



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS



FACULTAD
DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

Licenciatura en Biología

AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp.
ANTAGONISTAS A *Fusarium oxysporum* CAUSANTE DE LA
NECROSIS EN LA RAÍZ DEL *Agave angustifolia*.

TESIS PROFESIONAL POR ETAPAS

QUE PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

B I O L O G O

P R E S E N T A:

KASANDRA JOHANA SÁNCHEZ CASTELL

DIRECTOR

DR. EDGAR MARTÍNEZ FERNÁNDEZ

CUERNAVACA, MORELOS

JUNIO DEL 2023

AGRADECIMIENTOS

Al Centro de Investigaciones Biológicas (CIB) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos, por permitirme culminar mi licenciatura en uno de los tantos laboratorios que nos brinda dicha institución.

A mi director de tesis el Dr. Edgar Martínez Fernández quien me acepto en el laboratorio de Entomología y Fitopatología para llevar a cabo mi proyecto de tesis. Por enseñarme el valor de la responsabilidad, por creer en mí, por su apoyo incondicional durante mi estancia en laboratorio, así como también por los consejos que día con día me formaron para mi crecimiento profesional.

A la maestra Patricia Martínez Jaimes por compartirme sus conocimientos en laboratorio, por su paciencia, sus consejos y por todo el apoyo que me brindo a lo largo de mi proyecto de tesis.

A las Dras. Ma. De Lourdes Acosta Urdapilleta, Maura Téllez Téllez y Elba Villegas Villarreal por formar parte de mi comité evaluador, por los consejos y observaciones que me permitieron enriquecer mis conocimientos, así como mi trabajo de tesis.

A mi familia, mis padres, abuelo†, hermanos, sobrinos y a Alexia por formar parte de mi vida y sobre todo por el apoyo incondicional que día con día me brindo para culminar una etapa más en mi vida.

A mí, por nunca darme por vencida, por seguir adelante a pesar de todo y por vencer todos aquellos miedos e inseguridades que me detenían para poder lograrlo.

DEDICATORIA

Este trabajo de tesis es dedicado principalmente al amor de mi vida mi mami Maribel Castell Pliego, quien me impulsa día con día a lograr mis metas, por enseñarme a luchar siempre por lo que quiero, por no dejarme rendir a pesar de las adversidades, por todo su apoyo y amor incondicional que nos has entregado a mis hermanos y a mí, gracias mami por siempre darte todo por nosotros, te amo mucho. A mi papá Humberto Sánchez Rosendo quien me ha apoyado desde el día uno que comencé la carrera, quien, a pesar de las dificultades como familia y las distancias, me motivo a lograr mi formación profesional. A mi abuelo† Miguel Castell Álvarez, quien a pesar de ya no estar con nosotros sé que estas muy orgulloso de todo lo que he logrado, siempre te llevo en mi corazón, te amo y siempre te recordare por ser el abuelo (papá) más compresivo, amoroso, chistoso y maravilloso que la vida me pudo dar. A mis hermanos Adan, Diana y Kaory, por acompañarme en esta primer etapa de logros, por darme palabras de aliento y apoyo emocional. A mis niños hermosos Katherine, Caroline y Liam, por alegrar mis días con sus ocurrencias, bromas e historias, por su amor y cariño infinito, los amo muchísimo. A Alexia Rosales Morán (fierrito) quien ha estado para mí desde hace muchos años atrás, por ser mi mano derecha y enseñarme lo que significa la verdadera amistad, por no dejarme rendir y siempre estar en los momentos más difíciles, por todo el apoyo y consejos que me alientan a ser mejor, gracias por todo lo que haces por mí, te amo. A mis amigos en especial a Mariana Hernández, maestros, compañeros y a todas aquellas personas que en el transcurso de la carrera formaron parte de mi crecimiento personal y profesional para que yo pudiera culminar esta primer etapa en mi vida ❤️

INDICE GENERAL

| | |
|--|----|
| Índice general | 1 |
| Índice de cuadros | 3 |
| Índice de figuras | 4 |
| Resumen | 5 |
| 1. Introducción | 6 |
| 2. Marco Teórico | 8 |
| 2.1 Cultivo de <i>Agave angustifolia</i> | 8 |
| 2.1.1 Clasificación de <i>Agave angustifolia</i> | 9 |
| 2.1.2 Descripción de <i>Agave angustifolia</i> | 9 |
| 2.1.3 Distribución de <i>Agave angustifolia</i> | 10 |
| 2.1.4 Importancia de <i>Agave angustifolia</i> | 11 |
| 2.2 Factores que inciden en la producción | 12 |
| 2.2.1 Factores bióticos y abióticos | 13 |
| 2.3 Fitopatógenos del agave | 13 |
| 2.3.1 Bacterias..... | 14 |
| 2.3.2 Nematodos | 15 |
| 2.3.3 Hongos | 15 |
| 2.4 Género <i>Fusarium</i> | 16 |
| 2.4.1 Clasificación del género <i>Fusarium</i> | 19 |
| 2.4.2 Importancia del género <i>Fusarium</i> | 19 |
| 2.5 Necrosis en la raíz del agave | 19 |
| 2.6 Manejo de enfermedades | 20 |
| 2.7 Control químico | 20 |
| 2.8 Control biológico | 23 |
| 2.9 Género <i>Trichoderma</i> | 25 |
| 2.9.1 Clasificación del género <i>Trichoderma</i> | 26 |
| 2.9.2 Características morfológicas del género <i>Trichoderma</i> | 27 |
| 2.9.3 Importancia del género <i>Trichoderma</i> | 28 |
| 2.10 Mecanismos de acción de <i>Trichoderma</i> | 28 |
| 2.10.1 Competencia por nutrientes | 29 |

| | |
|--|-----------|
| 2.10.2 Competencia por espacio | 29 |
| 2.10.3 Micoparasitismo..... | 30 |
| 2.10.4 Antibiosis | 30 |
| 3. Justificación..... | 32 |
| 4. Hipótesis | 33 |
| 5. Objetivos..... | 33 |
| 5.1 Objetivo general..... | 33 |
| 5.2 Objetivos específicos | 33 |
| 6. Materiales y métodos..... | 34 |
| 6.1 Recolección de muestras de suelo..... | 35 |
| 6.2 Aislamiento de <i>Trichoderma</i> spp..... | 35 |
| 6.3 Evaluación in vitro del antagonismo de <i>Trichoderma</i> spp. hacia el patógeno <i>Fusarium oxysporum</i> | 36 |
| 6.4 Evaluación del sobrecrecimiento | 38 |
| 6.5 Identificación morfológica y molecular de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp. | 38 |
| 7. Resultados..... | 39 |
| 7.1 Características generales macroscópicas y microscópicas de <i>Trichoderma</i> spp. | 42 |
| 7.2 Inhibición del crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> por <i>Trichoderma</i> spp..... | 43 |
| 7.3 Sobrecrecimiento de <i>Trichoderma</i> spp. hacia <i>Fusarium oxysporum</i> | 46 |
| 7.4 Identificación morfológica de <i>Trichoderma</i> spp. | 49 |
| 8. Discusión | 62 |
| 9. Conclusiones..... | 66 |
| 10. Perspectivas | 67 |
| 11. Referencias bibliográficas | 68 |

INDICE DE CUADROS

| Contenido | Página |
|--|--------|
| Cuadro 1. Principales países consumidores de plaguicidas, 1990-2018 (toneladas). | 22 |
| Cuadro 2. Evaluación del sobrecrecimiento de <i>Trichoderma</i> spp. sobre <i>Fusarium oxysporum</i> . | 38 |
| Cuadro 3. Cepas de <i>Trichoderma</i> spp. aisladas de suelos de cultivo de agave en el municipio de Jojutla | 41 |
| Cuadro 4. Porcentaje del sobrecrecimiento micelial de <i>Trichoderma</i> spp. hacia <i>Fusarium oxysporum</i> | 48 |

INDICE DE FIGURAS

| Contenido | Página |
|---|--------|
| Figura 1. <i>Agave angustifolia</i> . | 8 |
| Figura 2. Distribución de <i>Agave angustifolia</i> | 11 |
| Figura 3. Morfología microscópica de <i>Fusarium oxysporum</i> | 18 |
| Figura 4. Uso del control químico | 21 |
| Figura 5. <i>Trichoderma</i> spp. | 26 |
| Figura 6. Morfología microscópica de <i>Trichoderma</i> spp. | 27 |
| Figura 7. Cepas de <i>Trichoderma</i> spp. aisladas de muestras de suelo del municipio de Jojutla. | 39 |
| Figura 8. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento (PIC) de <i>Trichoderma</i> spp. sobre <i>Fusarium oxysporum</i> . | 43 |
| Figura 9. Antagonismo de las cepas de <i>Trichoderma</i> spp. hacia <i>Fusarium oxysporum</i> a las 96 horas. | 44 |
| Figura 10. Sobrecrecimiento de cepas de <i>Trichoderma</i> spp. a los 13 días frente a <i>Fusarium oxysporum</i> | 46 |
| Figura 11. Promedio del crecimiento radial micelial de las cepas T5, T3 y T6 en SNA a 25 °C. | 49 |
| Figura 12. Promedio del crecimiento radial micelial de las cepas T5, T3 y T6 en PDA (difco) a 25 °C. | 50 |
| Figura 13. Promedio del crecimiento radial micelial de las cepas T5, T3 y T6 en SNA a 35 °C. | 51 |
| Figura 14. Promedio del crecimiento radial micelial de las cepas T5, T3 y T6 en PDA (difco) a 35 °C. | 52 |
| Figura 15. Características morfológicas de <i>T. asperellum</i> cepa 5; a)fiálide y conidióforo, b) conidios y c) clamidosporas. | 55 |
| Figura 16. Características morfológicas de <i>T. atroviride</i> cepa 3; a) Conidióforo y fiálides, b) conidios y c) clamidosporas. | 58 |
| Figura 17 Características morfológicas de <i>T. atroviride</i> cepa 6; a) Conidióforo y fiálides, b) grupos de conidios (formando borlas), c) clamidosporas intercalar solitaria y solitaria terminal y d) clamidosporas solitarias. | 61 |

RESUMEN

La importancia del cultivo *Agave angustifolia* se ha distinguido en México por la gran variedad de productos y subproductos que nos provee esta planta, sin embargo, en los últimos años el estado de Morelos se ha reportado la incidencia de una enfermedad producida por hongos de la especie *Fusarium oxysporum*, ocasionando pérdidas importantes en estos cultivos debido que inducen una necrosis en la raíz del agave. Una práctica común para el manejo de este problema fitosanitario es la aplicación de fungicidas, no obstante, se conocen las afectaciones que dichos químicos producen al ambiente y a la salud humana. Por lo anteriormente mencionado se ha propuesto como alternativa la aplicación de organismos antagonistas entre los que destacan hongos del género *Trichoderma* por su alta eficacia como agentes de biocontrol. Este trabajo tuvo como objetivo general evaluar la capacidad antagonista de cepas nativas de *Trichoderma* hacia el patógeno *F. oxysporum* causante de la necrosis en la raíz del agave. En los municipios de Tlaltizapán y Jojutla se obtuvieron muestras de suelo de plantaciones del *A. angustifolia*, con los cuales se realizaron aislamientos de *Trichoderma* spp. mediante la técnica de dilución en placa. Así mismo se evaluó *in vitro* el antagonismo de *Trichoderma* hacia *F. oxysporum* a través de cultivos duales bajo un diseño experimental completamente al azar, con 20 tratamientos y cinco repeticiones y 1 testigo. Las variables medidas fueron: porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC) y sobrecrecimiento. Las cepas que mostraron el mayor porcentaje de inhibición (PIC) fueron la T5 con un 28.4%, T3 con 23% y T6 con un 18.4% hacia *F. oxysporum*. Las cepas T17, T10, T3, T8, T5, T6, T15, T16, T15, T9, T11 y T7 sobrecrecieron al patógeno con un 95 al 100%. Las cepas que presentaron el mayor grado de antagonismo y sobrecrecimiento hacia el patógeno *F. oxysporum* fueron identificadas en base a su morfología macroscópica y microscópica tomando como referencia literatura especializada, resultando la cepa T5 como *T. asperellum* y las cepas T3 y T6 como *T. atroviride*.

Palabras clave: *Agave angustifolia*, necrosis de la raíz, *Fusarium oxysporum*, hongos antagonistas, *Trichoderma*.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de la especie *Agave angustifolia* se ha distinguido por la gran importancia que provee en nuestro país (ecológica, sociocultural y económica), principalmente en los estados de Chihuahua, Guerrero, Jalisco, Oaxaca, Puebla, Veracruz, Yucatán y Morelos (Barrientos, 2019) . En el transcurso de los años el cultivo de agave se ha intensificado de una manera considerable principalmente en México ya que ha sido reportado como el centro de origen y diversificación de dichas especies debido a su gran variabilidad de usos alimenticios, medicinales y culturales; sin embargo, el uso que más ha destacado en la especie *Agave angustifolia* es la elaboración de bebidas destiladas como bacanora, mezcal y pulque, lo cual ha favorecido económicamente a nuestro país, generando una buena fuente de empleo e ingresos para las familias de las zonas rurales especialmente (Hernández *et al.*, 2017 & Fragoso *et al.*, 2021). En el estado de Morelos el cultivo de agave se ha extendido principalmente en los municipios de Miacatlan, Jonacatepec y Tlaquiltenango, presentando en conjunto alrededor de 372 hectáreas de agave aproximadamente, lo cual ha representado un ingreso favorable para aquellos productores dedicados a dicho cultivo (Barrientos *et al.*, 2019).

En el cultivo de *Agave angustifolia* se presentan una serie de factores ambientales y bióticos, los cuales afectan de manera adversa su desarrollo y producción. Dentro de los factores abióticos se encuentran principalmente la temperatura, humedad, luz, pH del suelo, agua y disponibilidad de nutrientes esenciales; por otro lado, los factores bióticos, se destaca nematodos, bacterias y hongos los cuales se caracterizan por ocasionar gran variedad de enfermedades (Esqueda *et al.*, 2022). Dentro del grupo de los hongos géneros como *Fusarium*, *Asterina* y *Cercospora* han provocado cambios negativos para la producción de agave a nivel mundial, debido que dichos géneros han generado una serie de enfermedades de gran importancia, las cuales inducen síntomas variados, tales como manchas foliares, tizones florales, marchitez vascular, pudrición del cogollo y necrosis de la raíz. En investigaciones previas realizadas en plantas de agave cultivadas en México se han descrito

algunas sintomatologías causadas por diferentes grupos de hongos, sobresaliendo los daños en las raíces inducidos por *Fusarium* spp.

El método más común para el manejo de este problema fitosanitario es mediante la utilización de productos químicos. Sin embargo, se conoce que la aplicación excesiva de estos productos químicos contamina el suelo, aire y el agua e inducen resistencia en los patógenos (Tudi *et al.*, 2021). Dichas afectaciones han llevado a la búsqueda de alternativas no perjudiciales para combatir a los patógenos de plantas. Una alternativa para reducir los problemas por el uso de estos químicos es la aplicación del control biológico a través del empleo de organismos antagonistas, principalmente utilizando cepas del género *Trichoderma*, ya que presentan ciertas características que los vuelven excelentes agentes de biocontrol. *Trichoderma* es un hongo que se encuentran naturalmente en el suelo o en materiales vegetales, así como en numerosos suelos de usos agrícolas, además de desarrollarse en diversos sustratos. Actualmente, el hongo *Trichoderma* es uno de los agentes de mayor uso debido a su alta efectividad para un amplio rango de especies de plantas, utilizando tres principales mecanismos de control, los cuales son; micoparasitismo, antibiosis y competencia por espacio y nutrientes, por lo que su uso en el cultivo de la especie *Agave angustifolia* podría funcionar como una alternativa viable para el control de los patógenos que afectan directamente las raíces de la planta (Hernández *et al.*, 2019).

