoderma* spp., mostraron un crecimiento más rápido que los patógenos, este comportamiento es promisorio en el control de patógenos foliares coincidiendo con los resultados obtenidos por Ferreira *et al.*, (2021) y Asis *et al.*, (2021),

además permitió este ensayo considerarlo para las pruebas de PICR y dar ventaja de tres días a cada uno de los patógenos. Coincidiendo con las metodologías aplicadas por Savin *et al.*, (2021) quienes comprobaron la efectividad de *T. koningii* comparada con *T. album*, *T. harzianum*, *T. hamatum* y *T. virens* en el control de *Fusarium oxysporum* obteniendo resultados ubicados en el grado 1 y 2 de la escala de Bell *et al.*, (1982) ubicando los resultados entre un 77.5 a 90% de inhibición.

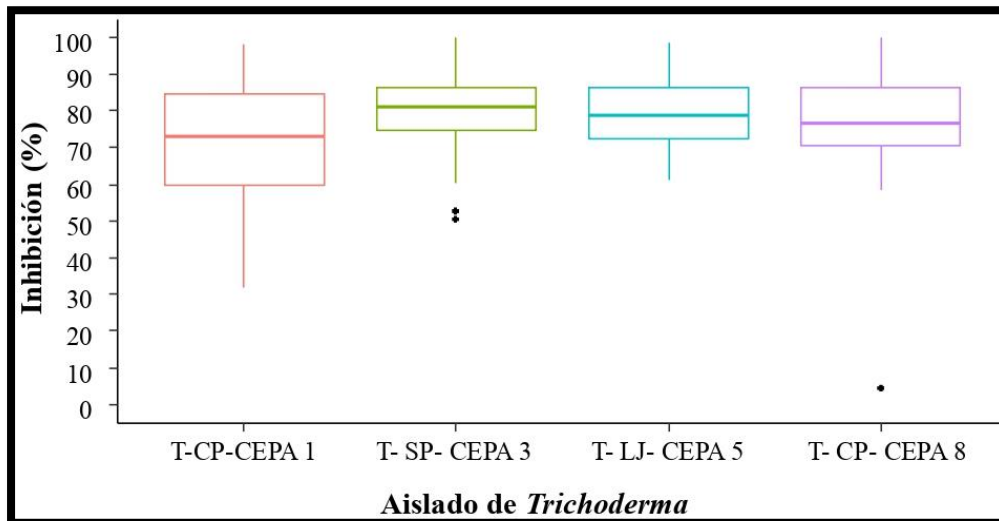


Figura 1. Porcentaje de inhibición de *Trichoderma* spp. contra los patógenos: *Epicoccum* sp., *Fusarium* sp., *Colectotrichum* sp., *Alternaria* sp. y *Monilinia* sp.

Agradecimientos

Agradezco a CONACyT quien me otorgó la beca de estudios de posgrado lo cual me permitió participar en esta investigación, así como también a la Universidad Autónoma de Sinaloa, Universidad Tecnológica de la Tarahumara y a la Universidad Autónoma de Occidente por proporcionar equipos tecnológicos para la ejecución de este trabajo.

Literatura citada

Andrade Hoyos, P., Luna Cruz, A., Osorio Hernández, E., Molina Gayosso, E., Landero Valenzuela, N., y Barrales Cureño, H. J. (2019). Antagonismo de *Trichoderma* spp. vs hongos asociados a la marchitez de chile. In Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas (Vol. 10, Issue 6, pp. 1259–1272). <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i6.1326>

- Asis, A., Ahmed Shahriar, S., Naher, L., Saallah Suryani, NF Hasan Nudin. and Kumar, V., · Siddiquee, S. (2021). Identification patterns of *Trichoderma* strains using morphological characteristics, phylogenetic analyses and lignocellulolytic activities. In *Molecular Biology Reports* (Vol. 48, Issue 4, pp. 3285–3301). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06321-0>
- Bastida, L.M., Gutiérrez, S.A., y Carmona, M. A. (2019). Aislamiento y caracterización sintomática de *Pyricularia* spp. en arroz y otros hospedantes en la provincia de Corrientes (Argentina). *Summa Phytopathologica* 45, 200-203. doi.org/10.1590/0100-5405/190957
- Bell, D. K., Well, H. D., and Markham, C. R. (1982). *In vitro* Antagonism of *Trichoderma* species against Six Fungal Plant Pathogens. *Phytopathology*, 72, 379-382. <https://doi.org/10.1094 / Phyto-72-379>
- Cai, F., and Druzhinina, I. S. (2021). In honor of John Bissett: authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. In *Fungal Diversity* (Vol. 107, Issue 1, pp. 1– 14 69). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s13225-020- 00464-4>
- Ferreira, Flavia, V. y Musumeci, Matías A. (2021). *Trichoderma* como agente de control biológico: alcance y perspectivas para mejorar la eficacia. En *World Journal of Microbiology and Biotechnology* (Vol.37, Número 5). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03058-7>
- Gato CY. (2010). Métodos de conservación y formulación de *Trichoderma harzianum* rifaí. *Revista de Fitosanidad*. 14:189-195. <http://scielo.sld.cu/pdf/fit/v14n3/fit08310.pdf>
- Imran, I., Amanullah, A., Arif, M., Shah, Z., & Bari, A. (2020). Soil Application of *Trichoderma* and Peach (*Prunus persica* L.) Residues Possesses Biocontrol Potential for Weeds and Enhances Growth and Profitability of Soybean (*Glycine max*). In *Sarhad Journal of Agriculture* (Vol. 36, Issue 1). ResearchersLinks Ltd. <https://doi.org/10.17582/journal.sja/2020/36.1.10.20>
- López Valenzuela BE., Armenta Bojórquez, AD., Hernández Verdugo S., Apodaca Sánchez MA., Samaniego Gaxiola, JA., Leyva Madrigal KY. and Valdez Ortiz A. (2015). Selección *in vitro* e identificación de aislados de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. nativos para el control de *Phymatotrichopsis omnivora*. *Rev. Inf. Téc.*

Econ. Agr., 111(4), 310-325.

<https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5286156>

Moraes Bazioli, J., Belinato, J. R., Costa, J. H., Akiyama, D. Y., Pontes, J. G. de M., Kupper, K. C., Augusto, F., de Carvalho, J. E., & Fill, T. P. (2019). Biological Control of Citrus Postharvest Phytopathogens. In *Toxins* (Vol. 11, Issue 8, p. 460). MDPI AG. <https://doi.org/10.3390/toxins11080460>

Savín-Molina, J., Hernández-Montiel, LG, Ceiro-Catasú, W., Ávila-Quezada, GD, Palacios-Espinosa, A., Ruiz-Espinoza, FH, y Romero-Bastidas, M. (2021). Caracterización morfológica y potencial de biocontrol de especies de *Trichoderma* aisladas de suelos semiáridos. En *Revista Mexicana de Fitopatología*, (Vol. 39, Número 3). <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2106-7>

Udayanga, D., Miriyagalla, S. D., Herath, I. S., Castlebury, L. A., Ferdinandez, H. S., and Manamgoda, D. S. (2020). Foliar pathogenic fungi: growing threats to global food security and ecosystem health. In *Ceylon Journal of Science* (Vol. 49, Issue 5, p. 337). Sri Lanka Journals Online (JOL). <https://doi.org/10.4038/cjs.v49i5.780>

Yang, L., Wang, L., Cao, J., Zhu, Y., Zhang, L., Jin, W., Zhu, F., and Ji, Z. (2022). Molecular and Biological Characterization of Two New Species Causing Peach Shoot Blight in China. In *Plant Disease* (Vol. 106, Issue 1, pp. 182–189). Scientific Societies. <https://doi.org/10.1094/pdis-05-21-1046-re>



ANEXO 5. 3er Congreso Nacional de Cuerpos Académicos, Investigación y Posgrado 2022
Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. contra patógenos asociados al cultivo del duraznero (*Prunus persica* L.).

***In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against pathogens associated with the cultivation of peach trees (*Prunus persica* L.).**

Eje temático 3: Ciencias Naturales, Agropecuarias y de la salud

Modalidad: Presencial

Autores:

¹ y ²Ceballos Chávez Ángel Rosario- Universidad Tecnológica de la Tarahumara, Guachochi, Chihuahua, México, y Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte (FAVF) Ahome, Sinaloa, México angel.ceballos.chavez@gmail.com

¹ López Valenzuela Blanca Elvira - Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte (FAVF) Ahome, Sinaloa, México, blancalopezvzla@favf.mx

³Lizárraga Sánchez Glenda Judith- Universidad Autónoma de Occidente-UR Los Mochis, Los Mochis, Sinaloa, México glenda.lizarraga@udo.mx

³Leyva Madrigal Karla Yeriana- Universidad Autónoma de Occidente-UR Los Mochis, Los Mochis, Sinaloa, México yeriana.leyva@uadeo.mx

²Lujan-Holguín Ramiro- Universidad Tecnológica de la Tarahumara, Guachochi, Chihuahua, México, rlujan@uttarahumara.edu.mx

Antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. contra patógenos asociados al cultivo del duraznero (*Prunus persica* L.).

***In vitro* antagonism of *Trichoderma* spp. against pathogens associated with the cultivation of peach trees (*Prunus persica* L.).**

Resumen

En México se siembran más de 33,121.21 hectáreas de durazno (*Prunus persica* L.); es un cultivo altamente redituable y representa una actividad económica de

importancia nacional. Actualmente, enfrenta graves problemas fitosanitarios por la presencia de enfermedades, que limitan su producción causando pérdidas mayores a un 54.4%, para su minimización se han desarrollado alternativas del control biológico de fitopatógenos como mejor opción amigable con el ambiente. El objetivo de este estudio fue determinar el nivel antagonico de cepas nativas de *Trichoderma* spp. contra agentes causales foliares mediante cultivos duales. Se seleccionaron plantas de tres especies de vegetales: durazno (*Prunus persica* L.) variedad amarilla y blanco, pino silvestre (*Pinus sylvestris*) y Madroño (*Arbutus unedo*) al azar, todos presentes en la región sur del estado de Chihuahua, con un total de 10 puntos de muestreo. Se evaluaron cuatro aislamientos contra 10 fitopatógenos, sometiéndolos a un análisis de varianza no paramétrica utilizando la prueba de Aligned Rank Transformation (ANOVA). Los cuatro hongos antagonistas presentaron alto porcentaje de inhibición, la cepa uno mostró el 77.25% y cepa ocho 78.80%, cepa tres 85.20% y cepa cinco 83.55%. Resultando microorganismos antagonicos eficientes contra los fitopatógenos. Se sugiere realizar evaluaciones de biocontrol en invernadero y a campo abierto.

Palabras clave: Patógeno, antagonista, durazno.

Abstract

In Mexico, more than 33,121.21 hectares of peach (*Prunus persica* L) are planted; it is a highly profitable crop and represents an economic activity of national importance. Currently, it faces serious phytosanitary problems due to the presence of diseases, which limit its production causing losses greater than 54.4%, for its minimization alternatives of biological control of phytopathogens have been developed as the best environmentally friendly option. The objective of this study was to determine the antagonistic level of native strains of *Trichoderma* spp. against foliar causal agents through dual cultures. Plants of three vegetable species were selected: peach (*Prunus persica* L.) yellow and white variety, Scots pine (*Pinus sylvestris*) and Madroño (*Arbutus unedo*) at random, all present in the southern region of the state of Chihuahua, with a total of 10 sampling points. Four isolates against 10 phytopathogens were evaluated, subjecting them to a non-parametric analysis of variance using the Aligned Rank Transformation (ANOVA) test. The four antagonistic fungi presented a high percentage of inhibition, the strain one showed 77.25% and strain eight 78.80%, strain three 85.20% and strain five 83.55%. Resulting efficient antagonistic microorganisms against

phytopathogens. It is suggested to carry out biocontrol evaluations in the greenhouse and in the open field.

Keywords: Pathogen, antagonist, peach.

1. Introducción

El durazno (*Prunus persica*) a nivel mundial ocupa el segundo lugar entre los cultivos de frutales con hueso, después de la nectarina, y el lugar 12 de frutales (FAOSTAT, 2021) no obstante; las enfermedades de las plantas presentan pérdidas significativas con más de un 54.4% de rendimiento en los cultivos, lo que lleva a serios problemas económicos y sociales (SIAP, 2021); los hongos que causan enfermedades foliares se encuentran con frecuencia en la naturaleza y son biológica y ecológicamente destructivos (Udayanga *et al.*, 2020); en los últimos años, el interés en el control biológico de patógenos de plantas ha aumentado de manera considerable, debido a la necesidad de introducir alternativas más respetuosas con el medio ambiente ante el uso masivo de plaguicidas químicos (Fira *et al.*, 2018) como control de patógenos en vegetales (Mazrou *et al.*, 2020), *Trichoderma* ha sido ampliamente utilizado en el control biológico debido a su plasticidad ecológica, fácil producción a gran escala y eficiencia contra muchos patógenos de plantas (Cai y Druzhinina, 2021; Inglis, *et al.*, 2020). El objetivo del presente trabajo determinar el nivel antagónico de cepas nativas de *Trichoderma* spp. contra agentes causales foliares mediante cultivos duales.

2. Desarrollo

2.1 Marco teórico

Los patógenos de las plantas, como virus, bacterias, hongos y nematodos, infectan los cultivos en el campo o en el almacenamiento posterior a la cosecha, causando importantes pérdidas de producción de productos básicos agrícolas y presentando un riesgo para los alimentos producidos anualmente en el mundo (Savary *et al.*, 2019). El control biológico y el uso de organismos vivos (antagonistas) para reducir los patógenos actividad, es un enfoque prometedor en la gestión de la planta enfermedades, comparado con los pesticidas químicos, el biocontrol no genera resistencia en patógenos, no contamina el medio ambiente, previene la proliferación de plagas, es compatible con la producción ecológica y cumple los requisitos de los

mercados rentables con respecto al máximo límites de residuos químicos en frutas y verduras (Ferreira *et al.*,2021).

Clasificación taxonómica de *Trichoderma* spp.

Las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidos por hongos debido a su inocuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, así como a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos (Santana y Castellanos, 2018).

Actualmente según Argumedo *et al.* (2009) la clasificación taxonómica del género *Trichoderma* representan un grupo de hongos filamentosos los cuales pertenecen a:

Reino: Mycetae (fungi)

División: Eumycota

Clase: Ascomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocraceae

Género: *Trichoderma*

Mecanismos de acción de *Trichoderma* spp.