2. MARCO TEORICO

2.1 Cultivo de *Agave angustifolia*.

La especie *Agave angustifolia* también denominado “maguey delgado” o “espadín” se cultiva principalmente como monocultivo, sin embargo, su cultivo también se ha asociado con maíz y frijol formando un policultivo en sus primeros años de vida, a pesar de ello la vegetación que se encuentra formando parte del policultivo en las plantaciones de agave debe ser retirada en un determinado tiempo, generando de esta manera un monocultivo de agave el cual obtendrá una madurez completa en un periodo de entre 7 a 9 años aproximadamente (Cruz *et al.*, 2013). Su cultivo puede darse en zonas pedregosas, aunque los terrenos franco-arenoso son los más adecuados puesto que se facilita su trasplante y las plantas tienen condiciones para retener agua y se favorece el drenaje, otro factor importante para obtener un buen cultivo es una buena disposición de luz solar, así como abundante contenido en materia orgánica para lograr un óptimo crecimiento en las plantas (Figura 1) (Fragoso *et al.*, 2021).



Figura 1. *Agave angustifolia*

2.1.1. Clasificación del *Agave angustifolia* (Instituto de Biología UNAM., 2019).

Reino: Plantae

División: Tracheophyta

Clase: Liliopsida

Orden: Asparagales

Familia: Agavaceae

Género: *Agave*

Especie: *Agave angustifolia*

2.1.2 Descripción de *Agave angustifolia*

La familia Agavaceae incluye 288 especies de las cuales 166 son magueyes agrupados en el género *Agave* (Pérez *et al.*, 2016). El centro de mayor riqueza y diversidad biológica se encuentra en México, según Reynoso *et al.* (2012). Este autor indica que el género *Agave*, es muy diverso en el país, contando con aproximadamente 159 especies, de las cuales 119 son endémicas de México lo que representa un (75%) del total mundial. En el estado de Morelos se cuenta con un total de 6 especies de agaves silvestres.

La especie *Agave angustifolia* es muy aprovechada por los agricultores debido que su madurez es mucho más rápida que las demás especies puesto que llega a tardar entre 7-9 años aproximadamente, sin embargo, al referirnos a su biología estas plantas son monocárpicas es decir mueren una vez que han alcanzado su ciclo reproductivo, pueden presentar reproducción sexual y asexual, sin embargo en la reproducción sexual de estas plantas no es muy favorable debido a la baja supervivencia, así como una baja tasa germinativa ya que las semillas caen en un medio desfavorable siendo devoradas por herbívoros, siendo esta la razón

principal de estas para llevar a cabo una reproducción asexual (por hijuelos) (Fragoso *et al.*, 2021).

En cuanto a su morfología general estas plantas presentan rosetas cespitosas ampliamente abiertas de 1.0 a 1.5 m de alto por 1.5 a 2.0 m de diámetro, sus hojas maduras son fibrosas, largas y muy estrechas, de ahí el nombre designado para dicha especie que proviene del latín “Angusti” que significa estrecho y folia que significa hoja, debido a sus enormes hojas, las cuales pueden ser lineales o lanceoladas presentando un color verde claro a verde grisáceo; sus hojas desarrollan un succulencia que ayudan a almacenar agua en épocas de lluvias permitiendo de esta manera su supervivencia durante la ausencia de esta en largos periodos de tiempo, son plantas planas hacia el ápice, convexas y angostas hacia la base cuya terminación es determinada por una espina apical de 1.5 a 3.5 cm de largo las cuales presentan un color café oscuro a gris, presentan además pequeños dientes en los márgenes que pueden medir de 2 a 5 mm de longitud son suaves y espaciados, estas plantas además muestran un tallo de 20 hasta 60 cm de largo (Esqueda *et al.*, 2022). El quiate o inflorescencia en espiga alcanza aproximadamente hasta los 4 m de altura con ramas abiertas y flores de color verde amarillento las cuales presentan abundantes cantidades de néctar atrayendo así a gran variedad de polinizadores, el fruto es seco y las semillas presentan un color negro brillante en su interior. Otro factor importante en su morfología es su sistema de raíz, puesto que en los agaves la raíz es superficial y gracias a ello facilita la absorción de agua de lluvia (Hernández *et al.*, 2017).

2.1.3 Distribución de *Agave angustifolia*

La especie *A. angustifolia* es originaria de Norteamérica, sin embargo, presenta una amplia distribución desde el sur de Estados Unidos hasta Nicaragua (Hernández *et al.*, 2017). En México se distribuye principalmente en los estados de Aguascalientes, Campeche, Chiapas, Chihuahua, Durango, Guerrero, Jalisco, Estado de México, Michoacán, Nayarit, Oaxaca,

Puebla, Quintana Roo, Tamaulipas, Veracruz, Yucatán, Zacatecas, Sonora y Morelos (figura 2) en este último se ha registrado alrededor de 372 hectáreas de agave en las cuales está presente la especie *A. angustifolia*, la superficie mencionada está distribuida principalmente en los municipios de Tlaquiltenango, Miacatlan y Jonacatepec los cuales han sido registrados como los municipios con mayor producción (Barrientos *et al.*, 2019).



Figura 2. Distribución de *Agave angustifolia*

2.1.4 Importancia de *Agave angustifolia*

La gran importancia de la especie *A. angustifolia* radica desde tiempos prehispánicos puesto que dicha especie fue domesticada y cultivada por los mayas desde antes de la llegada de los españoles, adquiriendo sus características particulares y distribuyéndose de esta manera en diferentes partes del mundo, principalmente en México representando para nuestro país un importante valor económico. Al ser una especie fibrosa, diversos grupos indígenas han utilizado las fibras para la elaboración de sogas, cordeles, canastos, ropa, sandalias, cepillos,

jabones e incluso ha tenido una gran importancia medica puesto que dichas fibras se han utilizado para la elaboración de remedios para las torceduras o huesos rotos de personas o de animales, por otro lado, sus hojas son utilizadas en la cocina ya que con ellas se obtiene una mayor jugosidad en diferentes carnes, así como sus flores las cuales son aprovechadas como forraje (Hernández *et al.*, 2017).

Sin embargo, el uso más destacado es la producción de bebidas destiladas como lo son bacanora que es un tipo de mezcal elaborado principalmente en el estado de Sonora utilizando el jugo o agua miel de la cabeza del agave que posteriormente es fermentado y destilado; otra importante bebida es el pulque que es elaborado de la misma manera a partir de agua miel la cual es obtenida a partir del corazón del agave realizando la fermentación y posteriormente el destilado y por último el mezcal que en el estado de Morelos es una bebida con una significativa importancia económica, elaborándolo con las mismas técnicas antiguas que caracterizan su sabor, de esta manera la especie *A. angustifolia* se ha convertido en una materia prima fundamental para muchos estados en nuestro país (Fragoso *et al.*, 2021).

2.2 Factores que inciden en la producción

Existe gran variedad de factores que afectan el rendimiento del cultivo de agave incidiendo directa como indirectamente, lo cual ha sido un problema enorme para los agricultores debido que el agave es uno de los cultivos principales e importantes para la economía en nuestro país debido a la gran variedad de productos y subproductos que se pueden elaborar con las diferentes especies; usado principalmente en la producción de bebidas alcohólicas. Se conocen particularmente dos tipos de factores limitantes en este cultivo tan importante; factores fisicoquímicos (abióticos) y las interacciones entre las especies (bióticos) (Esqueda *et al.*, 2022).

2.2.1 Factores bióticos y abióticos

Entre los factores abióticos se toma en cuenta principalmente temperatura, humedad, luz, pH del suelo, agua, disponibilidad de nutrientes esenciales, salinidad, precipitación o lluvia, aire, etc. los cuales influyen en el desarrollo y básicamente en el proceso vital de la planta. Dentro de los factores bióticos se encuentran aquellos que establecen relaciones favorables, como desfavorables entre las especies, como lo son las plagas y enfermedades que atacan a las plantas de *Agave angustifolia*, así como a muchas especies de plantas de importancia económica (Esqueda *et al.*, 2022).

En cuanto a las principales plagas en el cultivo de *A. angustifolia* se encuentra (*Scyphophorus acupunctatus*) **picudo del agave** así como las **larvas** (*Scyphophorus acupunctatus*) los cuales afectan a la piña de la planta ocasionándole pudrición y finalmente la muerte, otras importantes plagas las conforman el **gusano blanco del maguey** (*Aegiale hesperiaris*) y el **escarabajo rinoceronte** (*Strategus aloeus Linnaeus*) y la **chinche del agave** (*Caulatops agavis Reuter*) quienes son considerados como la plaga más importante de nuestro país debido que afectan importantes etapas del cultivo de agave causando un deterioro significativo e incluso la muerte de la planta (Cruz *et al.*, 2019).

Según Cruz *et al.*, (2019) las enfermedades que se presentan en el cultivo de agave son transmitidas principalmente por los anteriores vectores quienes atacan directamente a diversos cultivos de *Agave angustifolia* afectando su desarrollo, absorción de nutrientes del suelo, así como de agua, la respiración y, además, afectando la disminución en la productividad del agave, provocando pérdidas de gran importancia económica para aquellos productores de dichos cultivos, puesto que las enfermedades provocan un daño colateral que en la mayoría de los casos es irreparable.

2.3 Fitopatógenos del agave

Existen gran variedad de agentes fitopatógenos que afectan de manera negativa a los cultivos y plantas de gran importancia económica, de los cuales se destacan principalmente bacterias,

nematodos y una gran variedad de hongos, los cuales representan una verdadera amenaza para la producción agrícola puesto que dichos organismos han provocado problemas fitosanitarios enfermando, deteriorando e incluso provocando la muerte de plantas. En cuanto a las principales enfermedades se destaca la **marchitez del agave**, la **pudrición del cogollo** y **mancha gris** etc., provocadas por una gran variedad de patógenos (Cruz *et al.*, 2019).

2.3.1 Bacterias

En todo el mundo existen gran variedad de bacterias patógenas en los cultivos de agave las cuales perjudican notablemente la producción debido a que tienen una gran capacidad de degradar tejidos vegetales por efecto de sus enzimas pectinolíticas, una especie de gran relevancia patogénica es *Pectobacterium carotovorum* (*Erwinia carotovora*), perteneciente al orden: *Enterobacteriales*, familia: *Enterobacteriaceae* y género: *Pectobacterium* la cual se ha caracterizado por ser el agente causal de la **pudrición blanda del cogollo en el agave**, transmitida por el vector (*Scyphophorus acupunctatus*) mejor conocido como el **picudo del agave**, las plantas que presentan dicha enfermedad muestran lesiones necróticas en las puntas de las pencas aunque en la mayoría de los casos inicia en la espina apical o en las espinas laterales avanzando hacia el centro y base del cogollo causando de esta manera la pudrición de consistencia blanda en la piña, estos daños desintegran el tejido dejando hueca la piña, ocasionando finalmente la muerte de la planta y desencadenando de esta manera un olor fétido (Calzada *et al.*, 2022).

Es importante mencionar que esta enfermedad se ha caracterizado por ser un síndrome puesto que se han aislados e identificado otros microorganismos asociados con dicha enfermedad como lo son las bacterias *Pseudomonas paucimobilis* y *Leuconostoc mesenteroides*, sin embargo, cabe mencionar que estudios reportados afirman que *Pectobacterium carotovorum* (*Erwinia carotovora*) es la bacteria más patogénica en la planta de agave (Parra *et al.*, 2019).

2.3.2 Nematodos

Los nematodos se han caracterizado por ser los organismos multicelulares más comunes. De acuerdo con sus interacciones en la agricultura existen tres grupos importantes de estos microorganismos (fitopatógenos, entomopatógenos y de vida libre), sin embargo, los fitopatógenos han afectado de una manera negativa a los cultivos de agave deteriorando su crecimiento y vida de estas plantas. Entre los géneros que destacan por provocar impactos en el agave son: *Pratylenchus* sp. quien se caracteriza por ser de hábitos ectoparásitos, alimentándose externamente de la planta hospedadora, afectando notablemente la raíz (Armendáris *et al.*, 2015).

El nematodo *Helicotylenchus* sp. también se ha registrado en la literatura como un fitopatógeno de importancia económica, así como el género *Dorylaimus* sp. los cuales causan lesiones en el sistema radical e inducen la formación de agallas en el agave afectando de manera directa el crecimiento vegetativo así como la reproducción e incluso provocando el deterioro y muerte de planta, puesto que se vuelve aún más susceptible a la radiación solar debido que reducen su capacidad para soportar la sequía y carencia de fertilizantes, entre otras condiciones provocando así deficiencias nutricionales a los cultivos (Ramírez, 2002).

2.3.3 Hongos

De acuerdo con Romero, (1993) el principal grupo de organismos fitopatógenos es el de los hongos, ya que actualmente se conocen más de 8000 especies fitopatógenas capaces de generar más de 80,000 enfermedades. Por fortuna, varias especies requieren de condiciones ambientales especiales para su desarrollo, por lo que cada año y en cada localidad, más del 80% ocurren sólo esporádicamente y llegan a considerarse como de gran importancia. Los hongos fitopatógenos presentan una serie de cualidades excepcionales que les provee la superioridad como agentes fitopatógenos: gran poder de supervivencia, crecimiento

asombrosamente rápido y reproducción explosiva, debido a ello, su dispersión y efectos destructores sobre los cultivos han resultado una catástrofe para la agricultura.

En el agave también se ha reportado la presencia de fitopatógenos de gran importancia económica, como es el caso de *Asterina mexicana* Ellis & Everh quien es un hongo el cual se caracteriza por causar la enfermedad conocida como **negrilla** o **viruela** cuyos síntomas presentes son manchas oscuras en ambas caras de las pencas, conllevando a una necrosis masiva, la cual resulta finalmente en un deterioro completo de la planta (Pérez *et al.*, 2022). Otra enfermedad que ha tenido gran importancia económica es la especie *Cercospora agavicola*, quien es causante de la enfermedad la **mancha gris** en las pencas cercanas al cogollo del agave, produciendo la necrosis de la hoja avanzando hasta llegar al cogollo de la planta doblándolo y finalmente pudriéndolo hasta ocasionándole la muerte (Coria *et al.*, 2019).

2.4 Género *Fusarium*

El género *Fusarium* presenta una distribución cosmopolita, es decir muestra una extensa distribución mundial debido a que son los hongos más comunes en el suelo, en el agua e incluso en el aire. En este grupo se incluyen algunos de los patógenos más importantes de plantas cultivadas de interés económico, provocando enfermedades con sintomatología de marchitez (Arbeláez, 2000).

Los hongos del género *Fusarium* se les ha reconocido por ser parásitos facultativos quienes se han caracterizado por provocar una importante afectación a las plantas de agave. Entre las especies que se han distinguido por producir la marchitez del agave se encuentran *Fusarium oxysporum*, *Fusarium falciforme*, *Fusarium fujikuroi* y *Fusarium solani*, los cuales producen un proceso de infección letal para el agave. El síntoma característico de dicha enfermedad es la marchitez de las hojas, ocasionado por la destrucción del sistema radical o bien por el taponamiento de los haces vasculares, clorosis, enrollamiento de los bordes de las hojas, secado de las hojas más viejas del ápice a la base, pudrición extensiva de color marrón en la corona y finalmente pudrición de las raíces. En etapas más avanzadas de la enfermedad las plantas muestran enrollamiento foliar firme, y eventualmente coriáceo, mayor al 50% del

área foliar (López *et al.*, 2020; Quiñones *et al.*, 2023). Además, el género *Fusarium* también se ha identificado por ser el agente causal de la pudrición seca de cogollo del agave que al igual que la blanda ha provocado importantes pérdidas en las plantas de agave. La pudrición seca del cogollo se caracteriza por producir lesiones corrugadas de color negro y amarillo-pálido que descienden desde la punta hasta la base del cogollo. Cabe mencionar que, a diferencia de la pudrición blanda, este tipo de pudrición no presenta un olor fétido (Trinidad *et al.*, 2017).

Una característica importante en las especies del género *Fusarium* son sus fases de crecimiento ya que crecen y se multiplican de forma parasitaria en los hospedadores, así como en los tejidos muertos de este, además, estos hongos pueden o no desarrollar una fase de reproducción sexual según la especie. En cuanto a su reproducción se han descrito algunas especies con estados sexuales o teleomorfos, sin embargo, es importante mencionar que la gran mayoría de estas especies pertenecen a los hongos imperfectos debido que carecen de una fase sexual. Otra característica por mencionar es que estos hongos pasan el invierno durante muchos años en el suelo y es por ello por lo que son llamados como los hongos de suelo de mayor importancia (Tapia & Amaro, 2014).

En cuanto a sus características morfológicas este hongo se caracteriza por producir colonias de rápido crecimiento, además este género presenta fiálides, las cuales son estructuras en forma de botella, simples, cortas o largas y puede ser **monofiálides** (las esporas emergen de un poro) o **polifiálides** (con varios poros), además presenta conidióforos alargados en forma de botella, con ramas a intervalos regulares o verticiladas, septados, individuales o agrupados en esporodoquios los cuales básicamente son una masa de conidióforos colocados firmemente juntos. Este género también se caracteriza por producir tres tipos de esporas; **microconidios** los cuales pueden estar ausentes en algunas especies, poseen varias formas; elípticas o piriformes, unicelulares o bicelulares, no curvados, en cabezuelas o en cadenas, **macroconidios** esporas grandes y multicelulares en forma de media luna o elípticos, dos a nueve septas, ápice puntiagudo, en forma de gotero, base puntiaguda, en forma de pie y

clamidosporas (figura 3), globosas, ovales o piriformes, individuales o en grupos, intercalares o terminales, uni o bicelulares, lisas o rugosas y generalmente presentan un color café, dichas estructuras son importantes puesto que son las principales responsables de la sobrevivencia del hongo en tejidos muertos de plantas hospedantes o en el suelo (Arbeláez, 2000; Romero, 1993).

Es importante mencionar que el hongo se transmite por aire, en trozos pequeños de los restos de las ramas infectada, así como también en polvo e incluso por salpicaduras de agua (Arbeláez, 2000; Tapia y Amaro, 2014).



Figura 3. Morfología microscópica de *Fusarium oxysporum*

En cuanto a su morfología microscópica varía dependiendo de los medios del cultivo en los que se desarrolle ya que existen cuatro principales medios para la identificación de especies *Fusarium*, entre ellos el agar de dextrosa de papa (**PDA**), agar Sabouraud, agar Clavel (**CLA**), agar de Spezieller Nährstoff-farmer (**SNA**) y agar avena, cabe mencionar que el medio agar de dextrosa de papa (**PDA**) ha permitido observar de una mejor manera la morfología de colonia y pigmento (café, rojo, violeta, naranja, gris, blanco) difusible al medio, mientras

que el agar **CLA**, permite observar el desarrollo de cadenas de microconidios y morfología en detalle de macroconidios (Tapia y Amaro, 2014).

2.4.1 Clasificación del género *Fusarium* (Kendrick, 2017)

Reino: Fungí

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium*

2.4.2 Importancia del género *Fusarium*

Los hongos del género *Fusarium* presentan una amplia importancia desde el punto de vista agrícola, así como económico y social. Existe una gran controversia de acuerdo con las especies reconocidas, sin embargo, se sabe que dichas especies son las causantes de muchas de las enfermedades que presentan los cultivos de plantas, las cuales consisten en marchitamientos vasculares, manchas foliares, pudrición de raíces y de tallos principalmente. En las plantaciones de agave se describe al género *Fusarium* como uno de los principales agentes patógenos de estos cultivos debido a que les ocasiona severas afectaciones y grandes pérdidas económicas, ya que estos hongos se adaptan a un amplio rango de condiciones climáticas, hábitats ecológicos y plantas hospederas (Ortiz *et al.*, 2009).

2.5 Necrosis en la raíz del agave

La necrosis o muerte de los tejidos es una de las enfermedades que produce el deterioro estructural o funcional de los tejidos en las plantas por la muerte de sus células. Este tipo de

problema fitosanitario ha afectado significativamente a una gran variedad de plantas de agave, las cuales han mostrado una serie de síntomas después de que el patógeno penetra la raíz, llegando a los vasos de la xilema y colonizando de manera ascendente la planta. Los primeros síntomas visibles se dan principalmente en la parte aérea, iniciando con un amarillamiento progresivo en el follaje, posteriormente, las hojas se marchitan gradualmente hasta que finalmente la planta completa colapsa. Debido a ello es importante que estos tipos de problemas fitosanitarios sean atendidos a tiempo para evitar de esta manera pérdidas en los cultivos, ya que el daño es más evidente en etapas avanzadas, de ahí la importancia sobre la prevención de aquellos patógenos y plagas que se han caracterizado por su importancia tanto económica, agrícola y social. (Agrios, 2005; Quiñones *et al.*, 2023).

2.6 Manejo de enfermedades

El control de las enfermedades en plantas consiste en la prevención de los daños, o en la reducción de la incidencia o gravedad de la enfermedad y en general se refiere en mayor medida a las poblaciones que a las plantas individuales. El control de una enfermedad se puede lograr mediante un solo procedimiento, pero en la mayoría de los casos exige la manipulación de medidas múltiples e implica un programa integrado de manipulación del medio ambiente y de los factores biológicos y químicos. Un programa de control bien concebido se basa en el conocimiento de las características del patógeno y de la planta, de las condiciones del cultivo y clima en las cuales crece la planta y los procedimientos existentes para el control de enfermedades incluyendo métodos de cultivo, genéticos, químicos o biológicos (Palm, 1988).

2.7 Control químico

De acuerdo con Tudi *et al.*, (2021) los compuestos químicos durante mucho tiempo han sido de gran utilidad debido que se han encargado de combatir distintas plagas de gran importancia económica las cuales se encuentran afectando constantemente a una gran variedad de cultivos de plantas. Dichos compuestos químicos también reciben el nombre genérico de plaguicidas o pesticidas los cuales han tenido aparición desde hace mucho tiempo

atrás, es decir desde la aparición temprana del hombre en donde se tuvo la necesidad de combatir plagas, debido a las afectaciones que causaban a sus cultivos y productos, utilizando de esta manera sustancias que eran capaces de eliminarlos y fue así como el hombre adopto de alguna manera esta eficaz estrategia.

El uso principal de estas sustancias químicas se debe a su alta eficacia, efecto inmediato, disponibilidad, fácil manejo, así como también una buena rentabilidad para la agricultura. Existen diferentes maneras de clasificar a los plaguicidas, de acuerdo al tipo de plaga que se controle; insecticidas (contra insectos), herbicidas (flora arvense), rodenticidas (roedores), bactericidas (bacterias), fungicidas (hongos), nematocidas (nematodos), molusquicidas (moluscos) y larvicidas (larvas), su modo de acción (contacto, ingestión, fumigante y sistémico) así como su naturaleza química (orgánicos e inorgánicos) y su composición química (organofosforados, carbamatos, piretroides y organoclorados), es importante destacar que su clasificación de cada uno de estos plaguicidas depende de los diferentes compuestos químicos que poseen para atacar de manera directa a los distintos tipos de plagas. Los plaguicidas han sido de gran importancia, así como de gran utilidad debido que un tercio de los productos agrícolas que se producen dependen prácticamente de la aplicación de estas sustancias ya que sin el uso de este control químico se habrían perdido una gran variedad de cultivos de importancia mundial (figura 4) (Tudi *et al.*, 2021).



Figura 4. Uso del control químico.

Los plaguicidas han sido comercializados de manera significativa a nivel mundial principalmente; China, Estados Unidos de América, Brasil, Argentina, Canadá, Francia, Rusia, Australia, España, Ecuador y México, en dónde los resultados de un estudio realizado por CEDRSSA (Centro de Estudios para el Desarrollo Rural Sustentable y la Soberanía Alimentaria) demostró los principales países con un importante incremento en el uso de plaguicidas como lo refleja en Ecuador quien paso de consumir 2, 537 toneladas a 60, 733 en un periodo de 28 años aproximadamente, dicho aumento se ve reflejado al crecimiento de la población y el cambio climático debido que son los dos factores principales que contribuyen al aumento del uso de plaguicidas a nivel mundial. En nuestro país el uso de plaguicidas ha tenido un crecimiento muy importante puesto que entre el año de 1990 al 2018 se duplico su demanda, debido que paso de consumir 26,625 toneladas a 53,144 en dicho periodo, es decir, su consumo creció en un 100 % (cuadro 1).

Cuadro 1. Principales países consumidores de plaguicidas, 1990-2018 (toneladas).

| <u>Países</u> | 1990 | 2018 | Crecimiento |
|----------------------------------|-------------------|------------------|--------------------|
| Total, mundial | 2,2999,979 | 4,122,334 | 79% |
| Subtotal (11 países) | 1,542,193 | 3,211,799 | 108% |
| China | 765,307 | 1, 763,000 | 130% |
| Estados Unidos de América | 400,976 | 407,779 | 2% |
| Brasil | 49,695 | 377,176 | 659% |
| Argentina | 26,156 | 172,928 | 561% |
| Canadá | 29,568 | 90,839 | 207% |
| Francia | 97,701 | 85,072 | -13% |
| Federación de Rusia | 86,200 | 76,369 | -11% |
| Australia | 17,866 | 63,416 | 255% |
| España | 39,562 | 61,343 | 55% |
| Ecuador | 2,537 | 60,733 | 2294% |
| México | 26,625 | 53,144 | 100% |

Fuente: CEDRSSA, 2020

Aunque el uso de los plaguicidas ha ayudado a evitar pérdidas importantes a los cultivos y ha aumentado la productividad agrícola así como los ingresos de las familias productoras, es importante entender que el uso de plaguicidas no solo provee beneficios, sino que también conlleva a diversos riesgos de los cuales se han ido derivando con el paso de los años puesto que es importante recordar que todo plaguicida es una sustancia tóxica, es decir está diseñado para interferir o modificar mecanismos fisiológicos fundamentales en los insectos o plagas en general, pero que además esos mecanismos son compartidos por otros organismos, incluidos el ser humano quienes incluso mueren a consecuencia de dichas sustancias químicas, sin mencionar que al aumentar el uso repetitivo de dichos plaguicidas, también aumenta la resistencia por parte de las plagas a eliminar debido que estas sustancias presentan un tiempo limitado, puesto que dichas plagas evolucionan naturalmente y por ende adquieren una genética con capacidad tolerante hacia las letales dosis adquiriendo de esta manera una mayor resistencia. (Karam *et al.*, 2004).

Los plaguicidas también han generado gran variedad de repercusiones en el medio ambiente debido al creciente uso indiscriminado de estos químicos, los cuales forman una serie de efectos negativos tanto para el ambiente como a nosotros los humanos y organismos en general como lo son las aves, peces, insectos benéficos, plantas a las cuales no van dirigidas, así como también a diferentes medios ambientales como lo es el agua, aire y suelo, aumentando su repercusión de manera muy significativa (Tudi *et al.*, 2021).

2.8 Control biológico

Debido a las grandes afectaciones provocadas por el uso descontrolado de plaguicidas en diversos tipos de cultivo incluyendo las plantaciones de agave se ha optado por una estrategia biológica mucho más amigable con el medio ambiente que nos rodea ya que además de no afectar de manera negativa a la agricultura este tipo de control no ocasiona daños a los organismos benéficos de las plantaciones y no repercute en la salud humana, permitiendo minimizar el uso descontrolado de sustancias químicas e implementando el uso de microorganismos eficientes para el control de enfermedades ocasionadas por la gran variedad de plagas presentes en los cultivos (Noja & Medina, 2011).

Según García, (2007) definen el control biológico como la reducción de la cantidad de inóculo o de las actividades inductoras de enfermedades de un patógeno que se logra mediante la acción de uno o más organismos distintos al hombre. Se trata de una tecnología natural en la cual se utilizan poblaciones de enemigos naturales para reducir poblaciones de plagas a densidades menores, ya sea temporal o permanentemente, sin embargo, esta estrategia depende prácticamente de las interacciones que ocurren entre la planta, el patógeno, el organismo antagonista y el ambiente en el cual se desarrolla tal interacción (Vinchira y Moreno, 2019). En la actualidad se han utilizado una gran variedad de agentes de control biológico, entre los cuales se incluyen virus, bacterias y sus toxinas, hongos y otros microorganismos patógenos, nemátodos, caracoles, insectos, ácaros, y vertebrados de varias clases, quienes se caracterizan por no provocar efectos nocivos en los cultivos y mucho menos en la salud humana, los cuales al pertenecer a distintos grupos poseen diferentes propiedades biológicas y comportamentales, por lo que hace que unos u otros sean más o menos exitosos como biocontroladores en una estrategia de control determinada. (Rodríguez & Arredondo, 2007).

Según Rodríguez & Arredondo, (2007) actualmente se distinguen tres formas o estrategias de control biológico, los cuales son; control biológico por **conservación**, **introducción** o **clásico** e **incremento**. El control biológico por conservación se enfoca principalmente en minimizar los factores que afectan perjudicialmente a las especies benéficas y reforzar aquellos que hacen de los campos agrícolas un hábitat adecuado para los enemigos naturales, promoviendo así su actividad, supervivencia y reproducción. Asumiendo que los enemigos naturales presentes muestran un buen potencial para suprimir la plaga si se les da la oportunidad de hacerlo. Por otro lado, el control biológico por introducción como su nombre bien lo indica, se trata de introducir y establecer permanentemente nuevas especies. Esta forma de control es usada más frecuentemente en el control de plagas exóticas, las cuales comúnmente llegan a un área nueva sin factores naturales de control. El control biológico por incremento es utilizado cuando los enemigos naturales son biológicamente efectivos,

pero fallan en controlar a las plagas no obstante los esfuerzos de conservación o introducción, se puede recurrir al incremento o aumento de su población a través de cría masiva y **liberación inoculativa**, es decir el agente de control biológico se multiplica y controla a la plaga por un tiempo determinado o **inundativa** en donde el control es realizado exclusivamente por los individuos liberados en ciclos mucho más rápidos.