En la acción biocontroladora de *Trichoderma* se han descrito diferentes mecanismos de acción que regulan el desarrollo de los hongos fitopatógenos, entre éstos, los principales son la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis por medio de enzimas o la producción de metabolitos secundarios, e inducción de los sistemas de defensa en la planta (Guigón-Guerrero, 2010). Los anteriores tienen una acción directa frente al hongo fitopatógeno, estos mecanismos se ven favorecidos por la habilidad de los aislamientos de *Trichoderma* para colonizar la rizosfera de las plantas (Harman, 2006; Gajera *et al.*, 2012) y la producción de compuestos inhibidores, además se conoce que *Trichoderma* presenta otros mecanismos, cuya acción biorreguladora es de forma indirecta, entre estos se pueden mencionar los que elicitán o inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos

como es la activación en la planta de compuestos relacionados con la resistencia (inducción de resistencia), con la detoxificación de toxinas excretadas por patógenos y la desactivación de enzimas (Infante *et al.*, 2009; Nakkeeran *et al.*, 2018; Burhanah *et al.*, 2019).

Ciclo de vida de *Trichoderma* spp.

Trichoderma es un hongo aeróbico, con capacidad para resistir un amplio intervalo de temperaturas con crecimiento desde 4°C hasta 41°C dependiendo la especie, su mayor colonización es de 20-30°C, por lo que temperaturas entre 10°C a 15°C existe baja disponibilidad de nutrientes esenciales, la luz y su espectro influyen en el desarrollo, fundamentalmente sobre la esporulación. Pueden crecer en suelos con pH desde 5.5 a 8.5, aunque los valores óptimos se encuentran entre 5.5 a 6.5 es decir, en un ambiente ligeramente ácido, se activa con la presencia de humedad, con óptimo de 60% de la capacidad de retención de humedad del suelo.

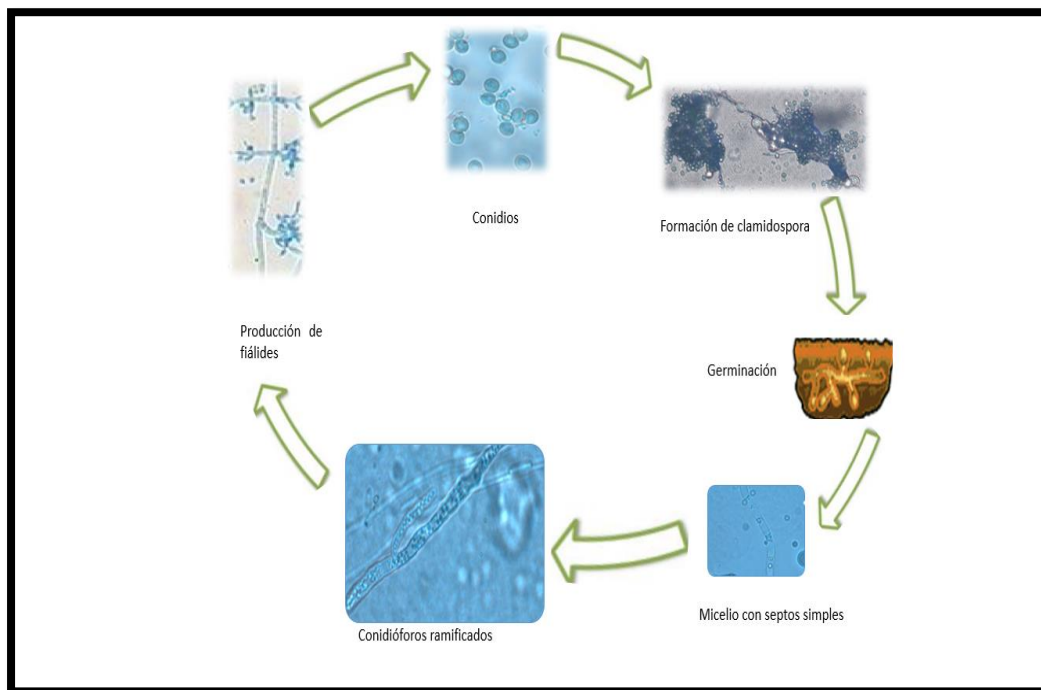


Figura 1. Ciclo de vida asexual de *Trichoderma* spp. (Franco *et al.*, 2012; Martínez *et al.*, 2013; Ceballos *et al.*, 2021).

2.2 Planteamiento del problema

Siendo Chihuahua uno de los principales estados productores de durazno en México y que en estudios recientes se ha determinado la presencia de agentes fitopatógenos que lo afectan a nivel mundial, sin embargo, en la zona sur del estado no se cuenta con reportes realizados por investigaciones relacionadas con este cultivo, por lo cual pertinente realizar pruebas de antagonismo *in vitro* que permitan buscar alternativas eficaces para combatir los fitopatógenos foliares como lo son: *Epicoccum* spp *Fusarium* spp., *Colectotrichum* spp. y *Monilinia* spp, los cuales afectan a *Prunus persica*, ante estas circunstancias se propone el uso de control biológico como lo es *Trichoderma* spp siendo ampliamente estudiado como agente de control, el cual actúa con mecanismos de acción lo que le permite controlar su crecimiento por competencia directa por espacio y nutrientes, producción de metabolitos, antibióticos y parasitismo.

2.3 Método

Obtención de aislados

El área de estudio comprendió la zona productora de durazno del sur del estado de Chihuahua. Se seleccionaron plantas de tres especies de vegetales: durazno (*Prunus persica* L.) variedad amarilla y blanco, pino silvestre (*Pinus sylvestris*) y Madroño (*Arbutus unedo*) al azar, con un total de 10 puntos de muestreo, de todas las especies vegetales, se tomaron pequeños cortes de raíz, utilizadas como material de origen para el aislamiento de hongos del género *Trichoderma* spp., las muestras se tomaron a 15 cm de distancia respecto a la base del tallo de la planta y a 10 cm de profundidad.

Aislamiento de *Trichoderma* spp.

Los aislamientos se realizaron con base a la metodología propuesta por Sánchez ., (2021). Se realizó la desinfección de los cortes de 5.0 cm² de tejido por inmersión en hipoclorito de sodio (NaClO) al 1.25 % durante un 60 s, el enjuague de los cortes fue con agua destilada estéril para eliminar el exceso de la solución y el secado con papel absorbente estéril. La siembra se efectuó en cajas Petri con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) (BIOXON BX-211900), en condiciones asépticas y la incubación fue durante cuatro días, con temperatura de 25 °C ± 2 en donde se realizaron observaciones diarias. Se tomaron porciones superficiales de las colonias con mayor crecimiento y presencia de micelio con características morfológicas y de crecimiento típicas de *Trichoderma* spp. (crecimiento con áreas verdes y formación de anillos concéntricos).

Cultivos duales

Para llevar a cabo las pruebas de antagonismo y obtener el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (%) se realizó mediante confrontaciones duales entre los microorganismos (patógeno- antagonista). En placas Petri con medio de cultivo PDA y con ayuda de un sacabocado se tomaron discos de 10 mm de diámetro con micelio del antagonista (*Trichoderma* spp) igualmente de los patógenos (*Fusarium* spp., *Epicoccum* spp., *Monilinia* spp. y *Colectotrichum* spp) y se colocaron en los extremos de la placa Petri a 6.0 cm de separación uno de otro, los discos con el micelio se incubaron a temperatura ambiente, para evaluar el efecto antagónico de las cepas contra los patógenos. Se midió el crecimiento de cada organismo durante cuatro días con un calibrador Vernier digital (marca Truper). Los datos obtenidos se transformaron en una escala de capacidad antagónica (Bell et al., 1982) (Tabla 1) de *Trichoderma* spp. *in vitro* técnica modificada por López-Valenzuela et al. (2015).

Tabla 1. Escala de capacidad antagónica *in vitro* para *Trichoderma* spp. de Baker y Cocinero (1974), utilizada por Bell *et al.* (1982), Correa *et al.* (2007) y López-Valenzuela *et al.* (2015).

Grados en la escala	Características del grado
Grado 1	<i>Trichoderma</i> spp. crece completamente sobre la colonia del patógeno y cubre la superficie del medio de cultivo.
Grado 2	<i>Trichoderma</i> spp. crece al menos sobre las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo.
Grado 3	<i>Trichoderma</i> spp. y el patógeno cubren aproximadamente la mitad de la superficie del medio de cultivo.
Grado 4	El patógeno crece al menos en las dos terceras partes del medio de cultivo limitando el crecimiento de <i>Trichoderma</i> spp.
Grado 5	El patógeno crece sobre la colonia de <i>Trichoderma</i> spp. ocupando toda la superficie del medio de cultivo.

También se determinó el porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) según la fórmula siguiente (Rhaim, 2014; Duarte *et al.*, 2017):

Dónde: PICR= Porcentaje de inhibición del crecimiento radial

r1 - Crecimiento radial de la colonia en el control.

r2 - Crecimiento radial del aislado patógeno enfrentado al antagonista

Análisis estadístico

Los datos del PICR, expresados en porcentaje, se realizaron mediante la prueba de Aligned Rank Transformation ANOVA. Los datos obtenidos para cada uno de los ensayos se sometieron a un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias Tukey ($p \leq 0.05$). Dichos datos se analizaron con el paquete estadístico R versión 2021.

2.4 Resultados

Aislamiento y purificación

Se obtuvieron 10 aislados los cuales fueron antagónicos correspondientes al género *Trichoderma* sp., con porcentajes de inhibición entre 60% y 85.20%, tomando las cepas con mayor grado de Inhibición destacándose las cepas uno, tres, cinco y ocho (Tabla 2), los cuales fueron utilizados para llevar a cabo los cultivos duales *in vitro*.

Tabla 2. Obtención de aislados antagónicos del sur de Chihuahua.

Número de aislado	Especie vegetativa	Localidad	Municipio
1	Pino silvestre (<i>Pinus sylvestris</i>)	Ciénega Prieta	Guachochi
2	Durazno (<i>Prunus persica</i> L.) variedad amarilla	Baquiriachi	Balleza
3	Durazno (<i>Prunus persica</i> L.) variedad blanca	Las Joyitas	Morelos
4	Pino silvestre (<i>Pinus sylvestris</i>)	Yoquivo	Batopilas
5	Durazno (<i>Prunus persica</i> L.) variedad amarilla	Ciénega de la Cruz	Morelos
6	Madroño (<i>Arbutus unedo</i>)	Agua Azul	Guachochi
7	Durazno (<i>Prunus persica</i> L.) variedad blanca	Las Joyitas	Morelos

8	Pino silvestre (<i>Pinnus sylvestris</i>)	Ciénega Prieta	Guachochi
9	Durazno (<i>Prunus persica</i> L.) variedad amarilla	Mesa del Frijol	Morelos
10	Durazno (<i>Prunus persica</i> L.) variedad amarilla	San Pablo	Morelos

Confrontaciones duales

Se realizaron seis repeticiones (placas con patógeno-antagonista), en el cual se midió el porcentaje de colonización de *Trichoderma* spp. considerando la fórmula propuesta por Duarte *et al.* (2017); al final de la evaluación (seis y nueve días) el 100% todas las cepas aisladas mostraron las clases 1 y 2 de antagonismo contra los patógenos de acuerdo a la escala de capacidad antagónica propuesta por Bell *et al.* (1982), y al análisis estadístico se observó diferencia significativa en cada uno de los tratamientos (figura 2), las cepas de ambos bioensayos *in vitro* presentaron menor crecimiento en los aislados de la cepa uno con respecto al testigo, cubriendo el 100% (figura 3), cabe mencionar que los cuatro hongos antagonistas presentaron alto porcentaje de inhibición, la cepa uno mostró el 77.25% y cepa ocho 78.80%, cepa tres 85.20% y cepa cinco 83.55%..

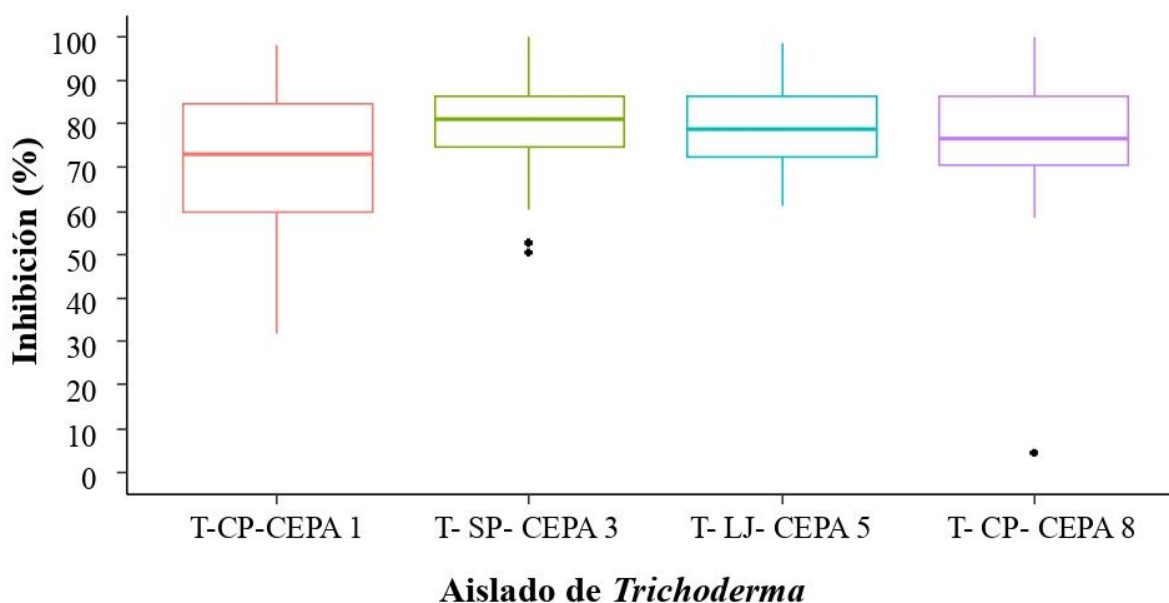


Figura 2. Porcentaje de inhibición de *Trichoderma* spp. contra patógenos de *Trichoderma* spp Vs *Epiccocum* spp., *Trichoderma* spp. Vs *Fusarium* spp., *Trichoderma* spp Vs *Colectotrichum* spp., y *Trichoderma* spp Vs *Monilinia* spp.

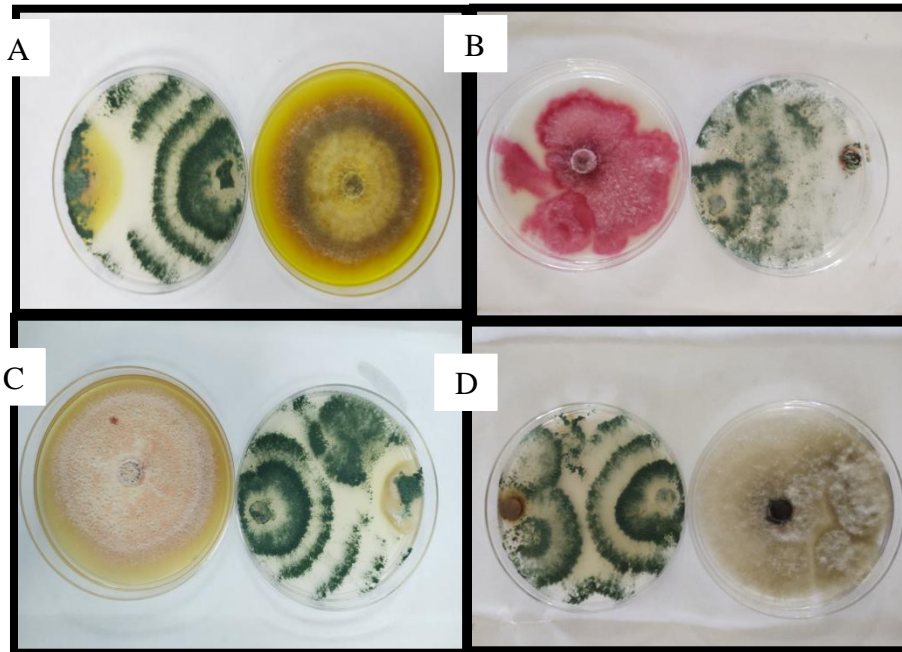


Figura 3. Confrontaciones *in vitro* de: *Trichoderma* spp Vs *Epiccocum* spp. (A), *Trichoderma* spp. Vs *Fusarium* spp. (B) *Trichoderma* spp Vs *Colectotrichum* spp. (C), y *Trichoderma* spp Vs *Monilinia* spp. (D) en medio PDA.

Tasa de crecimiento micelial

Los aislados con mayor crecimiento corresponden a cepa cinco, las cuales se desarrollaron en la misma cantidad de tiempo a temperatura ambiente, cubriendo completamente la superficie de la caja Petri con medio PDA, en un lapso de 96 horas en comparación con el resto de los patógenos. La tasa de crecimiento de estas cepas se presenta en la tabla 3 de acuerdo con la fórmula propuesta por Guigon-Guerrero (2010); Martínez *et al.* (2015) y (Wu *et al.*, 2019).

Tabla 3. Promedio del crecimiento micelital (milímetros) de patógenos (*Epiccocum* spp., *Fusarium* spp., *Colectotrichum* spp. y *Monilinia* spp) y antagonista (*Trichoderma* spp.) en medio PDA a temperatura de 13 a 22°C.

# Cepa	Crecimiento (mm)	Tiempo (días)
Cepa 1	2.3	4
Cepa 3	2.525	4
Cepa 5	2.725	4
Cepa 8	2	4

En el Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial (PICR), es importante resaltar que todos los tratamientos presentaron una inhibición del crecimiento radial del patógeno superior al 50%. El PICR en esta investigación varió para los aislamientos en crecimiento, mas no en tiempo para el llenado de la caja Petri de 90 mm.

2.5 Discusión

Los aislamientos de *Trichoderma* spp., mostraron un crecimiento más rápido que los patógenos, este comportamiento es promisorio en el control de patógenos foliares coincidiendo con los resultados obtenidos por Ferreira *et al.*, (2021) y Asis *et al.*, (2021), en Argentina y Sabah Malasia, además permitió este ensayo considerarlo para las pruebas de PICR y dar ventaja de tres días a cada uno de los patógenos. Repercutiendo con las metodologías aplicadas por Savin *et al.*, (2021) quienes comprobaron la efectividad de *T. koningii* comparada con *T. album*, *T. harzianum*, *T. hamatum* y *T. virens* en el control de *Fusarium oxysporum* obteniendo resultados ubicados en el grado 1 y 2 de la escala de Bell *et al.*, 1982 ubicando los resultados entre un 77.5 a 90% de inhibición.

3. Conclusiones

De los municipios muestreados, todos mostraron presencia de *Trichoderma* spp. en diferentes niveles de antagonismo, de acuerdo a la escala descrita por Baker y Cocinero, 1974 y mencionada por Bell *et al.*, 1982.

En cuanto al crecimiento micelial diario el hongo *Trichoderma* spp. en todas sus cepas mostró un alto rango de crecimiento inicial, en un lapso a las 96 horas.

El análisis de la varianza de clasificación de rangos múltiples (ANOVA) mostró diferencias significativas para la interacción de dos factores (géneros de patógeno y cepa antagonica). Lo más llamativo fue la variabilidad en que estas cepas lograron invadir al fitopatógeno en diferentes días de confrontación para el caso de *Trichoderma* spp contra *Fusarium* spp fue de nueve días, *Trichoderma* spp contra *Monilinia* spp siete días,

Trichoderma spp contra *Collectotrichum* spp seis días y *Trichoderma* spp contra *Epiccocum* spp siete días, resultando microorganismos antagonicos eficientes contra los fitopatógenos por lo que se sugiere realizar evaluaciones de biocontrol en invernadero y a campo abierto.

4. Referencias

- Argumedo Delira, R., Alarcón, A., Ferrera Cerrato, R. y Peña Cabriales, JJ. (2009). Género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental* 25: 257-269. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v25n4/v25n4a6.pdf>
- Asis, A., Ahmed Shahriar, S., Naher, L., Saallah Suryani, NF Hasan Nudin. and Kumar, V., · Siddiquee, S. (2021). Identification patterns of *Trichoderma* strains using morphological characteristics, phylogenetic analyses and lignocellulolytic activities. In *Molecular Biology Reports* (Vol. 48, Issue 4, pp. 3285–3301). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s11033-021-06321-0>
- Bastida, L.M., Gutiérrez, S.A. y Carmona, M. A. (2019). Aislamiento y caracterización sintomática de *Pyricularia* spp. en arroz y otros hospedantes en la provincia de Corrientes (Argentina). *revista de Summa phytopathol* <https://www.scielo.br/j/sp/a/LQhFhcRjMJghdtpSSDs4FVn/?format=pdf&lang=es>
- Baker, K. and Cocinero RJ. (1974). Control biológico de patógenos vegetales. Primera edición. WH Freeman and Company. San Francisco. Estados Unidos. 433p. https://repository.agrosavia.co/bitstream/handle/20.500.12324/1772/77032_47079.pdf?sequence=1
- Bell, D. K., Well, H. D., and Markham, C. R. (1982). *In vitro* Antagonism of *Trichoderma* Species against Six Fungal Plant Pathogens. *Phytopathology*, 72, 379-382. <https://doi.org/10.1094 / Phyto-72-379>
- Burhanah, B., Chaninun, PC., Shinichi, IE. and Anurag S. (2019). *Trichoderma spirale* T76-1 displays biocontrol activity against leaf spot on lettuce (*Lactuca sativa* L.) caused by *Corynespora cassiicola* or *Curvularia aeria*. *Journal ELSEVIER* 129:195-200. <https://doi.org/10.1016/j.biocontrol.2018.10.018>
- Cai, F., and Druzhinina, I. S. (2021). In honor of John Bissett: authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. In *Fungal Diversity* (Vol. 107, Issue 1, pp.

1–69). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00464-4>

Correa Seli, MM., Ávila Zila, R., Minaré Brauna, L., Pádua, RR. y Gomes D. (2007). Cepas de *Trichoderma* SPP. para el control biológico de *Sclerotium rolfii* SACC. Revista de Fitosanidad: vol 11, núm. 1, marzo, 2007, pp. <https://www.redalyc.org/pdf/2091/209116144001.pdf>

Ceballos Chávez, ÁR., Lizárraga Sánchez, GJ., López Valenzuela, BE., Félix Gastelum, R., Longoria Espinoza, RM. y Beltrán Peña H. (2021). Uso de *Trichoderma asperellum* y lombricomposta para el control de secadera en *Physalis ixocarpa* Brot. Revista de Ciencia en la frontera: revista de ciencia y tecnología de la UACJ. Volumen XVI, pp. 7-18. [file:///C:/Users/DELL/Downloads/Usode+Trichoderma%20\(2\).pdf](file:///C:/Users/DELL/Downloads/Usode+Trichoderma%20(2).pdf)

Duarte Leal, Y., Lamz Piedra, A. and Martínez Coca, B. (2017). *In vitro* antagonism of *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg isolates against *Sclerotium rolfii* Sacc. Revista de Protección Vegetal 32(3):1-11. <http://scielo.sld.cu/.../rpv03317.pdf>

Ferreira, Flavia, V. y Musumeci, Matías A. (2021). *Trichoderma* como agente de control biológico: alcance y perspectivas para mejorar la eficacia. En World Journal of Microbiology and Biotechnology (Vol.37, Número 5). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1007/s11274-021-03058-7>

Fira, D., Dimkić, I., Berić, T., Lozo, J. y Stanković, S. (2018). Control biológico de fitopatógenos por especies de *Bacillus*. En Journal of Biotechnology (Vol. 285, págs. 44–55). Elsevier BV. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2018.07.044>

Franco Martins, MD., Requia Parciannelo, F., Ferreira Dasilva, AC. and Antonioli ZI. (2012). *Trichoderma* in Brazil: the fungus and the bioagent. Revista de Ciências Agrárias 35: 274-288. <http://www.scielo.mec.pt/pdf/rca/v35n1/v35n1a26.pdf>

Gajera, HP., Bambharolia, RP, Patel, SV, Khatrani, TJ. and Goalkiya BA. (2012). Antagonism of *Trichoderma* spp. against *Macrophomina phaseolina*: Evaluation of

coiling and cell Wall degrading enzymatic activities. *Plant Pathology & Microbiology* 3:1-7. DOI: 10.4172/2157-7471.1000149

Guigón Lopez. and Guerrero Prieto V. (2010). Molecular Identification of *Trichoderma* spp. strains, *in vitro* growth rate and antagonism against plant pathogen fungi. *Journal mexican of phytopatology* 28:87-96. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/20113190483>

Harman, GE. (2006). Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96:190-194. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-96-0190>

Infante, D., Martínez, B., González, N. y Reyes Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal* 24 (1):14-21. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v24n1/rpv02109.pdf>

Inglis Peter, W., Mello Sueli, C., M., Martins, I., Silva, Joao BT., Macêdo Kamilla, S, Sifuentes, DN. and Valadares Inglis, MC. (2020). *Trichoderma* from Brazilian garlic and onion crop soils and description of two new species: *Trichoderma azevedoi* and *Trichoderma peberdyi*. En P. V. Morais (Ed.), *PLOS ONE* (Vol. 15, Issue 3, p. e0228485). Public Library of Science (PLoS). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0228485>

López Valenzuela BE., Armenta Bojórquez, AD., Hernández Verdugo S., Apodaca Sánchez MA., Samaniego Gaxiola, JA., Leyva Madrigal KY. and Valdez Ortiz A. (2015). Selección *in vitro* e identificación de aislados de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. nativos para el control de *Phymatotrichopsis omnivora*. *Rev. Inf. Téc. Econ. Agr.*, 111(4), 310-325. <https://dialnet.unirioja.es/servlet/articulo?codigo=5286156>

Martínez, B., Infante, D. y Reyes Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista Protección Vegetal* 28:1-11. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=s1010-27522013000100001

- Martínez, DA., Buglione, BM., Filippi, MV., Reynoso, LC., Rodríguez, GE. y Agüero MA. (2015). Evaluación del crecimiento micelial de *Pleurotus ostreatus* y *Agrocybe aegerita* sobre orujos de pera. *Revistas anales de biología* 37: 1-10. DOI: <http://dx.doi.org/10.6018/analesbio.37.1>
- Mazrou, Yaser, SA., Makhlof Abber H., Elseehy Mona M., Awad, Mohamed F. and Hassan, Mohamed M. (2020). Antagonistic activity and molecular characterization of biological control agent *Trichoderma harzianum* from Saudi Arabia. In *Egyptian Journal of Biological Pest Control* (Vol. 30, Issue 1). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1186/s41938-020-0207-8>
- Nakkeeran, S., Vinodkumar, S., Priyanka, R. and Renukadevi, P. (2018). Mode of action of *Trichoderma* Spp. in biological control of plant diseases. *Review of centre for Plant Protection studies* 4: 81-95. DOI: <https://doi.org/10.1007/s42161-020-00602-6>
- Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura (FAOSTAT), (2021). Producción mundial de cultivos <http://www.fao.org/faostat/es/#data/QC> (consultado, agosto de 2021).
- Rhaim Abdel, IR. (2014). Isolation of *Trichoderma* and evaluation of their antagonistic potential against *Alternaria. porri*. *Journal of Phytopathology* 162:567–574. <https://doi.org/10.1111/jph.12228>
- Sánchez Miranda, MD., Moreno Mayorga, LF. y Páramo Aguilera, LA. (2021). Identificación morfológica y molecular de especies autóctonas *Trichoderma* spp., aisladas de suelos de importancia agrícola. In *Revista Ciencia y Tecnología El Higo* (Vol. 11, Issue 1, pp. 26–42). Latin America Journals Online. <https://doi.org/10.5377/elhigo.v11i1.11715>
- Santana Diaz, T. y Castellanos González, L. (2018). Efecto bioestimulante de *Trichoderma harzianum* Rifai en posturas de Leucaena, Cedro y Samán. *Colombia Forestal*, 21(1), 81-90. <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=CO2021A00734>

- Savín-Molina, J., Hernández-Montiel, LG, Ceiro-Catasú, W., Ávila-Quezada, GD, Palacios-Espinosa, A., Ruiz-Espinoza, FH, y Romero-Bastidas, M. (2021). Caracterización morfológica y potencial de biocontrol de especies de *Trichoderma* aisladas de suelos semiáridos. En Revista Mexicana de Fitopatología, Revista Mexicana de Fitopatología (Vol. 39, Número 3). Revista Mexicana de Fitopatología, Revista Mexicana de Fitopatología. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2106-7>
- Savary, S., Willocquet, L., Pethybridge, S. J., Esker, P., McRoberts, N., & Nelson, A. (2019). The global burden of pathogens and pests on major food crops. In Nature Ecology & Evolution (Vol. 3, Issue 3, pp. 430–439). Springer Science and Business Media LLC. <https://doi.org/10.1038/s41559-018-0793-y>
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). (2021). Producción nacional de durazno en México, https://nube.siap.gob.mx/avance_agricola/ (consultado, mayo de 2022).
- Wu, S., Zhen, C., Wang, K., & Gao, H. (2019). Effects of Bacillus Subtilis CF-3 VOCs Combined with Heat Treatment on the Control of *Monilinia fructicola* in Peaches and *Colletotrichum gloeosporioides* in Litchi Fruit. In Journal of Food Science (Vol. 84, Issue 12, pp. 3418–3428). Wiley. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.14949>
- Udayanga, D., Miriyagalla, S. D., Herath, I. S., Castlebury, L. A., Ferdinandez, H. S., & Manamgoda, D. S. (2020). Foliar pathogenic fungi: growing threats to global food security and ecosystem health. In Ceylon Journal of Science (Vol. 49, Issue 5, p. 337). Sri Lanka Journals Online (JOL). <https://doi.org/10.4038/cjs.v49i5.7801>



3^{er} CONGRESO NACIONAL DE
CUERPOS ACADÉMICOS,
INVESTIGACIÓN Y POSGRADO 2022
Universidades Tecnológicas y Politécnicas

La Dirección General de Universidades
Tecnológicas y Politécnicas

otorga la presente

CONSTANCIA



A: Ángel Rosario Ceballos Chávez, Blanca Elvira López Valenzuela, Glenda
Judith Lizárraga Sánchez, Karla Yeriana Leyva Madrigal

Por su participación con el trabajo aceptado para publicación y presentación:

**Antagonismo in vitro de Trichoderma spp. contra patógenos asociados al
cultivo del duraznero (Prunus persica L.)**

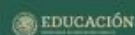
Eje temático: **Ciencias Naturales, Agropecuarias y de la Salud**

3^{er} Congreso Nacional de Cuerpos Académicos, Investigación y Posgrado 2022 de
las Universidades Tecnológicas y Politécnicas, realizado del 4 al 6 de julio de 2022.