En la actualidad se han realizado una gran variedad de aislamientos de microorganismos usados como agentes de control biológico de los cuales la gran mayoría corresponden a bacterias del género *Bacillus* y *Pseudomonas*, así como hongos del género *Trichoderma* principalmente, dado que las especies de este último género han sido las más estudiadas y utilizadas como agentes antagónicos hacia hongos patógenos en gran variedad de cultivos, gracias a su gran eficacia, rápido crecimiento, abundante producción de conidios, rápida reproducción en una extensa gama de sustratos, amplia gama de enzimas (celulasas, quitinasas y glucanasas) que le permiten a la gran variedad de especies de este género habitar en casi todos los suelos agrícolas, así como en otros ambientes demostrando de esta manera su plasticidad ecológica y con ello formar parte vital e importante de las plantas superiores ya que varias especies que conforman dicho género se han caracterizado por interactuar con las raíces de las plantas brindándoles un equilibrio dinámico en su superficie, así como un buen desarrollo, nutrición y crecimiento (Cano, 2011; Martínez *et al.*, 2013).

2.9 Género *Trichoderma*

El género *Trichoderma* es un hongo cosmopolita debido que las especies que lo conforman crecen y habitan en gran cantidad de sustratos, predominando en los ecosistemas terrestres (suelos agrícolas, pastizales, bosques, desiertos e incluso ecosistemas acuáticos), se caracterizan por ser saprófitos lo que indica que son degradadores naturales de materia orgánica en descomposición, sobreviviendo en suelos con grandes porciones de dicha materia debido que presentan una gran capacidad para descomponerla, otra característica importante en este grupo de hongos es que al desarrollarse en diversos sustratos facilita su producción

masiva para su uso en la agricultura, puesto que su empleo en el ámbito agrícola ha sido eficiente contra los patógenos de diversos cultivos, cumpliendo así su rol como agente de control biológico y como biofertilizante por su habilidad benéfica para el desarrollo de las plantas, puesto que *Trichoderma* spp. ha sido ampliamente estudiado y se ha propuesto como un excelente agente de control, especialmente contra fitopatógenos nativos del suelo (Martínez *et al.*, 2015; Hernández *et al.*, 2019).



Figura 5: *Trichoderma* spp.

2.9.1 Clasificación del género *Trichoderma*

De acuerdo con Argumedo *et al.*, (2009) la clasificación taxonómica del género *Trichoderma* es:

Reino: Fungí

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Trichoderma*

2.9.2 Características morfológicas del género *Trichoderma*

Este grupo de hongos filamentosos presentan conidióforos hialinos muy ramificados y no verticilados de aspecto cónico al ser observados por el microscopio, fiálides rectos donde se forman gran cantidad de conidios o esporas asexuales unicelulares de color verde, lisos o con paredes muy poco ásperos, subglobosos, cilíndricos, oblongos, con un diámetro promedio de 3 a 5 μm , formándose a partir de células conidiógenas y fiálides los cuales pueden presentarse individuales o en grupos, las cuales se ubican en los extremos de los conidióforos (Fig. 6). Tienen la capacidad de producir clamidosporas unicelulares, globosas en sustratos naturales que pueden ser intercalares y, en ocasiones, terminales en los extremos de las hifas de tono verde y menores de 15 μm de diámetro, dichas estructuras son de vital importancia para la sobrevivencia de estos hongos en el suelo bajo condiciones adversas ya que pueden perdurar a través del tiempo. Es importante mencionar que, de acuerdo con los análisis morfológicos, las colonias de los aislamientos del género *Trichoderma* presentan un rápido crecimiento, poseen inicialmente un color blanco, seguido de un verde pálido y en ocasiones llegan a producir pigmento amarillo en el centro (Martínez *et al.*, 2015; Sánchez *et al.*, 2021).

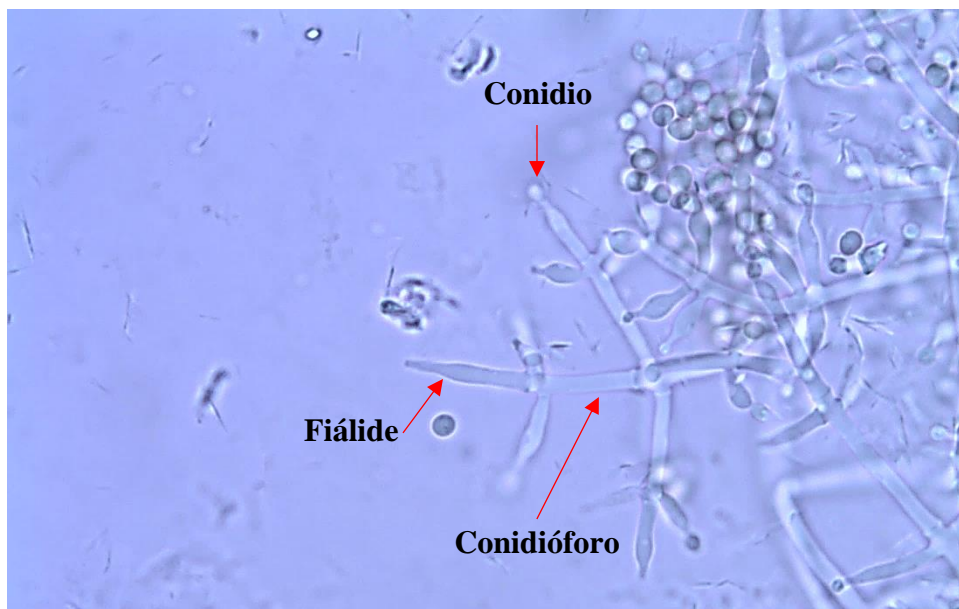


Figura 6. Morfología microscópica de *Trichoderma* spp.

2.9.3 Importancia del género *Trichoderma*

Una de las principales importancias que cumple este grupo fúngico es en la agricultura para el manejo de fitopatógenos, ya que limitan el desarrollo de hongos dañinos como *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae* y géneros como *Fusarium* por mencionar algunos. Por ello este género ha sido utilizado como agente de biocontrol contra hongos fitopatógenos en gran variedad de cultivos debido a sus múltiples mecanismos de acción, destacando la antibiosis, el micoparasitismo, así como la competencia por espacio y nutrientes. Sin embargo, es importante destacar que los estudios relacionados con la interacción de este género fúngico y los contaminantes presentes en el suelo han recibido limitada atención por parte de los expertos (Hernández *et al.*, 2019).

Otra importancia para destacar del género *Trichoderma* es su potencial para sintetizar y liberar enzimas; polisacaridasas, celulasas, xilanasas y quitinasas, las cuales son aprovechadas en procesos industriales, siendo empleadas para la producción de detergente de ropa, aceite de oliva, vino, cerveza, jugos, alimentos para animales e incluso para la producción de algunos combustibles. Otra importancia que caracteriza a dichas especies es el uso otorgado por las industrias para generar aromatizantes con algunas de las especies del género puesto que son capaces de producir el metabolito 6-pentil- α pirona el cual proporciona un aroma natural a coco al utilizar aceites vegetales comerciales, así como ricino, avellana, uva y linaza por mencionar solo algunos (Argumedo *et al.*, 2009).

2.10 Mecanismos de acción de *Trichoderma*

Para llevar a cabo el uso adecuado de *Trichoderma* spp. ya sea como control biológico, para mejorar el crecimiento y rendimiento de la planta, es necesario tener en cuenta los mecanismos de acción entre, *Trichoderma*-planta, *Trichoderma*-patógeno, así como de las interacciones entre *Trichoderma*-planta-patógeno. En cuanto a los mecanismos de acción presentes en las distintas cepas del género *Trichoderma* encargadas del control y desarrollo

de los patógenos son divididas en tres tipos principales; competencia por espacio y nutrientes, antibiosis y micoparasitismo, cabe mencionar que generalmente los organismos antagonistas no presentan un único modo de acción, por lo cual es de suma importancia ya que dependiendo de los mecanismos que presente cada organismo sirven para su selección como agentes de control biológico (Infante *et al.*, 2009).

Competencia: Este tipo de mecanismo antagónico muy importante y utilizado para desplazar patógenos de importancia económica. Es el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes), siempre y cuando la utilización de este por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente de control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, por otro lado, los factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura y humedad, entre otros. Un factor muy importante y esencial para que exista la competencia es la escasez o limitación de un elemento ya que si hay exceso de este no existe una competencia (López *et al.*, 2017).

2.10.1 Competencia por nutrientes: Este tipo de mecanismo se caracteriza por la competencia de nutrientes en el suelo o sustratos, algunos de los nutrientes por los que compiten son; nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros), así como microelementos (Fe, Cu, Mo, B, Mn, etc.) Este tipo de mecanismo no ha sido muy utilizado desde el punto de vista práctico en suelos o sustrato con exceso de nutrientes ya que al haber un exceso de dichos nutrientes no se lleva a cabo la competencia y por ende el desplazamiento del patógeno no es llevada a cabo (Infante *et al.*, 2009; López *et al.*, 2017).

2.10.2 Competencia por espacio: Este mecanismo ha sido muy evaluado debido a la competencia que presentan los eficaces colonizadores, interviniendo la velocidad de crecimiento del antagonista, determinado de esta manera su aplicación uniforme en todo el

sustrato, así mismo si el espacio o sustrato presenta organismos patógenos el hongo antagonista aumenta su velocidad de crecimiento, conjuntamente con otros de los mecanismos de acción del antagonista promoviendo el biocontrol del patógeno y la colonización del sustrato (Infante *et al.*, 2009; López *et al.*, 2017).

2.10.3 Micoparasitismo: El micoparasitismo ha sido el principal mecanismo de acción del género *Trichoderma* y se define como el parasitismo de un hongo por otro (el micoparásito) en el cual el hongo ejerce su acción sobre otro, también se considera como simbiosis antagónica entre organismos donde se ven implicadas enzimas extracelulares tales como quitinasas, celulasas, proteasas y β -1-3- glucanasas las cuales corresponden a la composición y estructura de las paredes celulares de los hongos parasitados, lisando o digiriendo las paredes de los hongos. Este mecanismo es un proceso complejo que incluye varias etapas para llevarse a cabo entre ellos se encuentra el reconocimiento, ataque y penetración, en este mecanismo las especies *Trichoderma* crecen quimiotrópicamente hacia el hospedante durante el proceso, es decir presentan un crecimiento directo hacia un estímulo químico y es así como durante el micoparasitismo, el hongo antagonista localiza al patógeno, se adhieren a las hifas enrollándolas frecuentemente y en algunas ocasiones penetrándolas provocando de esta manera la degradación de las paredes celulares del hospedante, observándose en los estados tardíos del proceso parasítico el cual conlleva a la muerte total del fitopatógeno (Fernández, 2001; Infante *et al.*, 2009; Gelderen, 2009; López *et al.*, 2017).

2.10.4 Antibiosis: Es el proceso en el cual se lleva a cabo la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un hongo antagonista sobre un organismo sensible a estos para que de esta manera se eliminen o se suprima el hongo patógeno los cuales crecen en una misma área. Muchas especies *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles como gliotoxina, viridina y gliovirina, siendo estos algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico, dichas sustancias inhibitoras son consideradas como “antibióticos”, los cuales producen efectos significativos en el desarrollo y crecimiento de los hongos patógenos (Infante, 2009).

Es importante mencionar que estos tres mecanismos actúan sinérgicamente ayudando de una manera eficaz en el control de patógenos en gran variedad de cultivos de gran importancia económica. Su importancia de cada mecanismo depende significativamente en la relación antagonista-patógeno, así como también de las condiciones ambientales, además dichos mecanismos también pueden ser influenciados por el tipo de clima, suelo, temperatura, pH, humedad y suelo, sin contar los miembros de la microflora etc. Actualmente, el hongo *Trichoderma* es uno de los agentes de mayor uso en programas de control biológico como reguladores de fitopatógenos gracias a los importantes mecanismos de acción utilizados, contribuyendo al uso de controles mucho más amigables para los cultivos, el ambiente y la salud humana (Infante *et al.*, 2009; López *et al.*, 2017).

3. JUSTIFICACIÓN

En el cultivo de *Agave angustifolia* se ha detectado la incidencia de enfermedades ocasionadas por *Fusarium*, las cuales inducen graves daños en las raíces y en consecuencia se generan pérdidas económicas, por lo que los productores para su control hacen uso de diferentes productos químicos muchas veces sin conocer de manera certera el agente etiológico, lo que ha provocado una serie de afectaciones al ambiente, la salud humana e incluso propiciando la resistencia de estos organismos patógenos. Por estas razones en los últimos años se ha propuesto el uso de hongos antagonistas del género *Trichoderma* como una alternativa para el control de las enfermedades causadas por el género *Fusarium* en diferentes cultivos. El aislamiento y aplicación de cepas *Trichoderma* en el cultivo de agave puede tener efectos benéficos en la productividad ya que al utilizar dichos compuestos biológicos ayudan no solo a combatir enfermedades, sino que además se obtiene un mejor rendimiento, optimizando su ciclo de vida para su buen aprovechamiento por parte de los productores de dichos cultivos, así mismo se ve beneficiada la salud humana, debido a que el ambiente no recibe impactos negativos por parte de los biocontroladores.

En la actualidad se sabe poco sobre los métodos de control en los cultivos de *Agave angustifolia* ya que no se cuentan con estudios realizados sobre la formulación y aplicación de *Trichoderma* spp. en los campos de cultivos específicos de dicha especie, por lo que se busca efectuar un producto a base de *Trichoderma* ya que por su gran eficacia como agente antagónico podría controlar de manera eficiente a los patógenos causantes de la necrosis en la raíz de las plantas de la especie *Agave angustifolia* y con ello disminuir el uso de productos químicos en los cultivos en el estado de Morelos.

4. HIPOTESIS

Por lo menos una especie del género *Trichoderma* es capaz de inhibir el desarrollo del patógeno *Fusarium oxysporum* causante de la necrosis de la raíz del agave.

5. OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GENERAL

Evaluar la capacidad antagónica de cepas nativas de *Trichoderma* hacia el patógeno *Fusarium oxysporum* causante de la necrosis en la raíz del agave.

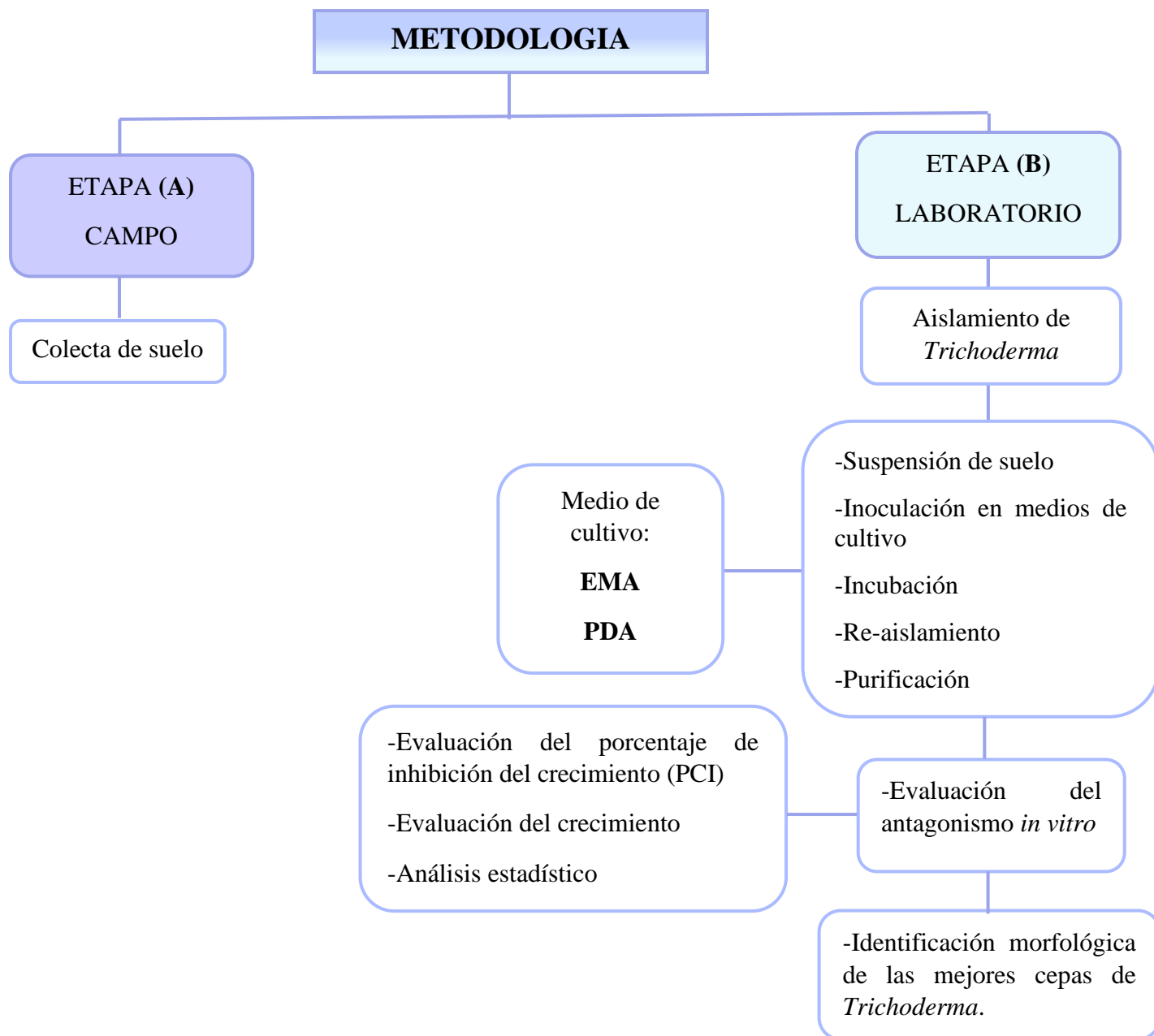
5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- ✓ Aislar cepas de *Trichoderma* de suelos cultivados con agave en el estado de Morelos.
- ✓ Evaluar *in vitro* la capacidad de antagonismo de las cepas de *Trichoderma* hacia el patógeno *Fusarium oxysporum*.
- ✓ Identificar morfológicamente las cepas de *Trichoderma* que presenten mayor actividad antagónica hacia el patógeno *Fusarium oxysporum*.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Esta investigación se llevó a cabo en el Centro de Investigaciones Biológicas de la Universidad Autónoma del estado de Morelos.

Se realizaron pruebas *in vitro* para evaluar el antagonismo de cepas de *Trichoderma* hacia *Fusarium oxysporum* patógeno del agave, de acuerdo con la siguiente metodología:



6.1 Recolecta de muestras de suelo

Se obtuvieron muestras de suelo en campos de agave de los municipios de Jojutla y Tlaltizapán del estado de Morelos. De cada municipio se recolectaron tres muestras de suelo.

Siguiendo la metodología de El Amin y Saadabi (2007), cada muestra de suelo fue integrada por cinco submuestras las cuales fueron tomadas en cinco puntos diferentes de la parcela a unos 15 – 20 cm de distancia de las plantas de agave. Las cinco submuestras fueron colocadas en un recipiente, se mezclaron y homogeneizaron, tomando 1 kg de suelo el cual fue depositado en una bolsa de plástico. A cada bolsa de suelo se le colocó una etiqueta con los datos de colecta y se llevaron al laboratorio para llevar a cabo su procesamiento.

6.2 Aislamiento de *Trichoderma* spp.

A partir de las muestras de suelo se llevó a cabo el aislamiento de las cepas de *Trichoderma* utilizando la técnica de dilución en placa (Khalili *et al.*, 2012).

Suspensión de suelo. De cada muestra de suelo se tomaron 10g y se depositaron en un matraz con 90 ml de agua destilada estéril. Este matraz se agitó en un vortex durante 30 segundos, obteniendo una solución homogénea.

Diluciones. Del matraz inicial se tomó un ml de suspensión con una pipeta estéril y se adicionó a un tubo de ensaye con 9 ml de agua destilada estéril, se agitó y se marcó como tubo No. 1. Del tubo 1 se tomó un ml de suspensión con una pipeta estéril y se depositó en un tubo de ensaye con 9 ml de agua destilada estéril, se agitó y se etiquetó como tubo No. 2. Este procedimiento se continuó realizando hasta que se obtuvo las diluciones del tubo No. 3, tubo No. 4 y tubo No. 5.

Inoculación en medio de cultivo. Se utilizaron las diluciones de los tubos dos, tres, cuatro y cinco obtenidas anteriormente. De cada dilución se tomó 1 ml con una pipeta Pasteur estéril y se agregó en una caja Petri con medio de cultivo **PDA** adicionado con ácido láctico. Las cajas Petri se sellaron con parafilm y se anotaron los datos correspondientes con la muestra

de suelo. De cada dilución se realizaron 5 repeticiones, dando un total de 20 cajas Petri por muestra de suelo.

Incubación. Las cajas Petri inoculadas con las diluciones de suelo se mantuvieron en condiciones de luz constante a una temperatura de 25 °C y se revisaron diariamente para observar el desarrollo de colonias fungosas.

Reaislamientos. De las colonias en crecimiento de las cajas Petri se seleccionaron aquellas que presentaron características morfológicas típicas de *Trichoderma*. De estas colonias se tomaron una pequeña porción de agar con micelio y se transfirieron a otra caja Petri con medio de cultivo **PDA**. Estas cajas Petri se sellaron, etiquetaron y se incubaron a 25 °C.

Cultivos monospóricos de *Trichoderma*. De las colonias de *Trichoderma* con 8-10 días de crecimiento se realizaron raspados en la superficie con una aguja de disección estéril para la obtención de esporas. Con estas agujas impregnadas de esporas se realizaron rayados en otras cajas Petri y se incubaron a 25 °C. Pasadas las 24 horas estas cajas Petri fueron observadas bajo un microscopio estereoscópico para el inicio de la germinación de las esporas. De las esporas en germinación se tomó una punta de hifa con una aguja de disección estéril y se transfirió a otra caja Petri con medio de cultivo agar extracto de levadura (**EMA**). De esta forma se obtuvieron cultivos puros los cuales fueron utilizados para llevar a cabo los bioensayos.

6.3 Evaluación *in vitro* del antagonismo de *Trichoderma* hacia el patógeno

***Fusarium oxysporum*.**

Para realizar los bioensayos de antagonismo se utilizaron las cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de las muestras de suelo analizadas.

Agente fitopatógeno. El hongo fitopatógeno evaluado fue *Fusarium oxysporum*.

Técnica de cultivo dual. Los organismos fungosos utilizados en este bioensayo fueron cultivados de manera individual. Las cepas de *Trichoderma* se crecieron en medio de cultivo **EMA** y *Fusarium oxysporum* en medio de cultivo **PDA**.

De las cajas Petri con colonias de *Fusarium oxysporum* se cortaron discos de micelio de 0.5 cm de diámetro con ayuda de un sacabocados y se colocaron en un extremo de la caja Petri con medio de cultivo **PDA** y se dejaron crecer por 24 h. Transcurrido ese periodo de tiempo se cortaron discos de micelio de 0.5 cm de diámetro de cada cepa de *Trichoderma* y se colocaron en las cajas Petri con las rodajas de *Fusarium oxysporum* aproximadamente de 4.5 cm de distancia. Estas cajas fueron selladas, etiquetadas e incubadas a 25 °C bajo luz continua. Este procedimiento se realizó con todas las cepas obtenidas de *Trichoderma* con cinco repeticiones cada una. Los tratamientos testigo fueron cajas Petri con medio de cultivo PDA inoculadas solo con rodajas de micelio de *Fusarium oxysporum* de 0.5 cm de diámetro colocadas en el centro de la caja Petri.

Porcentaje de inhibición del crecimiento (PIC).

Para la evaluación de esta variable se tomó la lectura del crecimiento micelial de las cepas a evaluar, tanto de *Trichoderma* como de *Fusarium oxysporum*. En la parte posterior de cada caja Petri se trazó una línea del centro de la rodaja con micelio de *Fusarium* hasta el centro de la rodaja con micelio de *Trichoderma*. Cada 24 h se midió el crecimiento micelial de los dos organismos utilizando una regla graduada. Se registro el crecimiento hasta que el micelio de ambos hongos se puso en contacto. El porcentaje de inhibición del crecimiento de *Trichoderma* hacia *Fusarium oxysporum* se calculó mediante la siguiente fórmula (Fokkema, 1976).

$$\frac{A - B}{A} \times 100$$

A

Donde:

A: es el crecimiento radial de *Fusarium oxysporum* como testigo

B: es el crecimiento radial de *Fusarium oxysporum* junto con *Trichoderma* spp.

Análisis estadístico.

El análisis estadístico de los datos del PIC se realizó mediante ANOVA de una sola vía para determinar si hay diferencias entre los tratamientos evaluados, con un nivel de significancia de 0.05. Posteriormente se aplicó una prueba de Tukey.

6.4 Evaluación del sobrecrecimiento

A los trece días después de transcurrido la instalación de las pruebas de antagonismo, se realizó la evaluación *in vitro* del sobrecrecimiento de *Trichoderma* spp. siguiendo como base la escala numérica utilizada por Guigón y Gonzales (2004) la cual se presenta en el cuadro 2.

| Grado | Descripción |
|-------|---|
| 1 | El patógeno crece en toda la caja Petri deteniendo a <i>Trichoderma</i> |
| 2 | El patógeno crece más de 75% entremezclándose con <i>Trichoderma</i> e inhibiéndolo |
| 3 | Patógeno y <i>Trichoderma</i> crecen un 50% deteniendo ambos su crecimiento |
| 4 | <i>Trichoderma</i> sobrecrece al patógeno inhibiendo y ocupando el 75% de la caja Petri |
| 5 | <i>Trichoderma</i> sobrecrece al patógeno ocupando el 100% de la caja Petri |

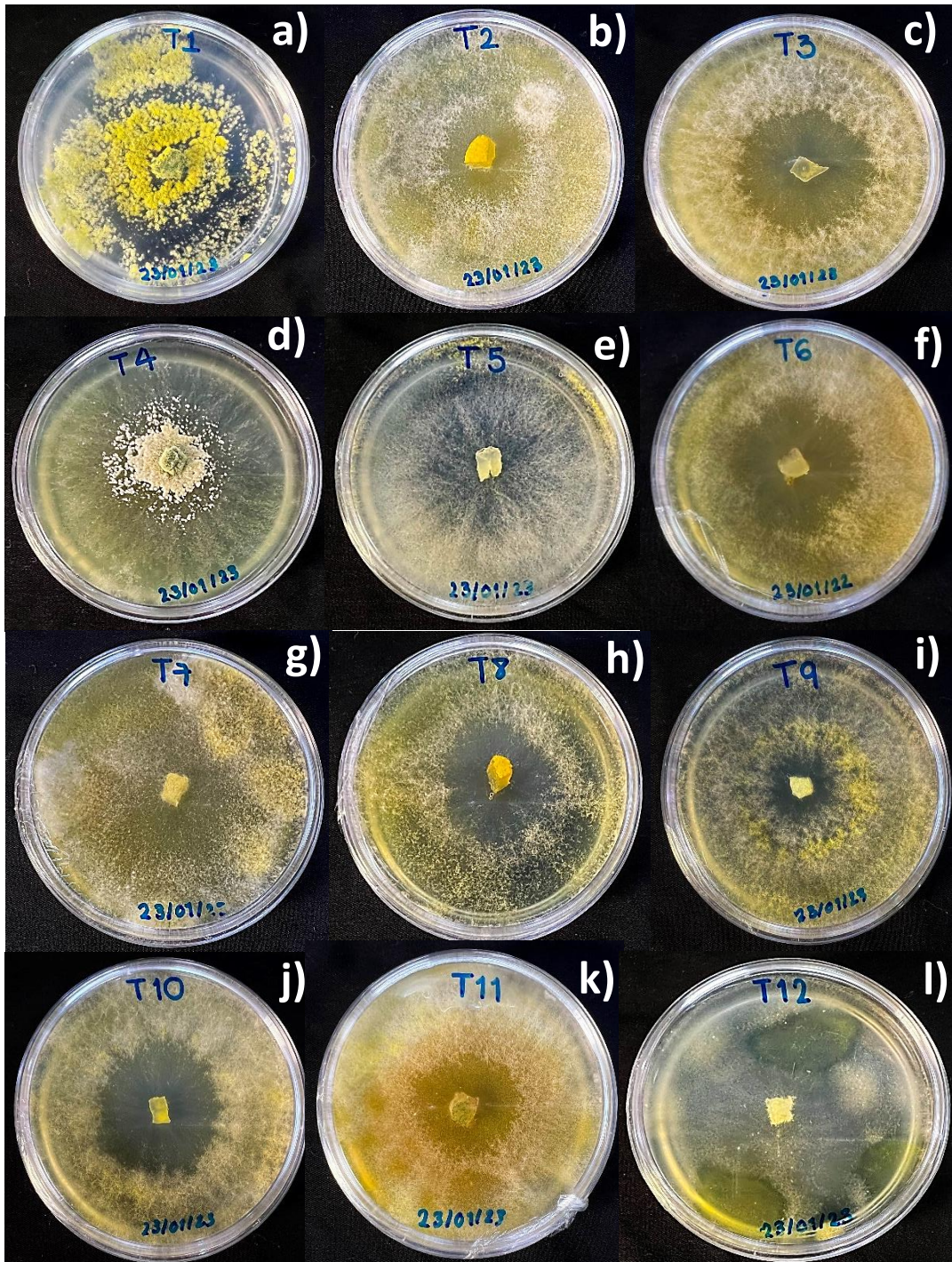
Cuadro 2. Escala de Guigón y Gonzales (2004), para la evaluación del sobrecrecimiento de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum*.

6.5 Identificación morfológica de las cepas de *Trichoderma*

Identificación morfológica. Las cepas de *Trichoderma* con mayor capacidad antagónica hacia *Fusarium oxysporum* se identificaron en base a su morfología macroscópica y microscópica siguiendo las descripciones de las claves taxonómicas proporcionadas por Samuels y Hubber (2015). De acuerdo con las características macroscópicas se evaluó el color de la colonia, tipo de micelio, se midió el radio de la colonia en medio de cultivo **SNA** y **PDA** (Difco) a 25 y 35 °C y la formación de pústulas, mientras que en la morfología microscópica se tomó en cuenta forma y tamaño de los conidios, tipo de fiálides, conidióforos y presencia o ausencia de clamidosporas mediante preparaciones temporales las cuales son observadas con el microscopio óptico.

7 RESULTADOS

De las muestras de suelo analizadas de los campos de cultivo de agave en el estado de Morelos se obtuvieron un total de 20 cepas, las cuales fueron seleccionadas por presentar características macroscópicas correspondientes al género *Trichoderma* tales como color, morfología y tipo de crecimiento de la colonia (Fig. 7). Las cepas obtenidas fueron aisladas de los municipios de Jojutla y Tlaltizapán.