Miguel Ángel Celis Flores
Dr. Miguel Ángel Celis Flores

Coordinador del Comité

Jlutepec, Morelos



ANEXO 6. Congreso de Ciencias agrícolas 2023
Evaluación de *Trichoderma asperelloides* en semillas de gramíneas, hortícolas, cucurbitáceas y frutales en condiciones de invernadero.

Ceballos Chávez Ángel Rosario¹, López Valenzuela Blanca E.^{1*}, Lizárraga Sánchez Glenda J.², Leyva Madrigal Karla Y.², Valenzuela Escoboza Fernando A. ¹, Bustillos Bustillos Gema I.³ López Bautista Everardo¹ y Leyva Armendáriz Jesús N.³

Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Av. Japaraqui y Calle 16 S/N, CP 81110, *Juan José Ríos, Sinaloa México*¹
blancalopezvzla@favf.mx*

Universidad Autónoma de Occidente-UR Los Mochis. Blvd. Macario Gaxiola y carretera Internacional, México 15, CP 81216, Los Mochis, Sinaloa, México.²

Universidad Tecnológica de la Tarahumara. Carr. Guachochi-Yoquivo, km. 1.5, Turuseachi, CP. 33180, Guachochi, Chihuahua, México³.

Resumen

Los vegetales son el alimento más importante para los consumidores en la vida diaria, aportando nutrientes y vitaminas insustituibles, no obstante, existe una variedad de enfermedades y plagas, ante la problemática de la escasa germinación de semilla se propone la aplicación de agentes de biocontrol. El objetivo fue evaluar la efectividad de *Trichoderma asperelloides* en semillas nativas de frijol (*Phaseolus vulgaris*), maíz (*Zea mays*), calabaza (*Cucurbita*), chile (*Capsicum annum*), tomate (*Solanum Lycopersicum*) y durazno (*Prunus persica*) a nivel *in vitro* y en plántula bajo condiciones de invernadero. Se realizó la desinfección de semilla con tratamientos de 0.5, 0.8 y 1% de hipoclorito de sodio (NaClO) dejando un testigo sin asperjar, se inoculó con *T. asperelloides* con suspensiones de esporas de 15 mL a una concentración de 1×10^6 conidios. mL⁻¹, durante 15 días en cámara húmeda, evaluando la altura a los 17 días después del trasplante en condiciones de invernadero con lombricomposta de ganado vacuno y *T. asperelloides*. El porcentaje de germinación por semilla fue 59.25 % en durazno en comparación con el testigo de 22.22%. se logró obtener el mejor tratamiento de NaClO de 0.8%, con respecto a la medición de altura el durazno mostró de 4.8 a 8.5 cm y el chile de 1 cm, y no se mostró efecto del hongo en maíz en los tratamientos 0.5 y 0.8% con respecto al testigo. *T. asperelloides* es considerado buen promotor de crecimiento de plántulas además de la inhibición de fitopatógenos en germinación de semilla con tratamientos de inocuidad.

Palabras clave: Altura, germinación, invernadero, testigo, tratamiento.

Abstract

Vegetables are the most important food for consumers in daily life, providing irreplaceable nutrients and vitamins, however, there is a variety of diseases and pests, given the problem of poor seed germination, the application of biocontrol agents is proposed. The objective was to evaluate the effectiveness of *Trichoderma asperelloides* in native seeds of beans (*Phaseolus vulgaris*), corn (*Zea mays*), pumpkin (*Cucurbita*), chili (*Capsicum annuum*), tomato (*Solanum Lycopersicon*) and peach (*Prunus persica*) at an *in vitro* and seedling under greenhouse conditions. Seed disinfection was performed with treatments of 0.5, 0.8 and 1% sodium hypochlorite (NaClO) leaving a control without spraying, it was inoculated with *T. asperelloides* with 15 mL spore suspensions at a concentration of 1×10^6 conidia. mL⁻¹, for 15 days in a humid chamber, evaluating the height 17 days after transplantation under greenhouse conditions with vermicompost from cattle and *T. asperelloides*. The percentage of germination per seed was 59.25% in peach compared to the control of 22.22%. it was possible to obtain the best NaClO treatment of 0.8%, with respect to the height measurement the peach showed 4.8 to 8.5 cm and the chili 1 cm, and no effect of the fungus in corn was shown in the 0.5 and 0.8% treatments. with respect to the witness. *T. asperelloides* is considered a good promoter of seedling growth in addition to the inhibition of phytopathogens in seed germination with innocuous treatments.

Keywords: Height, germination, greenhouse, witness, treatment.

Introducción

Los vegetales son el alimento más importante para los consumidores en la vida diaria, aportando nutrientes y vitaminas insustituibles, sin embargo, existe una variedad de enfermedades y plagas, especialmente en agricultura protegida con alta humedad y temperatura, lo que provoca la aparición más frecuente de los síntomas (Wang *et al.*, 2022) desde su germinación hasta producción, por lo tanto, la semilla es un componente clave entre todos los insumos para la producción sostenible de cultivos. Se estima que la calidad de las mismas representa el 20-25% de la productividad, particularmente en los vegetales y frutas, especias y otras plantas alimenticias tradicionales semidomesticadas

y cultivadas (Ebert, 2020). Por lo cual, los tratamientos de semillas proporcionan un medio eficaz para prevenir enfermedades transmitidas por semillas al plantar semillas libres de enfermedades previene la introducción de patógenos al agroambiente y su transferencia al suelo y al agua (Kim *et al.*, 2022).

Ante la problemática de la escasa germinación de semilla se propone la aplicación de agentes de biocontrol siendo una alternativa a los fungicidas químicos sintéticos (Moraes *et al.*, 2019) haciendo uso de los microorganismos como *Trichoderma* el cual ha utilizado en el control biológico debido a su plasticidad ecológica, fácil producción a gran escala y eficiencia contra fitopatógenos (Cai y Druzhinina, 2021). El objetivo del presente trabajo fue evaluar la efectividad de *Trichoderma asperelloides* en semillas nativas de frijol (*Phaseolus vulgaris*), maíz (*Zea mays*), calabaza (*Cucurbita*), chile (*Capsicum annuum*), tomate (*Solanum Lycopersicum*) y durazno (*Prunus persica*) a nivel *in vitro* y en plántula bajo condiciones de invernadero.

Materiales y métodos

Preparación de material vegetativo: Se tomaron semillas de frijol, maíz, calabaza, chile, tomate, y durazno, se lavaron con jabón neutro y se dejaron secar por 30 minutos en papel absorbente estéril, en condiciones asépticas. Todos los órganos se desinfectaron con una solución de hipoclorito de sodio (NaClO) al 1% durante 1.5 minutos. Posteriormente se sometieron a un triple lavado en agua desionizada estéril y se colocaron sobre papel filtro esterilizado hasta eliminar el exceso de humedad (García *et al.*, 2017).

Suspensión conidial. Se realizaron inoculaciones de *Trichoderma asperelloides* sobre las semillas previamente desinfectadas, con suspensiones de esporas de 15 mL a una concentración de 1×10^6 conidios. mL⁻¹, mediante la técnica de aspersión de acuerdo a Udhayakumar *et al.* (2019), usando atomizadores. Los órganos, se mantuvieron en cámara húmeda a 25°C ± 2, con HR 85%, haciendo observaciones cada 12 horas durante 15 días, evaluando el porcentaje de germinación

Evaluación en planta en condiciones de invernadero: La evaluación de *T. asperelloides* y composta de ganado vacuno se llevó a cabo bajo condiciones de invernadero, se sembraron cuatro semillas de frijol variedad bayo, maíz amarillo, calabaza serrana, chile jalapeño, tomate bola y durazno prisco, en bolsas de polietileno

de 500 g de capacidad, una vez germinadas las semillas se dejaron tres plantas por maceta, con 17 días de crecimiento. Para obtener la altura de la planta se utilizó una regla metálica graduada en cm, se tomó la medida desde la punta de la raíz hasta la copa de la última rama apical (El Maaloum, *et al.*, 2020).

Análisis estadístico: Para los bioensayos *in vitro* como en planta se utilizó un diseño completamente al azar con cuatro tratamientos (desinfección con hipoclorito de sodio a 0.5 % 0.8%, 1 % dejando un testigo sin inocular con *T. asperelloides*), y 3 repeticiones por tratamiento, los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y para la comparación de medias se determinó de acuerdo a la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$), empleando el programa estadístico SAS versión 9.4.

Resultados y discusión

En promedio general de viabilidad del porcentaje de germinación por semilla se obtuvo 59.25 % en durazno en comparación con el testigo de 22.22%. Estas semillas tratadas con *Trichoderma asperelloides* representan mayor velocidad y germinación, lo cual se atribuye a los mecanismos de defensa del hongo siendo promotor de crecimiento (Figura 1) por otro lado, en maíz se obtuvo 100% en ambos tratamientos al no presentarse efecto del hongo sobre la semilla con respecto al testigo (Figura 2). Se logró obtener el mejor tratamiento con hipoclorito de sodio (NaClO) sobre todas las semillas de 0.8%, no obstante estudios realizados en semilla de agave se realizaron pretratamientos con *Trichoderma* spp. obteniendo un porcentaje de 86.7% durante 12 días de experimentación (Velazco *et al.*, 2022), además Ferrer *et al.*, (2021) obtuvieron un 82% en germinación de semillas de chile utilizando *T. harzianum* y *T. koningiopsi* por 10 días de incubación con un tratamiento de hipoclorito de sodio al 0.3%

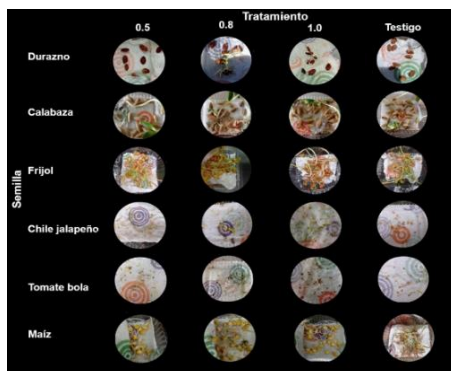


Figura 1. Evaluación de semillas después de 15 días de crecimiento en cámara húmeda.

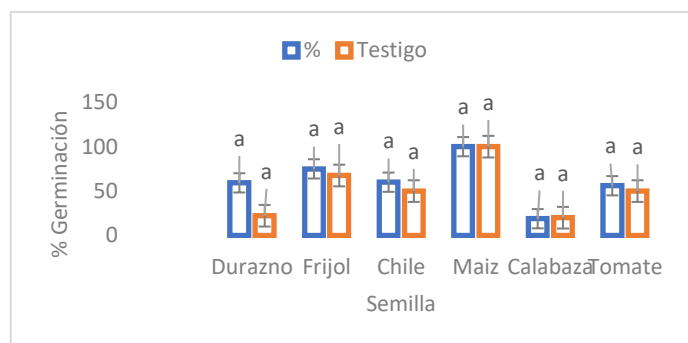


Figura 2. Porcentaje de germinación por semilla con respecto al testigo.

Con respecto a las variables evaluadas en condiciones controladas se determinó al durazno con mayor altura de 4.8 a 8.5 cm y con menor crecimiento la planta de chile con 1 cm de crecimiento (Figura 3) y en maíz los tratamientos 0.5 y 0.8% estuvieron por debajo de la altura obtenida por el testigo.

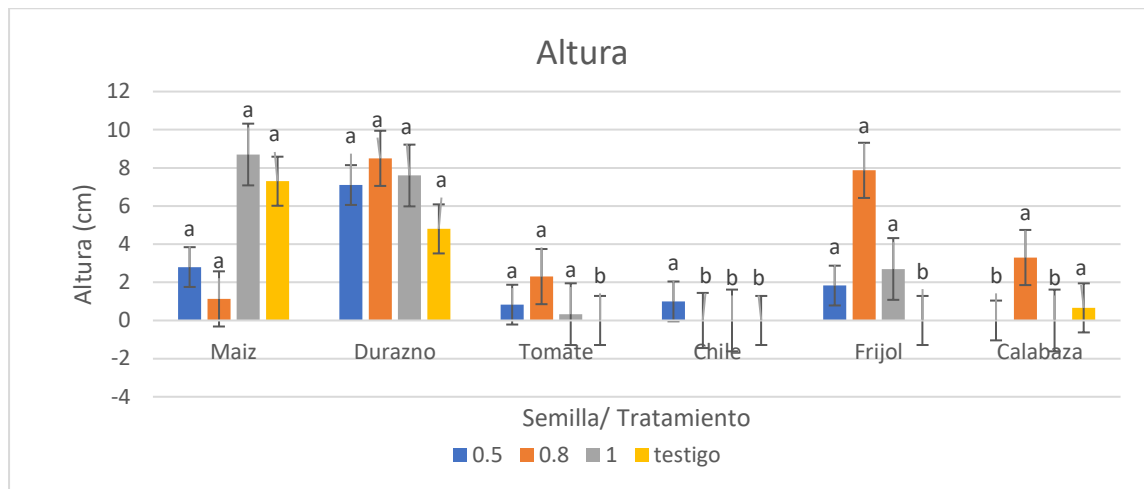


Figura 3. Altura de plántulas con respecto al testigo por tratamiento.

Conclusiones

El tratamiento de hipoclorito de sodio al 0.8 % presentó los porcentajes más altos en germinación, así como en campo los valores más altos en altura.

Las semillas de durazno mostraron los valores más altos en todos los tratamientos desde la germinación hasta la medición de altura en plántula, aunque en la semilla de maíz *T. asperelloides* no presentó efecto, ya que los porcentajes con respecto al testigo en cámara húmeda y en plántula se observó por igual similitud.

Se confirma el efecto de *T. asperelloides* es buen promotor de crecimiento de plántulas además de la inhibición de fitopatógenos en germinación de semilla con tratamientos de inocuidad.

Referencias bibliográficas

Cai, F., and Druzhinina, I. S. 2021. In honor of John Bissett: authoritative guidelines on molecular identification of *Trichoderma*. *Fungal diversity* 107(1):14-69). <https://doi.org/10.1007/s13225-020-00464-4>

- Ebert, A. W. 2020. The role of vegetable genetic resources in nutrition security and vegetable breeding. *Plants* 9(6): 736. <https://doi.org/10.3390/plants9060736>
- El Maaloum, S., Elabed, A., Alaoui-Talibi, Z. E., Meddich, A., Filali-Maltouf, A., Douira, A., Ibnsouda-Koraichi, S., Amir, S., and El Modafar, C. 2020. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Phosphate-Solubilizing Bacteria Consortia Associated with Phospho-Compost on Phosphorus Solubilization and Growth of Tomato Seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 51(5): 622–634). <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1729376>
- Ferrer, M.L., Romero, A.O., Andrade, H.P., Sánchez, M.P., Rivera, T.J.A. y Fernández, P.S.P. 2021. Antifungal activity of *Trichoderma harzianum* and *T. koningiopsis* against *Fusarium solani* in seed germination and vigor of Miahuateco chili seedlings. *Mexican Journal of Phytopathology* 39(2): 228-247 <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2101-5>
- García, M.C.A., M., Acosta-Ramos, O., Vázquez-Martínez, M., Pérez-Sato, A., García M.C.A., O., R.M., Acosta, M.O., Vázquez, S.M., Pérez y M.M. García. 2017. Morphological, molecular and pathogenic diagnostic of fungi in lawn's root and neck in Mexico. *Revista Phytón* 86: 258-264. https://media.proquest.com/media/hms/PFT/1/DqDPG?_s=zIR0N9jF9BbUHhI7ZU ZJRS43gxxg%3D
- Kim, M., Shim, C., Lee, J., and Wangchuk, C. 2022. Hot water treatment as seed disinfection techniques for organic and eco-friendly environmental agricultural crop cultivation. *Agriculture* 12 (8):1081. <https://doi.org/10.3390/agriculture12081081>
- Moraes, B.J., Belinato, J. R., Costa, J. H., Akiyama, D. Y., Pontes, J. G. de M., Kupper, K. C., Augusto, F., de Carvalho, J. E., and Fill, T. P. 2019. Biological control of citrus postharvest phytopathogens. *Toxins* 11(8): 460. <https://doi.org/10.3390/toxins11080460>
- Velasco, G.M.V., Hernández, A.D.G., Muñoz G.L., Castillo M.C.R., Vallejo R.M.Á., y García C.F. 2022. Crioconservación de semillas de *Cedrela odorata* L.: germinación y establecimiento temprano en vivero. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales* 13(69):31–55). <https://doi.org/10.29298/rmcf.v13i69.1198>

Udhayakumar, R., S., Usharani and A. Muthukumar.2019. Pathogenicity variation, morphological and cultural characteristic of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates. Plant Archives 19 (1):425-430. [http://www.plantarchives.org/PDF%2019-1/425-430%20\(4604\).pdf](http://www.plantarchives.org/PDF%2019-1/425-430%20(4604).pdf)

Wang, S., Xu, T., and Li, X. 2022. Development status and perspectives of crop protection machinery and techniques for vegetables. Horticulturae 8(2): 166. <https://doi.org/10.3390/horticulturae8020166>

The image is a certificate of participation for the XXVI International Congress in Agricultural Sciences. At the top, it features the logos of the Universidad Autónoma de Baja California and the Instituto de Ciencias Agrícolas (ICA). The main title is "XXVI Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas" with the subtitle "Gestión del agua y seguridad alimentaria ante el escenario de cambio climático". Below this, it states "otorgan la presente CONSTANCIA" (they grant the present certificate). The certificate is awarded to a group of authors: Ceballos Chávez Ángel Rosario, López Valenzuela Blanca E., Lizárraga Sánchez Glenda J., Leyva Madrigal Karla Y., Valenzuela Escoboza Fernando A., Bustillos Bustillos Gema I. López Bautista Everardo, and Leyva Armendáriz Jesús N. The certificate is for participation as a "PONENTE ORAL" (oral presenter) on the topic: "Evaluación de *Trichoderma asperelloides* en semillas de gramíneas, hortícolas, cucurbitáceas y frutales en condiciones de invernadero." (Evaluation of *Trichoderma asperelloides* in seeds of grasses, horticultural, cucurbitaceous and fruit vegetables in greenhouse conditions). The certificate is issued "POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER" (for the full realization of the service) in Mexicali, Baja California, on October 26 and 27, 2023. It is signed by Dr. Daniel González Mendoza, Director of the Instituto de Ciencias Agrícolas, and Dra. Silvia Mónica Avilés Marín, President of the Organizing Committee. At the bottom right, there is a photograph of a large, classical-style building and several logos of participating institutions, including the Facultad de Ingeniería y Negocios San Quintín.

Universidad Autónoma de Baja California
Instituto de Ciencias Agrícolas

ICA

XXVI Congreso Internacional
en Ciencias Agrícolas

Gestión del agua y seguridad alimentaria ante el escenario de cambio climático

otorgan la presente
CONSTANCIA

A: Ceballos Chávez Ángel Rosario , López Valenzuela Blanca E., Lizárraga Sánchez Glenda J.,
Leyva Madrigal Karla Y., Valenzuela Escoboza Fernando A. , Bustillos Bustillos Gema I. López
Bautista Everardo y Leyva Armendáriz Jesús N.

Por su participación como **PONENTE ORAL** con el tema:

Evaluación de *Trichoderma asperelloides* en semillas de gramíneas,
hortícolas, cucurbitáceas y frutales en condiciones de invernadero.

"POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER"
Mexicali, Baja California, 26 y 27 octubre de 2023

Dr. Daniel González Mendoza
Director del Instituto de Ciencias Agrícolas

Dra. Silvia Mónica Avilés Marín
Presidenta del Comité Organizador

Facultad de Ingeniería y Negocios San Quintín

ANEXO 7. Congreso de control Biológico 2023
Competencia de *Trichoderma asperelloides* vs hongos fitopatógenos foliares en diferentes sustratos orgánicos.

Sección de Control biológico de malezas y fitopatógenos

Ceballos-Chávez Ángel Rosario², López-Valenzuela Blanca Elvira^{1*}, Lizárraga-Sánchez Glenda Judith² Valenzuela-Escoboza Fernando Alberto², López -Bautista Everardo¹, Bustillos- Bustillos Gema Idaly³ y Leyva-Armendáriz Jesús Noé³

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Av. Japaraqui y Calle 16 S/N, CP 81110, *Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México.*
angel.ceballos.chavez@gmail.com ; blancalopezvzla@favf.mx*

²Universidad Tecnológica de la Baticora-Departamento de Agricultura Sustentable y Protegida. Carretera Soto Máynez – Gómez Farias, Col. Oscar Soto Máynez, C.P. 31963, Namiquipa, Chihuahua, México.

³Universidad Tecnológica de la Tarahumara. Carr. Guachochi-Yoquivo, km. 1.5, Turuseachi, CP. 33180, Guachochi, Chihuahua, México.

Resumen

Las enfermedades de las plantas son responsables de importantes pérdidas de cultivos en todo el mundo y representan una amenaza para la seguridad alimentaria mundial. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad biológica de reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides* en diferentes sustratos orgánicos comerciales contra fitopatógenos foliares. Se realizó la inoculación de 50 mL con una concentración de 1×10^6 de solución los géneros *Monilinia* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp. y *Colletotrichum* sp. en sustrato de aserrín, eucalipto, trigo y maíz, después de tres días se le inyectó 50 mL de la solución conidial de *T. asperelloides* sobre cada uno de los sustratos con 500 g contenidos en bolsas de polietileno, realizando un conteo conidial a través de la fórmula $V_2 = C_1 \times V_1 / C_2$, empleando un diseño completamente al azar con arreglo factorial. Los resultados mostraron un crecimiento a los tres días en el sustrato de maíz sobre los fitopatógenos foliares de *Alternaria* sp., *Collectotrichum* sp. y *Monilinia* sp. con una cantidad total de esporas de 3692 conidios/mL ya que la invasión fue en su totalidad en menos tiempo en comparación con el resto. Se recomienda aplicar *T. asperelloides* en sustratos orgánicos sobre suelos de cultivos agrícolas.

Palabras clave: *Trichoderma*, antagonismo, enfermedades de plantas, microorganismos benéficos, nativas.

Introducción

Las enfermedades de las plantas son responsables de importantes pérdidas de cultivos en todo el mundo y representan una amenaza para la seguridad alimentaria mundial (Bevacqua *et al.*, 2019). El empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisorio, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente (Rodríguez *et al.*, 2000). No obstante, en la aplicación en campo podría verse influenciada por factores bióticos y abióticos, como las condiciones ambientales, los genes del huésped, las interacciones entre la microbiota vegetal y la diferenciación geográfica (Ren *et al.*, 2019) por lo cual esto puede reducir los resultados favorables en su aplicación. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad biológica de reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides* en diferentes sustratos orgánicos comerciales contra fitopatógenos foliares. Existen al menos dos géneros de fitopatógenos que sean susceptibles a la competencia por espacio y nutrientes contra *Trichoderma asperelloides* en diferentes sustratos orgánicos.

Estos resultados científicos proveerán información a los productores que les permitirá tomar decisiones adecuadas y proporcionará alternativas sustentables para lograr un mayor rendimiento, mejorando la inocuidad de los cultivos de la región y reducir la contaminación por agroquímicos del ambiente, favoreciendo el uso de *Trichoderma asperelloides* como estrategia de control biológico.

Materiales y Métodos

Obtención de sustratos comerciales: Para la reproducción masiva de *T. asperelloides* en sustratos sólidos de origen comercial se tomó en cuenta el maíz (*Zea mays*), trigo (*Triticum*), eucalipto (*Eucalyptus*) y aserrín de pino (*Pinus arizonica* E.) nativo de la región.

Aislamiento de antagonista: se consideró evaluar la cepa número 3 de *T. asperelloides* previamente identificada como T-S-P-M1-ACCH (Ceballos, Datos por

publicar), obtenida del municipio de Morelos, Chihuahua con una variación climatológica de 12 a 49 °C (Porrás *et al.*, 2021).

Preparación de sustratos: Con el propósito de eliminar las impurezas de los sustratos se tomó en cuenta la técnica de Gato, (2010), para ello se vertió maíz, hojas de eucalipto, trigo y aserrín en agua del grifo durante 24 horas, posteriormente se lavó profundamente hasta eliminar el almidón, enseguida se agregaron 50g de cada uno de los sustratos en bolsas de polietileno y se esterilizaron en autoclave a 121°C por 60 minutos.

Inoculación de fitopatógenos y *T. asperelloides*. Se preparó una solución de cada género de los hongos fitopatógenos de *Monilinia* sp, *Fusarium* sp, *Alternaria* sp, *Epicoccum* sp y *Colletotrichum* sp a través de un raspado del hongo de la caja Petri con un asa bacteriológica y se le inoculó agua esterilizada hasta formar una solución de 10mL y posteriormente se aforó con agua destilada hasta llegar a los 40mL, concentración de 1×10^6 conidios/mL (Bastidas, 2018). Con ayuda de una aguja de inserción se inocularon 15mL de la solución en las bolsas con los sustratos. Tres días después se realizó el raspado e inoculación de *Trichoderma asperelloides* utilizando la metodología de inoculación. Después se observaron a través de microscopio, estereoscopio y de lupa.

Conteo de esporas. Una vez obtenido el promedio final se procede a realizar la siguiente fórmula propuesta por Bastidas, (2018) $v_2 = C_1 \times V_1 / C_2$ donde: C_1 = Concentración inicial (conocida en el conteo), V_1 = Volumen inicial (establecido arbitrariamente al preparar el inóculo), C_2 = Concentración final deseada (según el estudio a realizar), V_2 = Volumen final (desconocido)

Análisis estadístico: Para llevar a cabo el análisis del tratamiento con mayor producción conidial en sustratos se empleó un diseño completamente al azar con arreglo factorial, con respecto a los cuatro sustratos orgánicos inoculados con cinco fitopatógenos contra de *T. asperelloides*. Para el análisis de varianza y la comparación de medias se utilizó la prueba de media de Tukey-Kramer, con un valor alfa de 0.05%, con cinco repeticiones. Estos análisis se llevaron a cabo utilizando el paquete estadístico JMP, versión 9.0.1 (Statistical Analysis System, [SAS Institute Inc.], 2011).

Resultados

El desarrollo de *Trichoderma asperelloides* sobre los fitopatógenos en los diferentes sustratos se comenzó a observar en maíz con los géneros *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp. y *Monilinia* sp. mientras que para los géneros restantes a simple vista se visualizaron los efectos fisiológicos de los fitopatógenos sobre los sustratos (Figura 1). Para el resto de los sustratos, a excepción del inoculo de *Colletotrichum* spp. en trigo (el cual mostró notablemente que fue este el que predominó), no era distinguible la presencia de uno u otro de los fitopatógenos observados en el estereoscopio se pudo notar que *Trichoderma asperelloides* estaba presente en la mayoría de ellos y que continuaba su desarrollo; finalmente, a través de montajes en portaobjetos con de safranina, azul de algodón y glicerina como colorantes para observación en microscopio, se identificaron fácilmente las esporas de *T. asperelloides*, presentando en mayor visibilidad de esporas que el resto de los hongos a los cuales se estaba realizando el micoparasitismo en la mayoría de los sustratos comprobando que el antagonista supera a los fitopatógenos

Figura 1. Competencia por espacio y nutrientes del sustrato de maíz de *T. asperelloides* sobre los fitopatógenos de mayor dominancia

Alternaria sp.

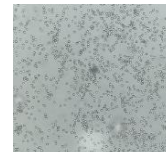
Sustrato

Lupa

Estereoscopio

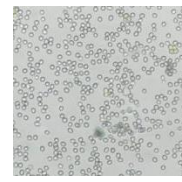
Microscopio

Maíz



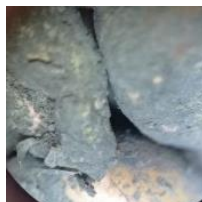
Collectotrichum sp.