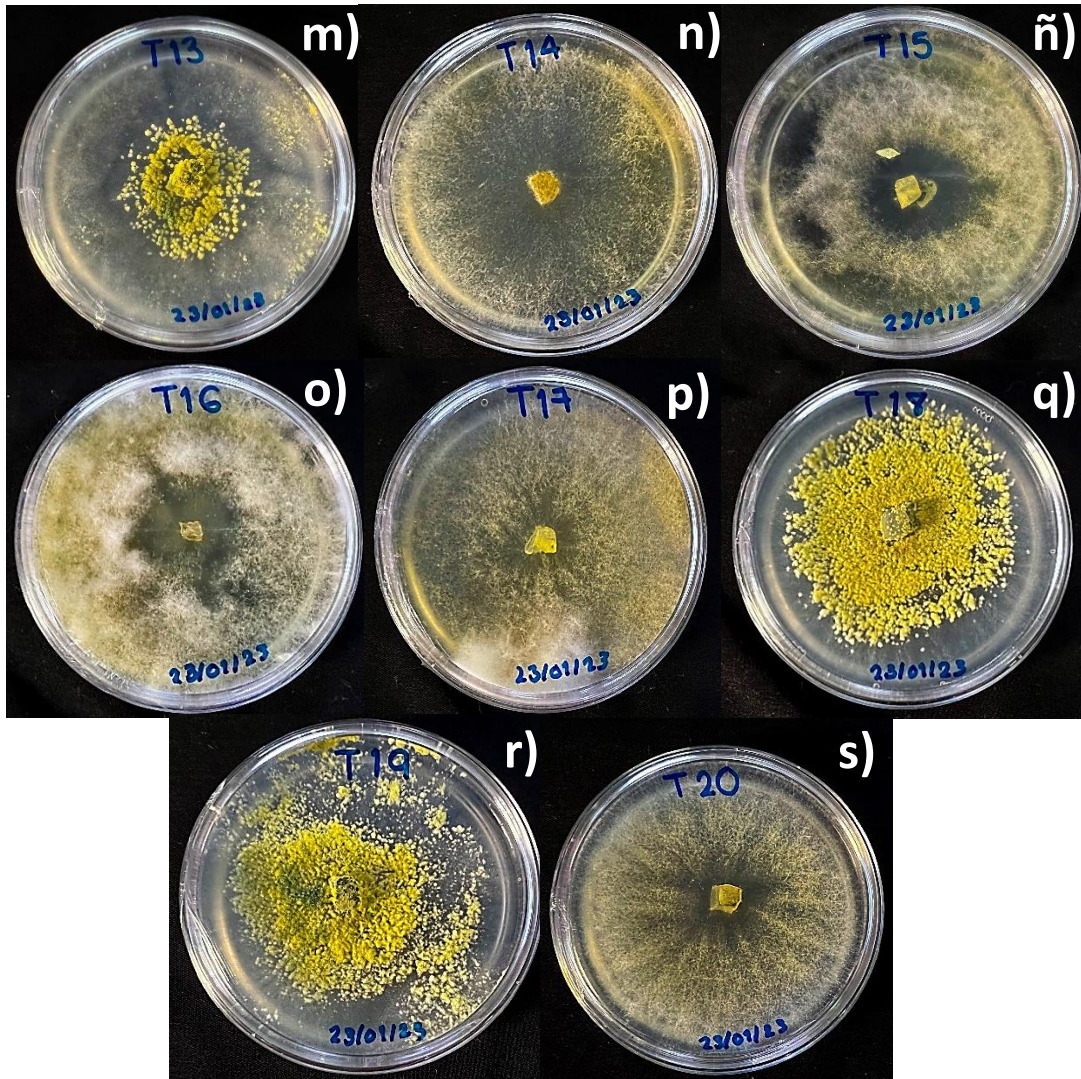


Figura 7. Cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de muestras de suelo del municipio de Jojutla. **a)** Cepa T1, **b)** Cepa T2, **c)** Cepa T3, **d)** Cepa T4, **e)** Cepa T5, **f)** Cepa T6, **g)** Cepa T7, **h)** Cepa T8, **i)** Cepa T9, **j)** Cepa T10, **k)** Cepa T11, **l)** Cepa T12, **m)** Cepa T13, **n)** Cepa T14, **ñ)** Cepa T15, **o)** Cepa T16, **p)** Cepa T17, **q)** Cepa T18, **r)** Cepa T19 y **s)** Cepa T20

Cuadro 3. Cepas de *Trichoderma* spp. aisladas de suelos de cultivo de agave en los municipios de Jojutla y Tlaltizapán.

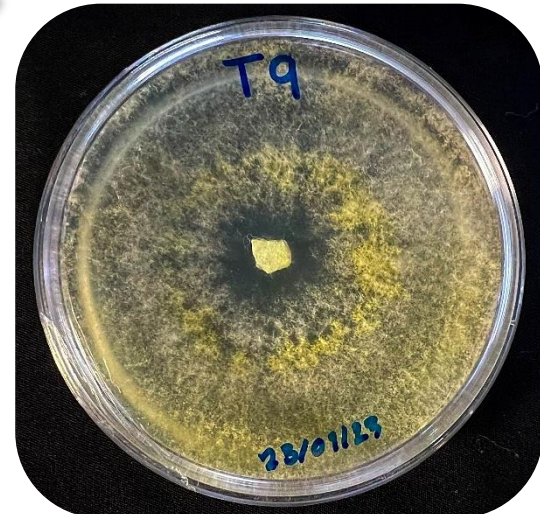
| CEPA | MUNICIPIO |
|-------------|------------------|
| T1 | Jojutla |
| T2 | Jojutla |
| T3 | Jojutla |
| T4 | Jojutla |
| T5 | Jojutla |
| T6 | Jojutla |
| T7 | Tlaltizapán |
| T8 | Tlaltizapán |
| T9 | Tlaltizapán |
| T10 | Tlaltizapán |
| T11 | Tlaltizapán |
| T12 | Tlaltizapán |
| T13 | Tlaltizapán |
| T14 | Tlaltizapán |
| T15 | Tlaltizapán |
| T16 | Tlaltizapán |
| T17 | Tlaltizapán |
| T18 | Jojutla |
| T19 | Jojutla |
| T20 | Jojutla |

7.1 CARACTERÍSTICAS GENERALES MACROSCÓPICAS Y MICROSCÓPICAS DE *Trichoderma* spp.

MACROSCÓPICAS:

- La colonia presenta un color verde olivo o verde pálido
- Micelio algodonoso
- Presentan algunas especies anillos concéntricos
- Presencia de pústulas algodonosas

Martínez *et al.*, 2015; Sánchez *et al.*, 2021



MICROSCÓPICAS:

- Conidióforos hialinos, septados, ramificados y alargados
- Fiálides individuales o en grupos, cortas y anchas de la base.
- Conidios lisos, ovoides presentando color verde olivo en la madurez (2,0 a 3,5 μm de largo y 2,0 a 3,0 μm de ancho)
- Clamidosporas subglobosos u ovoides, solitarios, miden 20 μm o menos de diámetro.

Samuels & Hebbbar, (2015)



7.2 INHIBICIÓN DEL CRECIMIENTO DE *Fusarium oxysporum* POR *Trichoderma* spp.

De acuerdo con el bioensayo realizado se observó que las veinte cepas de *Trichoderma* spp. en su interacción con *Fusarium oxysporum* mostraron un comportamiento diferente. En estas interacciones se pudo observar el contacto entre las primeras colonias de *Trichoderma* spp. y *F. oxysporum* sucedió a las 96 horas (Fig. 9). En cuanto al análisis de varianza mostro diferencias altamente significativas entre los tratamientos evaluados con un 95% de confiabilidad, por lo que se procedió a realizar la prueba de Tukey. La cepa T5 ejerció el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento con un 28.4 % sobre *Fusarium oxysporum*, seguido de la cepa T3 con un porcentaje de inhibición del 23% y finalmente la cepa T6 mostrando un porcentaje de inhibición del 18.4%, por lo que quiere decir que dichas cepas son significativamente diferentes a las demás cepas evaluadas (Fig.8).

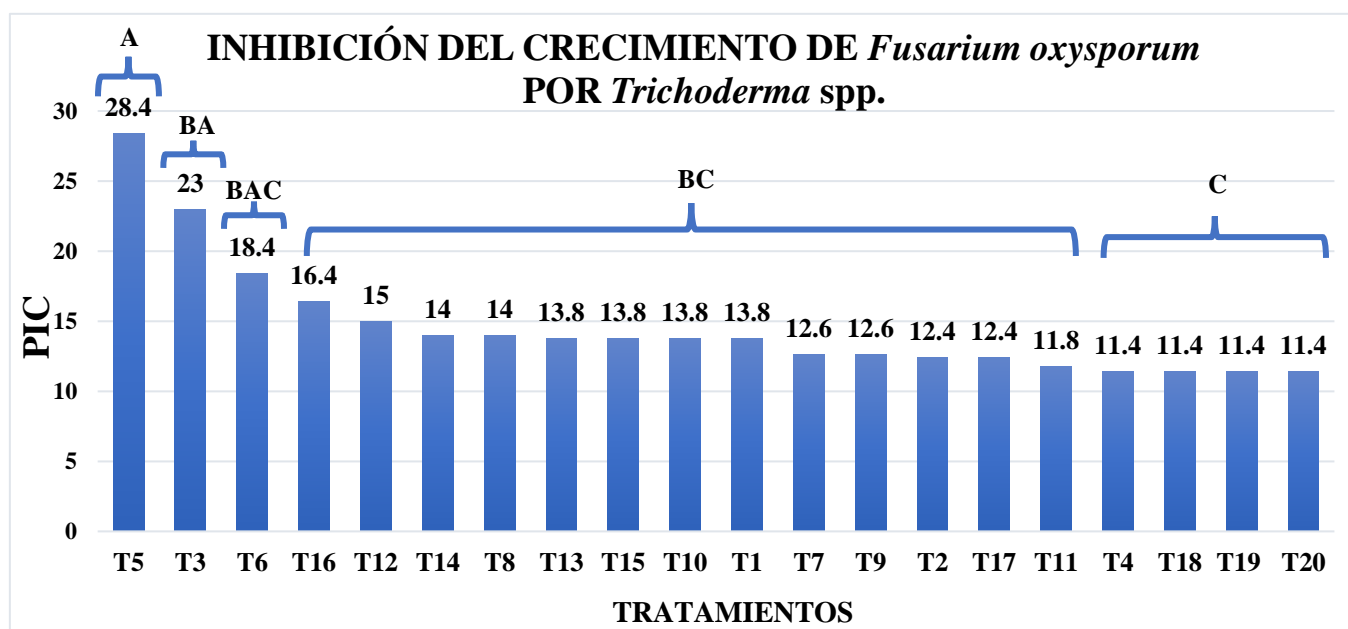
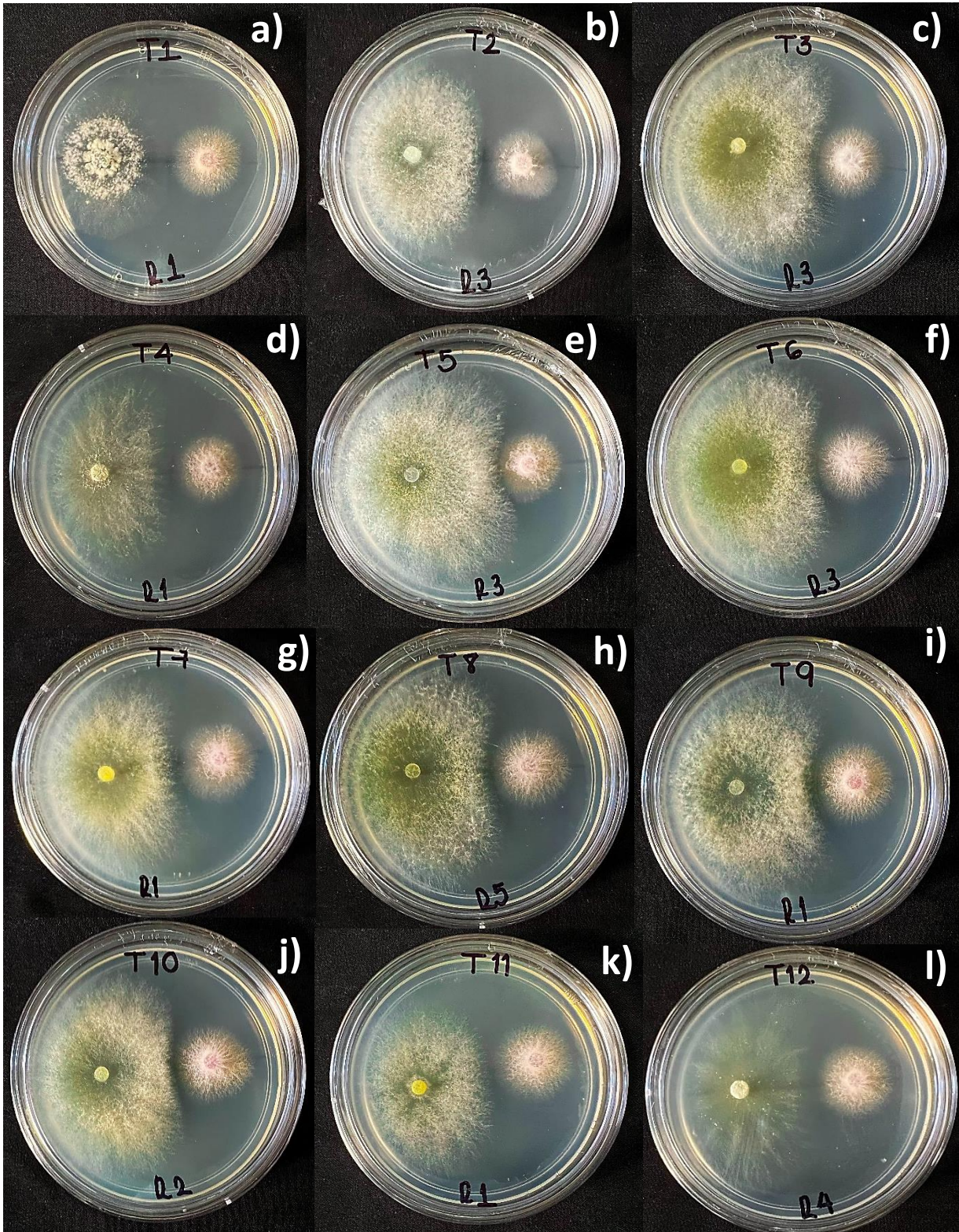


Figura 8. Porcentaje de Inhibición del Crecimiento (PIC) de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum*. Valores con la misma letra son estadísticamente iguales con base a la prueba de Tukey (0.05).