Maíz

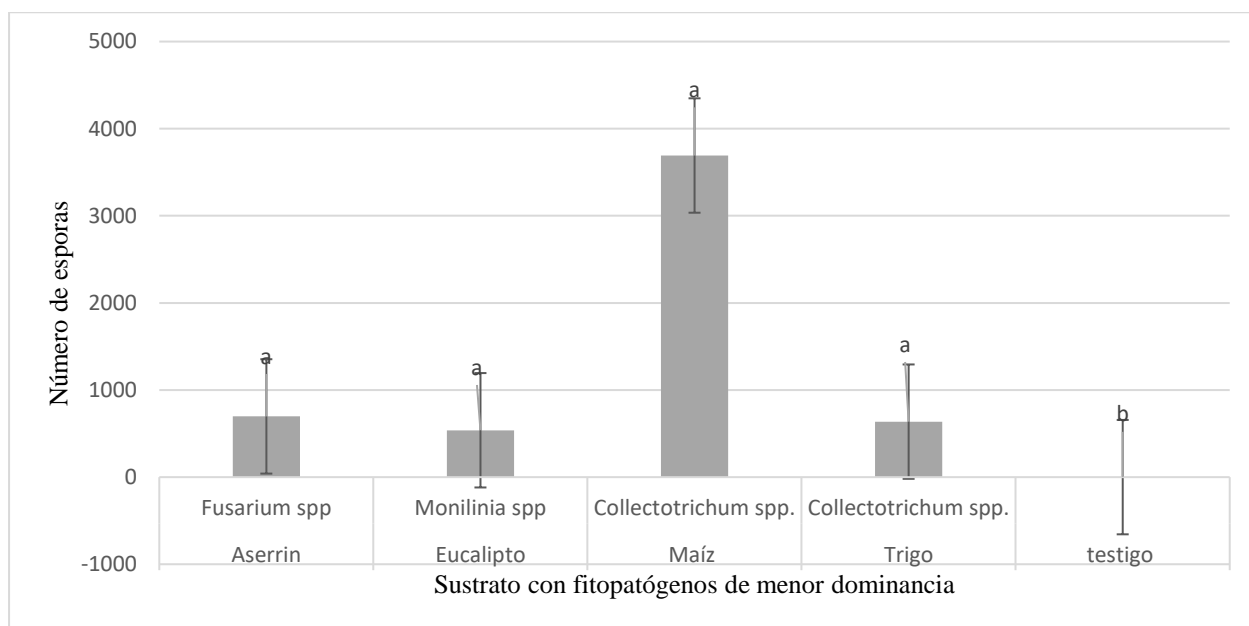


Monilinia sp.

Maíz



Se realizó el conteo de esporas por sustrato determinando el fitopatógeno con mayor susceptibilidad al efecto de *T. asperelloides* en los diversos sustratos a través del valor más alto de esporulación del hongo antagónico (Figura 2).



*a.b.c literales diferentes, entre renglones indican diferencias significativas ($P \leq 0,05$).

Discusión

En general en todos los sustratos inicialmente se evidenció la formación de micelio de color blanco de *T. asperelloides* sobre el material vegetativo, posteriormente se tornó a verde pino, durante 21 días de crecimiento. Los resultados indican que la reproducción conidial fue más efectiva en granos de maíz debilitando a *Fusarium* spp. con una totalidad de 3692 conidios/mL ya que la invasión fue en su totalidad en menos tiempo en comparación con el resto, estos resultados se asimilan a los presentados por Mulatu *et al.* (2021) al evaluar especies de *Trichoderma* bajo fermentación en estado sólido, mediante 14 sustratos de orgánicos después de los 21 días de incubación, encontrando que una mezcla de salvado de trigo y el arroz apoya el crecimiento máximo

de *T. asperellum* (3.2×10^7 esporas/g de sustrato seco) y *T. longibrachiatum* (3.5×10^7 esporas/g de sustrato seco).

Por otro lado, Silva *et al.* (2018) utilizaron la técnica planteada en este estudio para la inoculación de *T. asperelloides* y *T. asperellum* sobre gránulos de trigo con una concentración de 1×10^6 conidios ml^{-1} para determinar el micoparasitismo sobre *Sclerotinia sclerotiorum*, obteniendo resultados de 100% de inhibición del hongo sobre el sustrato, no obstante estudios realizados en Cuba han demostrado la reproducción masiva de *T. harzianum* en aserrín de pino blanco obteniendo 29.87% de reproducción conidial sobre el bagazo de caña (Antomarchi *et al.*, 2023) difiriendo de esta investigación ya que el aserrín de pino solo fue sobresaliente en el género *Alternaria*.

Agradecimientos

Agradezco a CONACyT quien me otorgó la beca de estudios de posgrado lo cual me permitió participar en esta investigación, así como también a la Universidad Autónoma de Sinaloa, Universidad Tecnológica de la Tarahumara y a la Universidad Tecnológica de la Baticora por proporcionar equipos tecnológicos para la ejecución de este trabajo.

Literatura citada

- Antomarchi, O.Y.; Tamayo, R.E.; Guerra, B.J.L; Siannah, M.M.D. y Barrera, A.A.L. 2023. Producción de hongo *Trichoderma harzianum* a-34 en sustratos sólidos alternativos. Revista Científica Arbitrada Multidisciplinaria. 5(1): 259-267. <http://editorialalema.org/index.php/pentaciencias/article/view/440/572>
- Bastidas O. 2018. Conteo celular con hematócitometro (uso elemental del hematócitometro). Nota técnica No 1 Neubauer chamber cell counting. Celeromics. 6p <https://xdoc.mx/documents/conteo-celular-con-hematocitometro-606bdf1d4e7c7>
- Bevacqua, D.; Génard, M.; Lescourret, F.; Martinetti, D.; Vercambre, G.; Valsesia, P. and Mirás-Avalos, J. M. 2019. Coupling epidemiological and tree growth models to control fungal diseases spread in fruit orchards. Scientific Reports. 9(1): article e8519. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-44898-6>
- Gato CY. (2010). Métodos de conservación y formulación de *Trichoderma harzianum* rifai. Revista de Fitosanidad. 14:189-195. <http://scielo.sld.cu/pdf/fit/v14n3/fit08310.pdf>

- Mulatu, A.; Alemu, T.; Megersa, N. and Vetukuri, R. R. 2021. Optimization of culture conditions and production of bio-fungicides from *Trichoderma* species under solid-state fermentation using mathematical modeling. *Microorganisms* 9(8): 1675. <https://doi.org/10.3390/microorganisms9081675>
- Porras, F.D.; Anchondo, P.C.; González, A.A.; Piñón M.M.A. y Anchondo, A.A. 2021. Diagnosis, technology transfer and technical support for the development of family production units in the municipality of Morelos, Chihuahua. *Revista Biologica Agripecuaria Tuxpan* 9 (2):62-71. <https://doi.org/10.47808/revistabioagro.v9i2.363>
- Ren, F.; Dong, W. and Yan, D.H. 2019. Organs, cultivars, soil, and fruit properties affect structure of endophytic mycobiota of pinggu peach trees. *Microorganisms*. 7(9): article e322. <https://doi.org/10.3390/microorganisms7090322>
- Rodríguez, T.; Morales D. y Ramírez, M. A.2000. Efecto de extractos vegetales sobre el crecimiento *in vitro* de hongos fitopatógenos cultivos tropicales. 21(2): 79-82. <https://www.redalyc.org/pdf/1932/193215024014.pdf>
- SAS. Statistical Analysis System, [SAS Institute Inc]. 2011. JMP versión 9.0.1. Statistical Discovery. From SAS. USA: Author. A Business Unit of SAS Campus Drive Cary, NC 27513. https://www.sas.com/en_us/software/stat.html
- Silva, M. A. F.; De Moura, K. E.; De Salomão, D. and Patricio, F. R. A. 2018. Compatibility of *Trichoderma* isolates with pesticides used in lettuce crop. *Summa Phytopathologica* 44(2): 137–142. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/176873>

La Sociedad Mexicana de Control Biológico A. C.

Otorga la siguiente **Constancia**

A: Ángel Rosario Ceballos-Chávez, Blanca Elvira López-Valenzuela, Glenda Judith Lizárraga-Sánchez, Fernando Alberto Valenzuela-Escoboza, Everardo López-Bautista, Gema Idaly Bustillos- Bustillos, Jesús Noé Leyva-Armendáriz

Por su participación como ponente del trabajo "**Competencia de *Trichoderma asperelloides* (Hypocreales: Hypocreaceae) vs hongos fitopatógenos foliares en diferentes sustratos orgánicos**" en el marco del XLV Congreso Nacional de Control Biológico, 26 y 27 octubre de 2023 en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, Coahuila, México.


Mariza Araceli Sarmiento Cordero
Coordinadora del Congreso y
Carteles


Beatriz Rodríguez Vélez
Presidente de la SMCB
2021-2023


Miguel Angel Ayala Zermeño
Coordinador del Congreso y
Carteles

ANEXO 8. Congreso SUMUCAAB 2023

Evaluación de *Trichoderma asperelloides* en competencia por espacio y nutrientes en sustratos orgánicos contra hongos fitopatógenos.

Ángel R. Ceballos-Chávez¹, Blanca E. López-Valenzuela^{1*}, Glenda J. Lizárraga-Sánchez² Everardo López-Bautista¹, Fernando Alberto Valenzuela- Escoboza¹, Quintin A. Ayala Armenta¹, Javier A. Garza-Hernández⁴ y Alejandro Márquez Lujan³.

RESUMEN

Las enfermedades de las plantas son responsables de importantes pérdidas de cultivos en todo el mundo y representan una amenaza para la seguridad alimentaria mundial. El empleo de extractos vegetales para el control de plagas y enfermedades en el marco de una agricultura sostenible constituye una alternativa promisorio, debido a su elevada efectividad, bajo costo y no ser contaminantes del ambiente. El objetivo del presente trabajo fue evaluar la actividad biológica de reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides* en diferentes sustratos orgánicos comerciales contra fitopatógenos foliares. : se consideró evaluar la cepa número 3 de *T. asperelloides* previamente identificada, realizando la inoculación de 50 mL con una concentración de 1×10^6 de solución los géneros *Monilinia* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp. y *Colletotrichum* sp. en sustratos de aserrín, eucalipto, trigo y maíz, después de tres días se le inyectó 50 mL de la solución conidial de *T. asperelloides* sobre cada uno de los sustratos con 500 g contenidos en bolsas de polietileno, realizando un conteo conidial a través de la fórmula $V_2 = C_1 \times V_1 / C_2$, empleando un diseño completamente al azar con arreglo factorial. Los resultados mostraron un crecimiento a los tres días en el sustrato de maíz sobre los fitopatógenos foliares de *Alternaria* sp., *Collectotrichum* sp. y *Monilinia* sp. con una cantidad total de esporas de 3692 conidios/mL ya que la invasión fue en su totalidad en menos tiempo en comparación con el resto, en todos los sustratos inicialmente se evidenció la formación de micelio de color blanco de *T. asperelloides* sobre el material vegetativo, posteriormente se tornó a verde pino, durante 21 días de crecimiento. Se recomienda aplicar *T. asperelloides* en sustratos orgánicos sobre suelos de cultivos agrícolas.

Palabras clave: Hongo, material vegetativo, micoparasitismo, *Trichoderma asperelloides*.

ABSTRACT

Plant diseases are responsible for significant crop losses worldwide and pose a threat to global food security. The use of plant extracts to control pests and diseases within the framework of sustainable agriculture constitutes a promising alternative, due to its high effectiveness, low cost and non-polluting of the environment. The objective of this work was to evaluate the biological activity of conidial reproduction of *Trichoderma asperelloides* in different commercial organic substrates against foliar phytopathogens. : it was considered to evaluate the previously identified strain number 3 of *T. asperelloides*, performing the inoculation of 50 mL with a concentration of 1×10^6 of solution of the genera *Monilinia* sp., *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp. and *Colletotrichum* sp. in sawdust, eucalyptus, wheat and corn substrates, after three days 50 mL of the conidial solution of *T. asperelloides* was injected onto each of the substrates with 500 g contained in polyethylene bags, performing a conidial count through the formula $V_2 = C_1 \times V_1 / C_2$, using a completely randomized design with factorial arrangement. The results showed growth after three days in the corn substrate on the foliar phytopathogens of *Alternaria* sp., *Collectotrichum* sp. and *Monilinia* sp. with a total number of spores of 3692 conidia/mL since the entire invasion took less time compared to the rest, in all substrates the formation of white mycelium of *T. asperelloides* on the vegetative material was initially evident. , later it turned pine green, during 21 days of growth. It is recommended to apply *T. asperelloides* in organic substrates on agricultural crop soils.

Keywords: Fungus, vegetative material, mycoparasitism, *Trichoderma asperelloides*.

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Av. Japaraqui y Calle 16 S/N, CP 81110, *Juan José Ríos, Sinaloa México*

²Universidad Autónoma de Occidente-UR Los Mochis. Blvd. Macario Gaxiola y carretera Internacional, México 15, CP 81216, Los Mochis, Sinaloa, México.

³Universidad Tecnológica de la Babilonia. Departamento de Agricultura Sustentable y Protegida. Carretera Soto Máñez – Gómez Farias, Col. Oscar Soto Máñez, C.P. 31963, Namiquipa, Chihuahua, México.³

⁴Universidad Autónoma de Ciudad Juárez- Instituto de Ciencias Biomedicas. Av. Bnejamin Franklin 4650, CP 32315, Ciudad Juarez, Chihuahua.

Autor de correspondencia: blancalopezvzla@favf.mx

SOMUCAAB **UNIVERSIDAD DE COSTA RICA** **CICY** **UACAM** **CEDESU**
UAT **Colegio de Postgraduados**

La Sociedad Multidisciplinaria en Ciencias Agronómicas Aplicadas y Biotecnología A.C. de México. La Universidad de Costa Rica. El Centro de Investigación Científica de Yucatán. La Universidad Autónoma de Tamaulipas. El Colegio de Postgraduados Campus Tabasco, y el Centro de Estudios en Desarrollo Sustentable y Aprovechamiento de la Vida Silvestre de la Universidad Autónoma de Campeche.

Otorgan la presente

CONSTANCIA

Ángel Rosario Ceballos Chávez

Blanca E. López-Valenzuela, Glenda J. Lizárraga-Sánchez, Everardo López-Bautista, Fernando Albero Valenzuela- Escoboza, Quintin A. Ayala Armenta, Javier A. Garza-Hernandez y Alejandro Marquez Lujan

Por su participación como **PONENTE** en el V CONGRESO INTERNACIONAL Y VII ENCUENTRO DE LA RED DE VINCULACIÓN SOMUCAAB-2023 - Modalidad virtual, desarrollado del 15 al 17 de noviembre del año en curso. Con el trabajo titulado:

Evaluación de Trichoderma asperelloides en competencia por espacio y nutrientes en sustratos orgánicos contra hongos fitopatógenos.

Morelia, Michoacán de Ocampo, a 18 de noviembre de 2023.
"Sembrando conocimiento, cosechando desarrollo"

 DRA. LAURA YESENIA SOLÍS RAMOS UNIVERSIDAD DE COSTA RICA ESCUELA DE BIOLOGÍA CIBET-UCR	 DRA. ILEANA ECHEVARRÍA MACHADO DIRECTORA UNIDAD DE BIOLOGÍA INTEGRATIVA CENTRO DE INVESTIGACIÓN CIENTÍFICA DE YUCATÁN A.C.	 DR. FULGENIO ALATORRE COBOS UNIDAD DE BIOLOGÍA INTEGRATIVA ORGANIZADOR - CICY A.C.
 DR. DEMBÁ RINOJOSA GARRO UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE CAMPECHE CEDESU - DIRECTOR	 M.D. CESAR CRUZ TREJO UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE TAMAULIPAS UNIDAD ACADÉMICA MULTIDISCIPLINARIA MANTE	 DR. CARLOS FREDY ORTIZ GARCÍA COLEGIO DE POSTGRADUADOS TABASCO RESPONSABLE DE DIRECCIÓN

YouTube **zoom** Video Conferencing

DRA. YOLANDA RODRÍGUEZ PAGAZA
PRESIDENTE 2022-2023
SOMUCAAB A.C.

SOMUCAAB
Sociedad Multidisciplinaria en Ciencias Agronómicas Aplicadas y Biotecnología A.C.
R.F.C. MCA 08023 IMQ

Morelia de Morelia No. 55, Col. Los Mesquites de Morelia, Morelia, Michoacán de Ocampo, México.
Código Postal 58000. RFC: MCA 08023 IMQ.
www.somucaab.com.mx, Tel: +52 (521) 176-0884

ANEXO 9. Congreso de Ciencias Agrícolas 2024
Evaluación de hongos fitopatógenos en *Prunus persica* L. y efecto de control biológico en condiciones de invernadero.

Ceballos Chávez Ángel Rosario¹, López Valenzuela Blanca E.^{1*}, Valenzuela Escoboza Fernando A.¹, Ayala Armenta Quintín A.¹ López Bautista Everardo¹, Romero Félix Celia S¹, Arreola Erives Perla F.² y Márquez Lujan Héctor A².

Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Av. Japaraqui y Calle 16 S/N, CP 81110, Juan José Ríos, Sinaloa México¹ blancalepezvzla@favf.mx*

Universidad Tecnológica de la Babócora-Departamento de Agricultura Sustentable y Protegida. Carretera Soto Máynez – Gómez Farias, Col. Oscar Soto Máynez, C.P. 31963, Namiquipa, Chihuahua, México².

Resumen

De las enfermedades más comunes en *Prunus persica* de mayor impacto son la pudrición parda, antracnosis y marchitamiento provocadas por *Monilinia frutícola* *Colletotrichum* spp. y *Fusarium* spp. generando pérdidas en más de 32% de la producción. El objetivo de este trabajo fue evaluar la actividad antagónica de *Trichoderma asperelloides* para el control de *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp. y *Monilinia* spp. en plantas de *Prunus persica* de un año de edad en condiciones de invernadero. Para realizar las pruebas de confrontación en planta se realizaron inoculaciones de *Trichoderma asperelloides* sobre las plantas libres de fitopatógenos, con suspensiones de esporas de 15 mL a una concentración de 1×10^6 conidios. mL⁻¹, mediante la técnica de aspersion, las variables evaluadas fueron diámetro de hoja (cm), longitud de tallo (cm) altura (cm), la severidad fue estimada de acuerdo a una escala de 1-4 por número de lesiones y la incidencia de 0 a $\geq 75\%$ evaluándose con un diseño estadístico completamente al azar. No se presentan diferencias significativas en los tratamientos de acuerdo las variables evaluadas de diámetro de tallo, diámetro de hoja y altura obteniéndose un 100% de incidencia en los tratamientos, resultando *Monilinia* spp. más patogénico para el cultivo de durazno. Se considera la cepa 3 de *T. asperelloides* presenta un alto potencial para el control *in vivo* frente a los fitopatógenos foliares en plantas de durazno de un año de edad.

Palabras clave: Patógenos, tratamientos, *Trichoderma asperelloides*, variables de respuesta.

Abstract

Of the most common diseases in *Prunus persica* with the greatest impact are brown rot, anthracnose and wilting caused by *Monilinia frutícola*, *Colletotrichum* spp. and *Fusarium* spp. generating losses of more than 32% of production. The objective of this work was to evaluate the antagonistic activity of *Trichoderma asperelloides* for the control of *Fusarium* spp., *Colletotrichum* spp. and *Monilinia* spp. in one-year-old *Prunus persica* plants under greenhouse conditions. To carry out the confrontation tests in plants, inoculations of *Trichoderma asperelloides* were carried out on plants free of phytopathogens, with 15 mL spore suspensions at a concentration of 1×10^6 conidia. mL⁻¹, using the spray technique, the variables evaluated were leaf diameter (cm), stem length (cm), height (cm), the severity was estimated according to a scale of 1-4 by number of lesions and the incidence from 0 to $\geq 75\%$ evaluated with a completely randomized statistical design. There are no significant differences in the treatments according to the evaluated variables of stem diameter, leaf diameter and height, obtaining a 100% incidence in the treatments, resulting in *Monilinia* spp. more pathogenic for the peach crop. Strain 3 of *T. asperelloides* is considered to have high potential for *in vivo* control against foliar phytopathogens in one year old peach plants.

Keywords: Pathogens, treatments, *Trichoderma asperelloides*, response variables.

Introducción

La pudrición parda, antracnosis y marchitamiento en el melocotón son de las enfermedades más destructivas transmitidas por el área foliar y provoca una reducción drástica de producción y crecimiento vegetativo. Algunos agentes fitopatógenos podrían afectar el desarrollo de los árboles al dañar las raíces de los árboles y atrofiar los brotes. Recientemente se ha informado que los hongos son los principales agentes causales de la disminución de los árboles frutales en los huertos (Mannai & Boughalleb, 2022).

Estos fitopatógenos son causales de enfermedades que pueden reducir seriamente el rendimiento del melocotón, por mencionar a *Fusarium* spp. es una clase de hongo notorio que causa la pudrición de las raíces, el tronco, las flores, las ramas y los frutos, originando el marchitamiento y la muerte de la planta (Dong et al., 2023c). Además, *Monilinia frutícola* es el responsable de importantes pérdidas de producción postcosecha el cual provoca la pudrición parda llegando a dañar más del 32% de la producción (Tsalgatidou et al., 2024), por su parte

Collectotrichum spp. infecta principalmente la fruta, pero también pueden causar lesiones en hojas o ramitas. Las lesiones en los frutos aparecen como áreas firmes, marrones y hundidas lo cual índice a la antracnosis sobre el área afectada (Tan et al., 2022b).

Ante el grado de pérdidas económicas se han propuesto estrategias de control biológico de *Trichoderma* spp. ejerciendo un alto potencial biocontrol sobre fitopatógenos foliares, al ser una técnica altamente sustentable, así como contribuir a la promoción del crecimiento de las plantas (Oliveira et al., 2022). El objetivo fue evaluar la actividad antagónica de *Trichoderma asperelloides* para el control de *Fusarium* spp., *Collectotrichum* spp. y *Monilinia* spp. en plantas de *Prunus persica* de un año de edad en condiciones de invernadero.

Materiales y métodos

Suspensión conidial. Se realizaron inoculaciones de *Trichoderma asperelloides* sobre las plantas libres de fitopatógenos, con suspensiones de esporas de 15 mL a una concentración de 1×10^6 conidios. mL⁻¹, mediante la técnica de aspersion de acuerdo a Udhayakumar et al. (2019), usando atomizadores. Las plantas se mantuvieron a 27°C± 2, con HR 85%, haciendo observaciones diarias durante 60 días.

Evaluación en planta en condiciones de invernadero: Se realizó la prueba de confrontación en planta de 4 aislamientos de *Fusarium* spp. (dos aislados), *Collectotrichum* sp. (un aislado) y *Monilinia* sp. (un aislado) contra la cepa 3 de *Trichoderma asperelloides* previamente identificada (3=SP-M-M5-R-T), dando ventaja de 3 días de crecimiento de los patógenos para posteriormente inocular el antagonista, inoculando de 3-4 hojas (El Maaloum, et al., 2020).

Valoración de las variables de respuesta: Los factores estudiados fueron diámetro de hoja (cm), longitud de tallo (cm) altura (cm) medidos con un vernier digital, la severidad se clasificó mediante la escala propuesta por Arafat et al., (2021), en cuatro grados (Tabla 1) con variabilidad de porcentajes.

Tabla 1. Escala de severidad en planta de durazno variedad prisco.

Grado	Numero de lesiones	Porcentaje de afectación
1	1-3	Se produjeron manchas graduales entre el 1 y el 25 % de las hojas.
2	4-6	Se produjeron manchas graduales en el 26-50 % de las hojas.
3	7-9	Se produjeron manchas graduales en el 51-75 % de las hojas.
4	≥10	Se produjeron manchas graduales en el 76-100 % de las hojas.

La severidad se estimó por la fórmula: DSI (o/o): severidad promedio: $\Sigma (v \times n) / N.V \times 100$ donde: v= Representa el valor numérico de la enfermedad escala de índice, n= es el

número de plantas asignadas a la escala del índice de enfermedad, N= es el número total de las plantas y V= es el valor numérico de la escala de índice de enfermedad más alta. El nivel de incidencia de cada tratamiento se calificó por el porcentaje de esporulación después de 7 días de evaluación de acuerdo a la escala propuesta por Özer et al. (2021) para la resistencia de la hoja con la misma cantidad de inóculo (Tabla 2).

Tabla 2. Porcentaje de incidencia en hoja.

%	Descripción
0	Extremadamente resistente
0.1-5.0	Altamente resistente
5.1-25	Resistente
25.1-50	Sensible
50.1-75.0	Muy sensible
75≥	Extremadamente sensible

Análisis estadístico: Para determinar la severidad e incidencia en plantas de un año de edad se utilizó un diseño completamente al azar de 4 aislados x 4 repeticiones (más los controles), los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y para la comparación de medias se determinó de acuerdo a la prueba de Tukey-Kramer ($P \leq 0.05$), empleando el programa estadístico SAS versión 9.4. (Statistical Analysis System, (SAS Institute Inc), 2022).

Resultados y discusión

Los análisis de varianza (ANOVA) indican que no se presentan diferencias significativas en los tratamientos de acuerdo las variables evaluadas de diámetro de tallo, diámetro de hoja y altura con respecto al testigo, sin embargo, en cuanto a la severidad si hubo diferencias significativas entre los tratamientos al indicar a *Monilinia* spp. con más alto grado de severidad como se muestra en la tabla 3.

Tabla 2. Porcentaje de severidad en hoja.

Aislado	Género	Grado de escala	Número de lesiones	Severidad (%)
B-F-M1-A2	<i>Fusarium</i> sp.	1	2	11.25 bc
B-F-M1-A3	<i>Fusarium</i> sp.	2	5	32.8 ab
LJ-M2-H	<i>Collectotrichum</i> sp.	1	3	22.7 b
Y-M1-F	<i>Monilinia</i> sp.	3	7	61.23 a
Testigo	Test	0	0	0 c

En cuanto a la incidencia de los fitopatógenos (4 aislados), éstos presentaron micelio, lesiones y coloraciones tanto en tallo como en la hoja de la variedad prisco, desarrollando un 100 % en los bioensayos, por lo que son considerados extremadamente sensibles para el cultivo del duraznero de la zona sur de Chihuahua. Así mismo se han encontrado estudios sobre el efecto de *T. asperelloides* y *T. asperellum* sobre *C. gloesporoides* en plántulas de chile desarrolladas en laboratorio para atacar antracnosis manteniendo una incidencia de 62.07% (Boukaew et al., 2024).

Conclusiones

Todos los aislados mostraron incidencia en todas las unidades experimentales evaluadas en condiciones de invernadero, además de presentar de dos hasta siete lesiones ubicándose en la escala de severidad 1-3, considerando a *Monilinia* sp. como uno de los hongos con mayor afectación al cultivo del duraznero.

De acuerdo a las variables de respuesta evaluadas se considera la cepa 3 de *T. asperelloides* presenta un alto potencial para el control *in vivo* frente a los fitopatógenos foliares en plantas de durazno de un año de edad.

Referencias bibliográficas

- Arafat, K. H., Hassan, M., & Hussein, E. A. (2021). Detection, disease severity and chlorophyll prediction of date palm leaf spot fungal diseases. *New Valley Journal of Agricultural Science*, 1(2), 98-110.
DOI: [10.21608/nvjas.2022.110022.1027](https://doi.org/10.21608/nvjas.2022.110022.1027)
- Boukaew, S., Chumkaew, K., Petlamul, W., Srinuanpan, S., Nooprom, K., & Zhang, Z. (2024). Biocontrol effectiveness of *Trichoderma asperelloides* SKRU-01 and *Trichoderma asperellum* NST-009 on postharvest anthracnose in chili pepper. *Food Control*, 163, 110490. <https://doi.org/10.1016/j.foodcont.2024.110490>
- Dong, J., Shi, H., Wu, Y., Yang, L., Zhu, F., & Ji, Z. (2023c). Identification and pathogenicity analysis of *Fusarium* spp. on peach in China. *BMC Microbiology*, 23(1). <https://doi.org/10.1186/s12866-023-02958-y>
- El Maaloum, S., Elabed, A., Alaoui-Talibi, Z. E., Meddich, A., Filali-Maltouf, A., Douira, A., Ibsouda-Koraichi, S., Amir, S., and El Modafar, C. 2020. Effect of Arbuscular Mycorrhizal Fungi and Phosphate-Solubilizing Bacteria Consortia Associated with Phospho-Compost on Phosphorus Solubilization and Growth of Tomato Seedlings (*Solanum lycopersicum*

- L.). *Communications in Soil Science and Plant Analysis* 51(5): 622–634. <https://doi.org/10.1080/00103624.2020.1729376>
- Mannai, S., & Boughalleb-M'Hamdi, N. (2022). *In vitro* and in planta potential effect of some indigenous antagonists against *Fusarium* and pythiaceous species associated with peach seedlings decline. *Egyptian Journal Of Biological Pest Control*, 32(1). <https://doi.org/10.1186/s41938-022-00540-8>
- Oliveira, R. S., Chagas, L. F. B., Martins, A. L. L., Souza, M. C., Luz, L. L., Gomes, F. L. & Chagas Junior, A. F. (2022). *Trichoderma* in the phytopathogenic biocontrol. *Bulg. J. Agric. Sci.*, 28 (4), 717–724 <https://www.agrojournal.org/28/04-18.pdf>
- Özer, N., H.I., Uzun, B., Aktürk, C., Özer, M., Akkurt, & S. Aydın. 2021. Resistance assessment of grapevine leaves to downy mildew with sporulation area scoring. *European Journal of Plant Pathology* 160 (2):337–348. <https://doi.org/10.1007/s10658-021-02247-2>
- Tan, Q., Schnabel, G., Chaisiri, C., Yin, L., Yin, W., & Luo, C. (2022b). *Colletotrichum* Species Associated with Peaches in China. *Journal Of Fungi*, 8(3), 313. <https://doi.org/10.3390/jof8030313>
- Tsalgatidou, P. C., Boutsika, A., Papageorgiou, A. G., Dalianis, A., Michaliou, M., Chatzidimopoulos, M., Delis, C., Tsitsigiannis, D. I., Paplomatas, E., & Zambounis, A. (2024). Global Transcriptome Analysis of the Peach (*Prunus persica*) in the Interaction System of Fruit–Chitosan–*Monilinia fructicola*. *Plants*, 13(5), 567. <https://doi.org/10.3390/plants13050567>
- Udhayakumar, R., S., Usharani and A. Muthukumar. 2019. Pathogenicity variation, morphological and cultural characteristic of *Colletotrichum gloeosporioides* isolates. *Plant Archives* 19 (1):425-430. [http://www.plantarchives.org/PDF%2019-1/425-430%20\(4604\).pdf](http://www.plantarchives.org/PDF%2019-1/425-430%20(4604).pdf)

Universidad Autónoma de Baja California
Instituto de Ciencias Agrícolas
XXVII Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas

“Producción Agrícola Sostenible: Estrategias Biotecnológicas para el Fortalecimiento de la Seguridad Alimentaria”
24 y 25 de octubre 2024. Mexicali, Baja California, México



**Comité
Organizador**

Dr. Ricardo Torres
Ramos
Presidenta

Dra. Aurelia Mendoza
Gómez
Secretaria

M.Ed. Rubén Encinas
Fregoso
Tesorero

Dra. Mary Triny
Beleño Cabarcas
Dra. Cristina Ruíz
Alvarado
Logística

Estimado(a) Ceballos Chávez Ángel Rosario

Reciba un cordial saludo, por este conducto nos complace informarle que, una vez realizado el proceso de arbitraje por el Comité Científico, su contribución:

Evaluación de hongos fitopatógenos en *Prunus persica* L. y efecto de control biológico en condiciones de invernadero

Cuyos autores son: López Valenzuela Blanca E., Valenzuela Escoboza Fernando A., Ayala Armenta Quintín A., López Bautista Everardo, Romero Félix Celia S., Arreola Erives Perla F., y Márquez Lujan Héctor A.