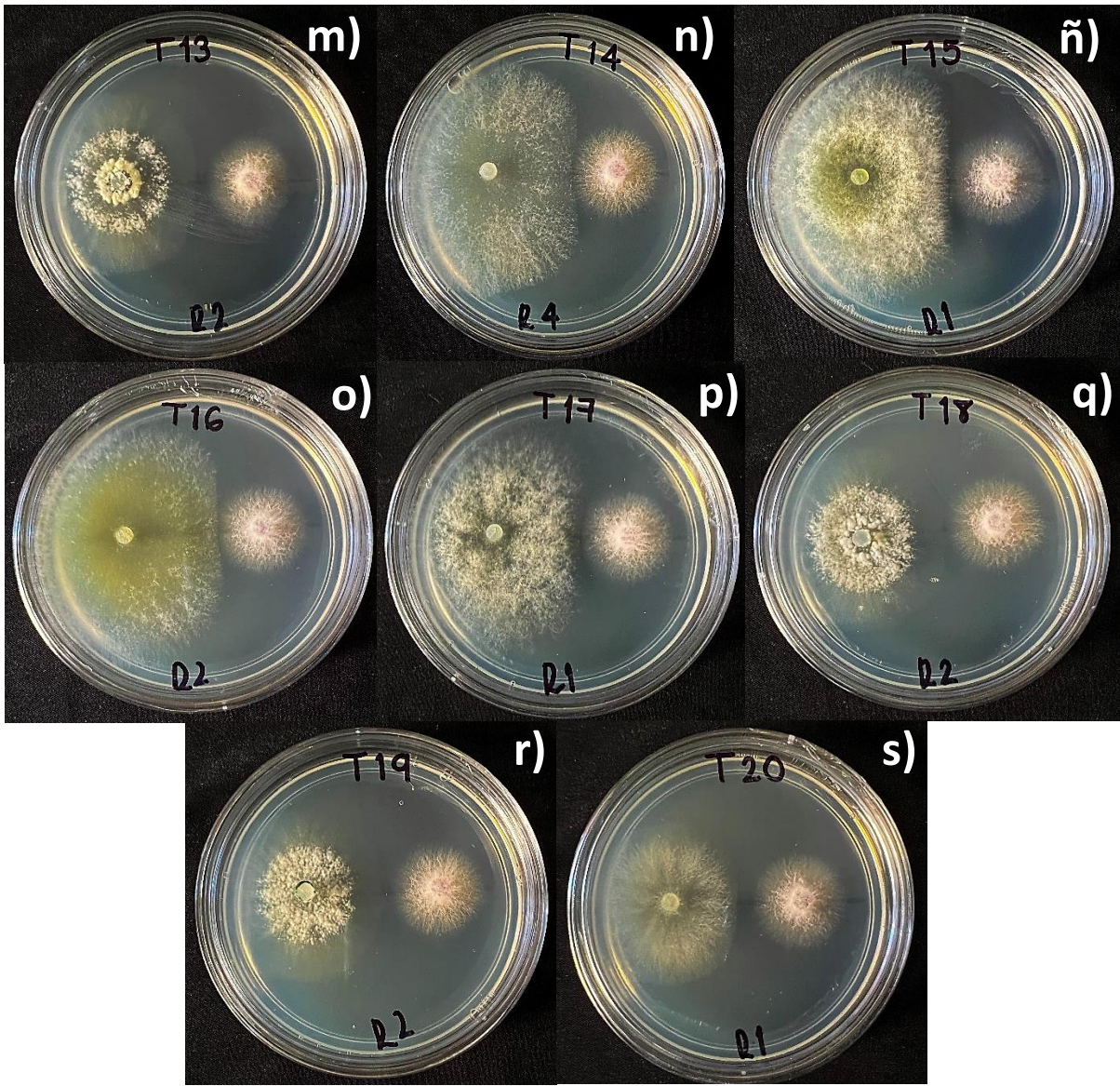
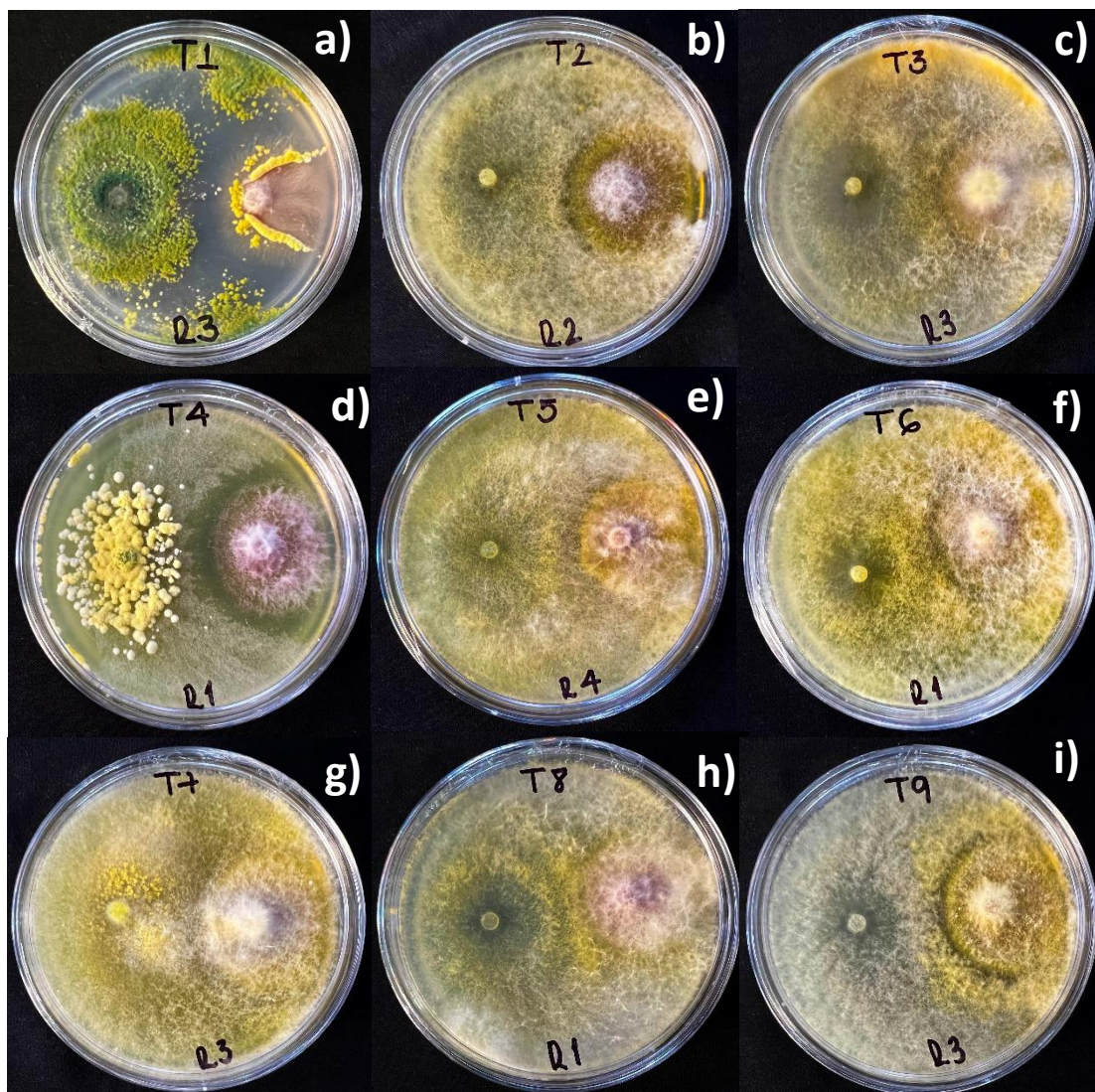


Figura 9. Antagonismo de las cepas de *Trichoderma* spp. hacia *Fusarium oxysporum* a las 96 horas. **a)** Cepa T1, **b)** Cepa T2, **c)** Cepa T3, **d)** Cepa T4, **e)** Cepa T5, **f)** Cepa T6, **g)** Cepa T7, **h)** Cepa T8, **i)** Cepa T9, **j)** Cepa T10, **k)** Cepa T11, **l)** Cepa T12, **m)** Cepa T13, **n)** Cepa T14, **ñ)** Cepa T15, **o)** Cepa T16, **p)** Cepa T17, **q)** Cepa T18, **r)** Cepa T19, **s)** Cepa T20

7.3 SOBRECRECIMIENTO DE *Trichoderma* spp. HACIA *Fusarium oxysporum*

En la evaluación de sobrecrecimiento de las cepas de *Trichoderma* spp. hacia *F. oxysporum* se pudo observar un comportamiento diferente (Fig. 10). El análisis de varianza mostró diferencias altamente significativas entre los tratamientos evaluados, con un 95% de confiabilidad, por lo que se llevó a cabo la prueba de Tukey. Once cepas (T17 p, T10 j, T3 c, T8 h, T5 e, T6 f, T15 ñ, T16 o, T15 ñ, T9 i, T11 k y T7 g) mostraron el mayor porcentaje de sobrecrecimiento hacia *Fusarium oxysporum* con un 100% (grado 5) (Cuadro 4), es decir crecieron totalmente sobre el patógeno y esporularon sobre el mismo. Por otro lado, las cepas (T14 n, T18 q, T4 d, T13 m, T12 l, T1 a, T2 b, T19 r y T20 s) integraron un segundo grupo, quienes sobrecrecieron al patógeno, inhibiéndolo y ocupando el 75% de la caja Petri (grado 4) (Cuadro 4).



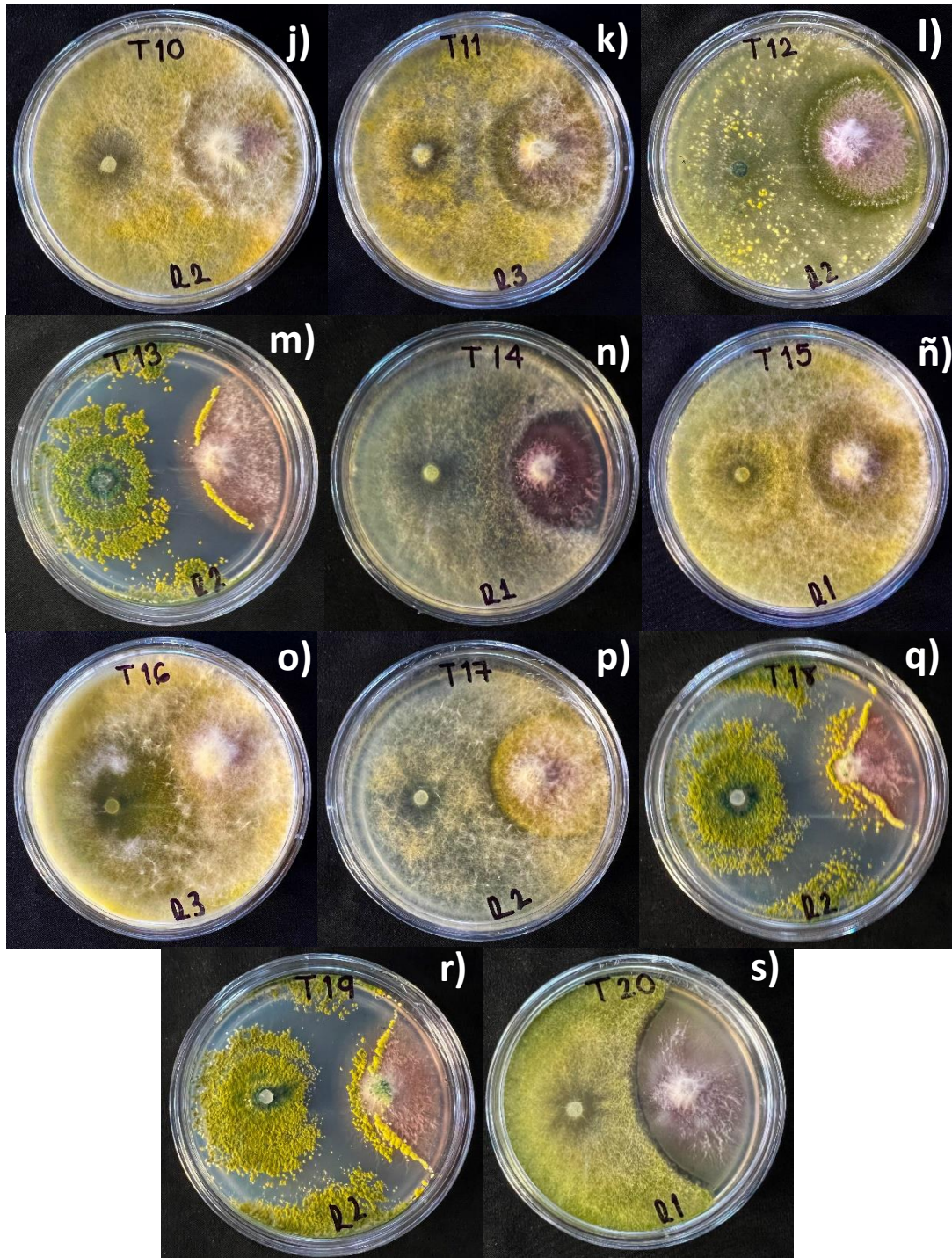


Figura 10. Sobrecrecimiento de las cepas de *Trichoderma* spp. frente a *Fusarium oxysporum* a los 13 días. **a)** Cepa T1, **b)** Cepa T2, **c)** Cepa T3, **d)** Cepa T4, **e)** Cepa T5, **f)** Cepa T6, **g)** Cepa T7, **h)** Cepa T8, **i)** Cepa T9, **j)** Cepa T10, **k)** Cepa T11, **l)** Cepa T12, **m)** Cepa T13, **n)** Cepa T14, **ñ)** Cepa T15, **o)** Cepa T16, **p)** Cepa T17, **q)** Cepa T18, **r)** Cepa T19, **s)** Cepa T20

| Tratamiento | % del sobrecrecimiento de <i>Trichoderma</i> spp. | Grado | Agrupamiento prueba Tukey |
|--------------------|--|--------------|--------------------------------------|
| T17 | 100 | 5 | A |
| T10 | 100 | 5 | A |
| T3 | 100 | 5 | A |
| T8 | 100 | 5 | A |
| T5 | 100 | 5 | A |
| T6 | 100 | 5 | A |
| T15 | 100 | 5 | A |
| T16 | 100 | 5 | A |
| T9 | 100 | 5 | A |
| T11 | 100 | 5 | A |
| T7 | 95 | 5 | A |
| T14 | 90 | 4 | BA |
| T18 | 80 | 4 | BC |
| T4 | 75 | 4 | C |
| T13 | 75 | 4 | C |
| T12 | 75 | 4 | C |
| T1 | 75 | 4 | C |
| T2 | 75 | 4 | C |
| T19 | 75 | 4 | C |
| T20 | 75 | 4 | C |

Cuadro 4. Porcentaje del sobrecrecimiento micelial de *Trichoderma* spp. hacia *Fusarium oxysporum* a los 13 días.

7.4 IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA DE *Trichoderma* spp.

Se llevo a cabo la identificación morfológica de las cepas T5, T3 y T6, las cuales presentaron el porcentaje de inhibición y sobrecrecimiento más alto en las pruebas realizadas sobre el patógeno *Fusarium oxysporum*.

- **CRECIMIENTO RADIAL DEL MICELIO DE LAS CEPAS EN SNA A 25 °C.**

Se midió el radio micelial de las cepas T5, T3 y T6 a una temperatura de 25°C en un periodo de tres días, utilizando el medio de cultivo SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar). De acuerdo con el método realizado se pudo observar un crecimiento micelial diferenciado a las 24, 48 y 72 horas. En el día uno la cepa T5 presento un crecimiento radial micelial de 18.2 mm, la cepa T3 mostro un crecimiento radial micelial de 24.4 mm y la cepa T6 presento un crecimiento micelial de 24.2 mm. En el día dos la cepa T5 alcanzo un crecimiento radial micelial de 40.8 mm, la cepa T3 presento un crecimiento de 48 mm y la cepa T6 obtuvo un crecimiento de 47.4 mm. Finalmente en el día tres la cepa T5 mostro un crecimiento radial micelial de 65.6 mm, mientras que la cepa T3 presento un crecimiento micelial de 67.2 mm y la cepa T6 obtuvo un crecimiento micelial de 67.2 mm.