Ha sido aceptado para su presentación en modalidad ORAL

La programación del día y la hora se comunicará oportunamente previo al congreso, para cualquier duda o aclaración puede comunicarse al correo congreso.agricolas.ica@uabc.edu.mx. Para garantizar la presentación y publicación de su trabajo es importante que realice el pago de cuota de inscripción al congreso antes del 30 de agosto.

Será un gusto recibirlo en el XXVII Congreso Internacional de Ciencias Agrícolas, a realizarse el 24 y 25 de octubre del 2024, en el Centro de Convenciones del Hotel Calafia, Mexicali, Baja California, México.

Agradecemos su apreciable y valiosa participación en la vigésimo séptima edición de este evento.

ATENTAMENTE
“POR LA REALIZACIÓN PLENA DEL SER”
Ejido Nuevo León, Mexicali, B.C., 30 de agosto de 2024

Ricardo Torres Ramos

Dr. Ricardo Torres Ramos
Presidente Comité Organizador
XXVII Congreso Internacional en Ciencias Agrícolas

ANEXO 10. Primera página de la publicación del segundo capítulo

Rev. Mus. Argentino Cienc. Nat., n.s.

26(1): 109-120, 2024

ISSN 1514-5158 (impresa)

ISSN 1853-0400 (en línea)

Identificación y evaluación antagónica *in vitro* de cepas de *Trichoderma* spp. nativas contra patógenos del duraznero

Ángel Rosario CEBALLOS-CHÁVEZ¹, Blanca Elvira LÓPEZ-VALENZUELA^{1*}, Fernando Alberto VALENZUELA-ESCOBOZA¹, Quintín Armando AYALA-ARMENTA¹, Ramiro LUJAN-HOLGUÍN² & Héctor Alejandro MÁRQUEZ LUJÁN³

¹Universidad Autónoma de Sinaloa, Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte. Av. Japaraquí y Calle 16 S/N, CP 81110, Juan José Ríos, Sinaloa México. ²Universidad Tecnológica de la Tarahumara. Carretera Guachochi-Yoquivo, km 1,5, Turuseachi, CP 33180, Guachochi, Chihuahua, México. ³Universidad Tecnológica de la Babicora-Departamento de Agricultura Sustentable y Protegida. Carretera Soto Mátyez-Gómez Farías, Col. Oscar Soto Mátyez, C.P. 31963, Namiquipa, Chihuahua, México.

*Autor de correspondencia: blancalopezvzla@fave.mx

Abstract: Identification and antagonistic evaluation *in vitro* of strains of native *Trichoderma* spp. against peach pathogens. Interest in the biological control of phytopathogens has increased considerably due to the need to introduce effective environmentally friendly alternatives and put aside the massive use of agrochemicals. *Trichoderma* is an antagonistic agent used as a natural means against phytopathogens. The aim of the present investigation was to isolate and identify morphologically and molecularly native strains of *Trichoderma* sp. from the south of the state of Chihuahua, Mexico, testing its antagonistic capacity against phytopathogens. Four strains of *Trichoderma* sp. were isolated associated with plants such as *Prunus persica*, *Finnus sylvestris* and *Arbutus unedo*. In the *in vitro* antagonism tests, strains 1, 3, 5 and 8 were evaluated against the phytopathogens *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp., *Monilinia* sp. and *Collectotrichum* sp. subjecting the data to an Aligned Rank Transformation ANOVA test with 10 treatments and seven repetitions plus a control. The morphological identification of the antagonists was carried out according to the characteristics of the strain, physical growth and structural development of resistance, sequencing the TEF genes EF1-728F (5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3') and TEF1LLErev (5'-AACTTGCGAGGCAATGTGG-3'), and the primers ITS1 and ITS4 (ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACTGCGG-3') / ITS4 (5'-TCCCTCGCTTATTGATATGC-3') to identify the species present. All were identified as *Trichoderma asperelloides* and presented acceptable control over the control of phytopathogens. The post hoc test detected significant differences in strain 1, presenting 81.2% *in vitro* biological control. It is suggested to carry out evaluations in peach plants at field level.

Key words: *in vitro* antagonism, biological control, peach tree, molecular, morphological

Resumen: El interés en el control biológico de fitopatógenos ha aumentado de manera considerable, debido a la necesidad de introducir alternativas eficaces amigables con el medio ambiente, y dejar a un lado el uso masivo de agroquímicos. *Trichoderma* es un agente antagónico utilizado como medio natural contra fitopatógenos. El objetivo de la presente investigación fue aislar e identificar morfológica y molecularmente cepas nativas de *Trichoderma* sp. del sur del estado de Chihuahua, México, probando su capacidad antagónica contra fitopatógenos. Se aislaron cuatro cepas de *Trichoderma* sp. asociadas a plantas como *Prunus persica*, *Finnus sylvestris* y *Arbutus unedo*. En las pruebas de antagonismo *in vitro* se evaluaron las cepas 1, 3, 5 y 8 contra los fitopatógenos *Fusarium* sp., *Alternaria* sp., *Epicoccum* sp., *Monilinia* sp. y *Collectotrichum* sp. sometiendo los datos a la prueba ANOVA de Aligned Rank Transformation con 10 tratamientos y siete repeticiones más un testigo. La identificación morfológica de los antagonistas se llevó a cabo de acuerdo con las características de la cepa, crecimiento físico y desarrollo estructural de resistencia, secuenciando los genes EF1-728F (5'-CATCGAGAAGTTCGAGAAGG-3') y TEF1LLErev (5'-AACTTGCGAGGCAATGTGG-3') y los cebadores ITS1 e ITS4 (ITS1 (5'-TCCGTAGGTGAACTGCGG-3') / ITS4 (5'-TCCCTCGCTTATTGATATGC-3') para identificar las especies presentes. Todas fueron identificadas como *Trichoderma asperelloides* y presentaron un aceptable control sobre el control de fitopatógenos. La prueba post hoc detectó diferencias significativas en la cepa 1 presentando 81.2% de control biológico *in vitro*. Se sugiere realizar evaluaciones en planta de durazno a nivel campo.

Palabras clave: Antagonismo *in vitro*, control biológico, duraznero, molecular, morfológica

ANEXO 11. Primera página de la publicación del tercer capítulo

Bioagro 35(3): 259-270. 2023

doi: <http://www.doi.org/10.51372/bioagro353.9>

HOSPEDANTES EN FRUTALES DE IMPORTANCIA ECONÓMICA ASOCIADOS A PATÓGENOS FOLIARES DEL DURAZNERO (*Prunus persica* L.)

Ángel R. Ceballos-Chávez¹, Glenda J. Lizárraga-Sánchez², Karla Y. Leyva-Madriral², Diana M. Mc Caughey-Espinoza⁴, Leidy E. Chávez-García³, Fernando A. Valenzuela-Escoboza¹ y Blanca E. López-Valenzuela¹.

RESUMEN

En México, la presencia de hongos fitopatógenos ocasiona severos daños en frutos de durazno (*Prunus persica* L.), después de la cosecha, causando disminución en la exportación de productos procesados y en vida de anaquel. El objetivo de este trabajo fue describir el rango de hospedantes de hongos foliares en frutos de manzano (*Malus domestica* Borkh), fresa (*Fragaria* spp.), ciruela (*Prunus domestica* L.), pera (*Pyrus communis* L.) y membrillo (*Cydonia oblonga* Mill.), y en hojas de variedades de durazno. Para la prueba de patogenicidad se utilizó la técnica de aspersión y las enfermedades se valoraron mediante la escala de severidad de 5 grados de 0 a $\geq 75\%$ de presencia de síntomas sobre el fruto y del 10 a $\geq 60\%$ para hoja desprendida y porcentaje de incidencia. Se inocularon conidios de *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Epicoccum* spp., *Collectotrichum* sp. y *Monilinia* sp., en todos los frutos y las hojas de las variedades de durazno amarillo, prisco y blanco, con siete repeticiones, dejando un testigo con agua destilada estéril para cada uno de los tratamientos; se colocaron en cámara húmeda en condiciones asépticas, a $27^{\circ}\text{C} \pm 1$ y se sometieron a regímenes de 14 horas oscuridad y 10 horas luz, por 4, 7, 10 y 12 días. Los datos se sometieron a un análisis de varianza utilizando la comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$). La variedad amarillo de durazno presentó mayor susceptibilidad a todos los hongos, los cuales fueron patógenos a los hospedantes con severidad de 0 a 97,14 %.

Palabras clave adicionales: Fruto, hongos, inocular, patogenicidad, severidad


ABSTRACT

Host range in economically important fruit trees associated with foliar phytopathogens of peach (*Prunus persica* L.).


In Mexico, the presence of phytopathogenic fungi causes severe damage to peach (*Prunus persica* L.) fruits after harvest, causing a decrease in the export of processed products and in shelf life. The objective of this work was to describe the host range of foliar fungi in fruits of apple (*Malus domestica* Borkh), strawberry (*Fragaria* spp.), plum (*Prunus domestica* L.), pear (*Pyrus communis* L.) and quince (*Cydonia oblonga* Mill.) and on leaves of peach varieties. For the pathogenicity test, the spray technique was used and the diseases were assessed using the 5-degree severity scale from 0 to $\geq 75\%$ of presence of symptoms on the fruit and from 10 to $\geq 60\%$ for detached leaf and percentage of incidence. Conidia of *Fusarium* spp., *Alternaria* spp., *Epicoccum* spp., *Collectotrichum* sp. and *Monilinia* sp. were inoculated from all the fruits and leaves of the yellow, prisco and white peach varieties, with seven replicates, leaving a control with sterile distilled water for each treatment. They were placed in a humid chamber under aseptic conditions, at $27^{\circ}\text{C} \pm 1$, and were subjected to regimes of 14 hours of darkness and 10 hours of light for 4, 7, 10 and 12 days. Data were subjected to analysis of variance and Tukey's test for comparison of means ($P \leq 0.05$). The yellow variety of peach presented greater susceptibility to all fungi, which were pathogenic to the hosts with severity from 0 to 97.14 %.

Additional keywords: Fruit, fungi, inoculate, pathogenicity, severity

ANEXO 12. Carta de la aceptación del cuarto capítulo



INSTITUTO NACIONAL DE INVESTIGACIONES, TECNOLOGÍA Y SERVICIOS AGRÍCOLAS



México
ISSN: 2407-0934

REVISTA MEXICANA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS

Texcoco, Estado de México, 11 de junio del 2024
Núm. Ref.: 3510-23

Dra. Blanca E. López-Valenzuela
Universidad Autónoma de Sinaloa
Presente

Por el presente adjunto a usted archivos electrónicos que contienen observaciones realizadas a su manuscrito científico Reproducción conidial de *Trichoderma asperelloides* en medios de cultivo y sustratos orgánicos o anterior tiene la finalidad de que atienda las observaciones del arbitraje y de acuerdo con la calidad de su respuesta se decidirá si continúa el proceso para su publicación en la revista. En hojas anexas deberá explicar cuando no esté de acuerdo con algunas observaciones señaladas e indicar cuales fueron atendidas.

Le solicito nos envíe su nueva versión en un plazo no mayor a 05 días hábiles, a partir de esta fecha. Agradeceré remita su documento en archivo electrónico utilizando el procesador Word.

Reciba un cordial saludo.

Atentamente

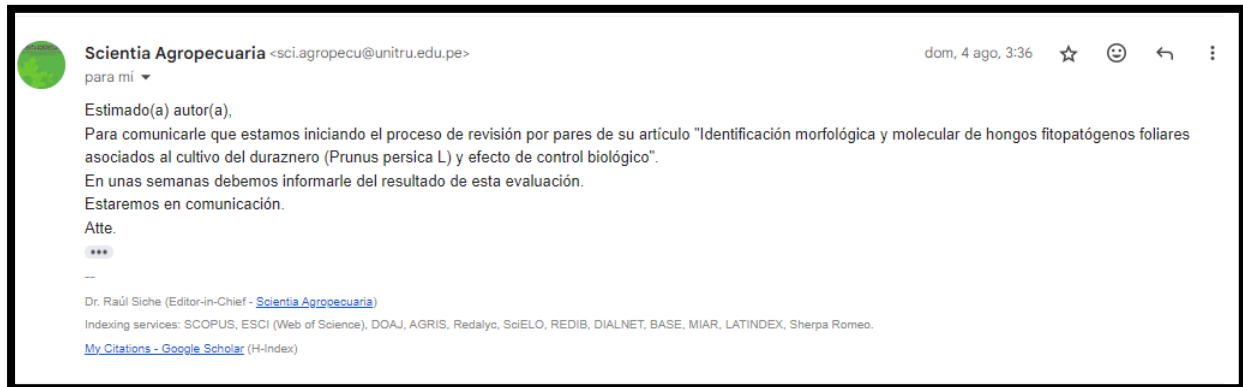
JSAPINPwR280w+VhUygg==EN0Xy6BnRfYwvTqDd3FD5IFPo=

Dra. Dora Ma. Sangerman-Jarquín
Editora en Jefa de la Revista
Mexicana de Ciencias Agrícolas

c.c.p. + Archivo
DMSJifgap

Carretera Los Reyes- Texcoco, km 13.5. Coatlincán, Texcoco, Estado de México, México. C. P. 56250
E-mail: revista_atm@yahoo.com.mx. Tel. 55-38-71-87-00 Ext. 85353

Anexo 13. Estatus de revisión del quinto capítulo



Anexo 14. Estatus de revisión del sexto capítulo