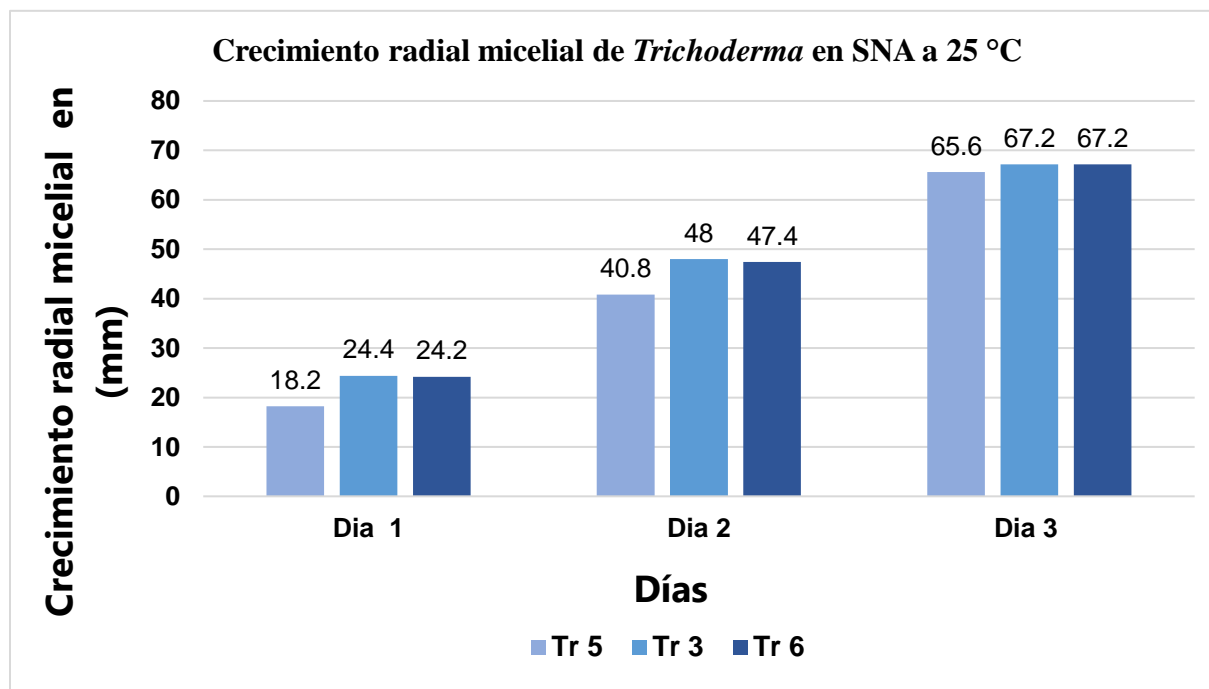


Figura 11. Promedio del crecimiento radial micelial de las cepas T5, T3 y T6 en SNA a 25 °C.

- **CRECIMIENTO RADIAL DEL MICELIO DE LAS CEPAS EN PDA (Difco) A 25 °C.**

El radio micelial de las cepa T5, T3 y T6 fue medido a una temperatura de 25°C en un periodo de tres días, utilizando el medio de cultivo PDA (Difco). En base a las medias obtenidas se pudo observar un crecimiento micelial diferenciado a las 24, 48 y 72 horas. En el día uno la cepa T5 presento un crecimiento radial micelial de 26.4 mm, mientras que la cepa T3 mostro un crecimiento micelial de 22.8 mm y la cepa T6 alcanzo un crecimiento micelial de 23 mm. En el día dos la cepa T5 alcanzo un crecimiento micelial de 52.6 mm, la cepa T3 obtuvo un crecimiento de 43 mm y la cepa T6 mostro un crecimiento micelial de 47.6 mm. Finalmente en el día tres la cepa T5 obtuvo un crecimiento radial micelial de 67.4 mm, la cepa T3 presento un crecimiento de 64.6 y la cepa T6 alcanzo un crecimiento radial micelial de 59.8 mm.

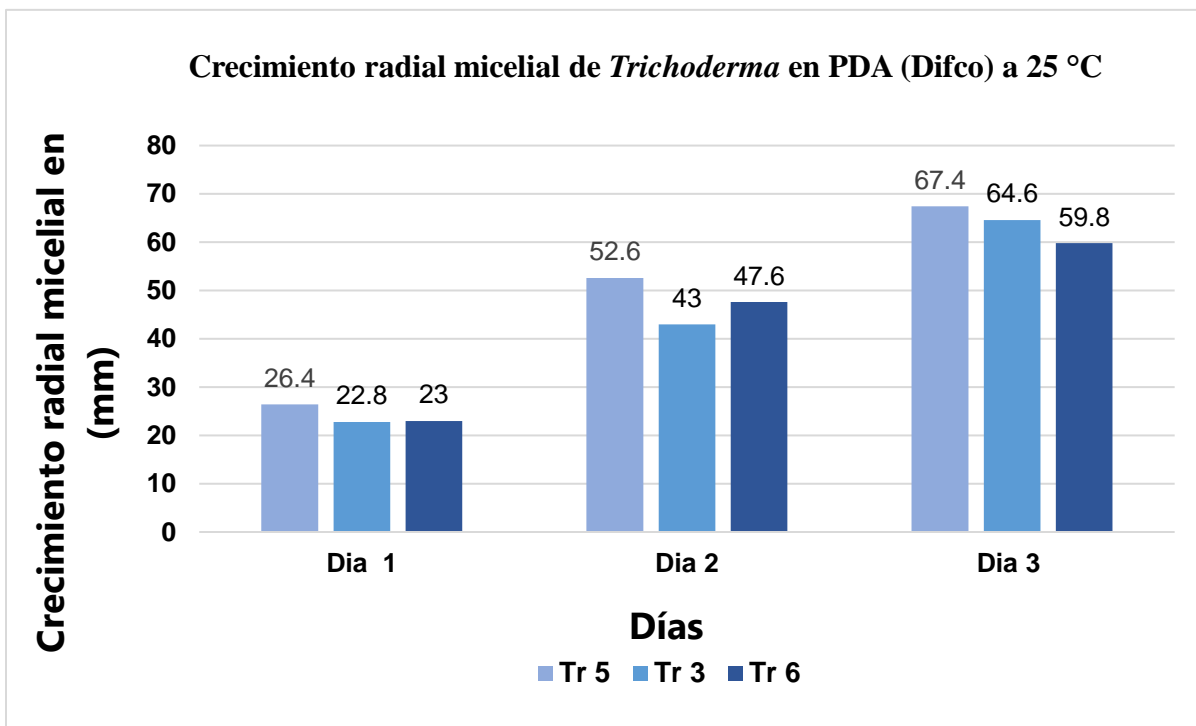


Figura 12. Promedio del crecimiento radial micelial de las cepas T5, T3 y T6 en PDA (difco) a 25 °C.

- **CRECIMIENTO RADIAL DEL MICELIO DE LAS CEPAS EN SNA A 35 °C.**

Se obtuvieron las medidas del radio micelial de las cepa T5, T3 y T6 a una temperatura de 35°C en un periodo de tres días, utilizando el medio de cultivo SNA (Spezieller Nährstoffarmer Agar). De acuerdo con el método realizado se pudo observar un crecimiento micelial diferenciado a las 24, 48 y 72 horas. En el día uno la cepa T5 mostro un crecimiento de 3.8 mm, la cepa T3 presento un crecimiento de 5.4 mm y la cepa T6 obtuvo un crecimiento micelial de 3.2 mm. A las 48 horas la cepa T5 presento un crecimiento de 3.8 mm, la cepa T3 mostro un crecimiento micelial de 6 mm y la cepa T6 alcanzo un crecimiento micelial de 5.8 mm. Finalmente a las 72 horas la cepa T5 obtuvo un crecimiento de 4 mm, mientras que la cepa T3 alcanzo un crecimiento de 6.6 mm y la cepa T6 presento un crecimiento de 10 mm.

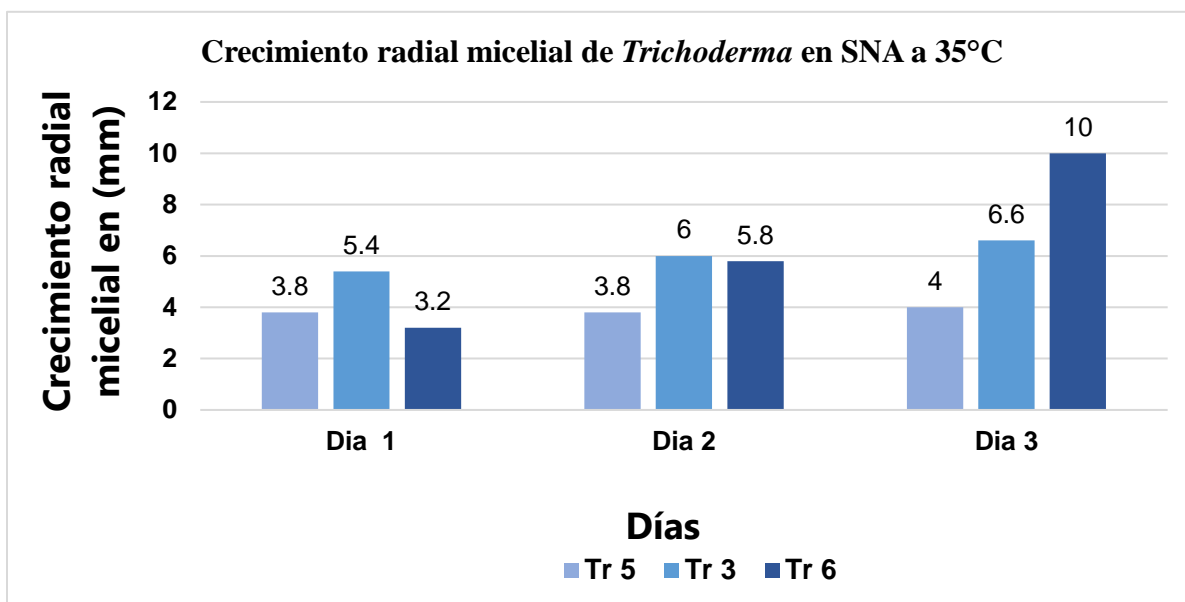


Figura 13. Promedio del crecimiento radial micelial de las cepas T5, T3 y T6 en SNA a 35 °C.

- **CRECIMIENTO RADIAL DEL MICELIO DE LAS CEPAS EN PDA (Difco) A 35 °C.**

El radio micelial de las cepa T5, T3 y T6 fue medido a una temperatura de 35°C en un periodo de tres días, utilizando el medio de cultivo PDA (Difco). En base a las medias obtenidas se pudo observar un crecimiento micelial diferenciado a las 24, 48 y 72 horas. En el día uno la cepa T5 presento un crecimiento radial micelial de 4.6 mm, la cepa T3 mostro un crecimiento de 5.6 mm y la cepa T6 obtuvo un crecimiento de 8 mm. En el día dos la cepa T5 mostro un crecimiento micelial de 8.6 mm, mientras que la cepa T3 presento un crecimiento de 9 mm, por otra parte, la cepa T6 consiguió un crecimiento micelial de 11 mm. Finalmente en el día tres la cepa T5 alcanzo un crecimiento micelial de 11.8 mm, la cepa T3 obtuvo un crecimiento de 12 mm y el cepa T6 mostro un crecimiento de 12.6 mm.

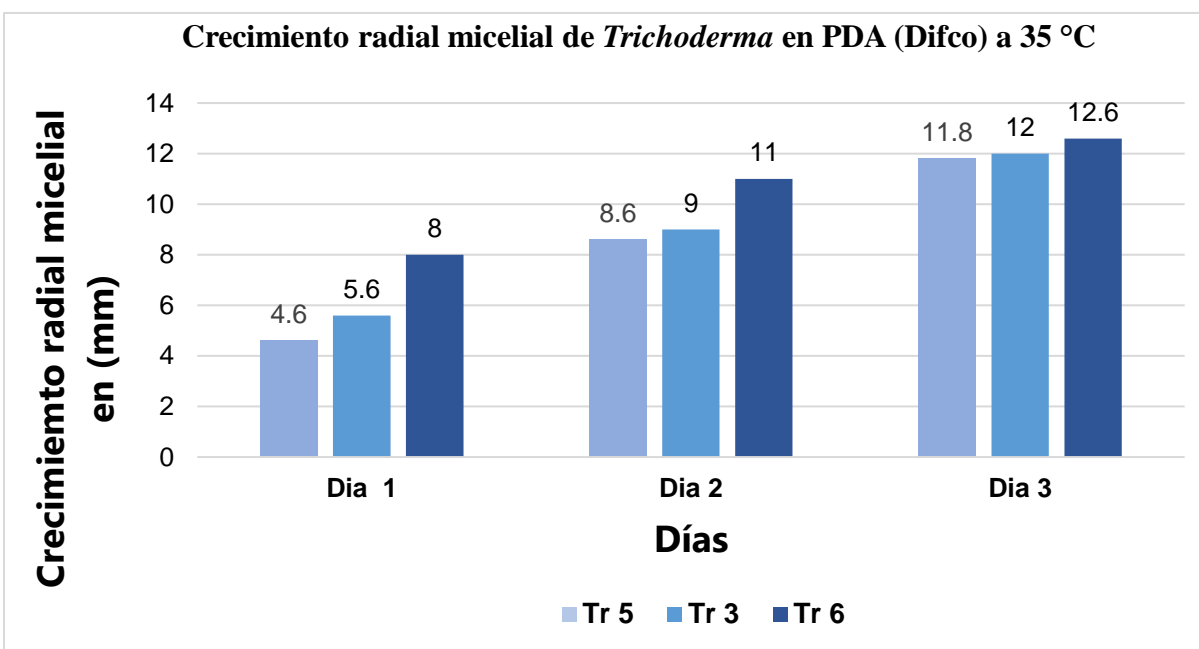
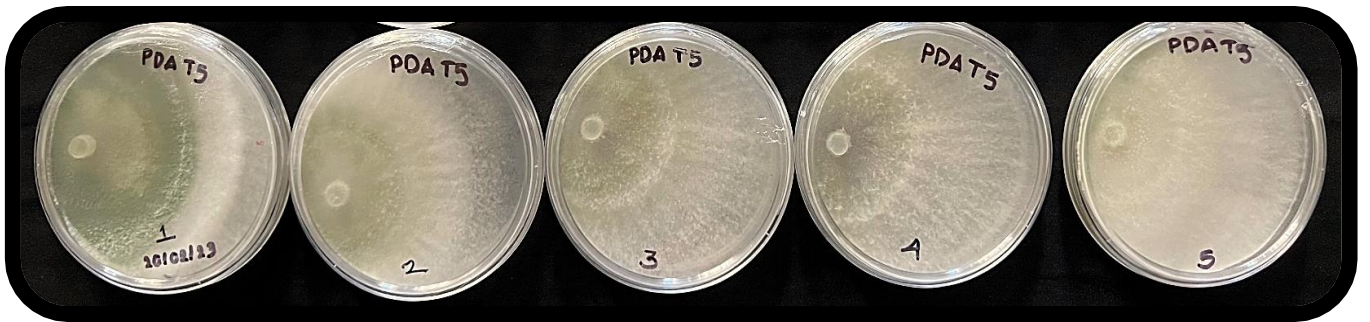


Figura 14. Promedio del crecimiento radial micelial de las cepas T5, T3 y T6 en PDA (difco) a 35 °C.

CARACTERISTICAS MORFOLOGICAS MACROSCOPICAS Y MICROSCOPICAS OBSERVADAS EN LAS CEPAS *Trichoderma* spp.

- *Trichoderma* cepa 5

Radio de la colonia a 25°C en PDA: 67.4 mm



Radio de la colonia a 25°C en SNA: 65.6 mm

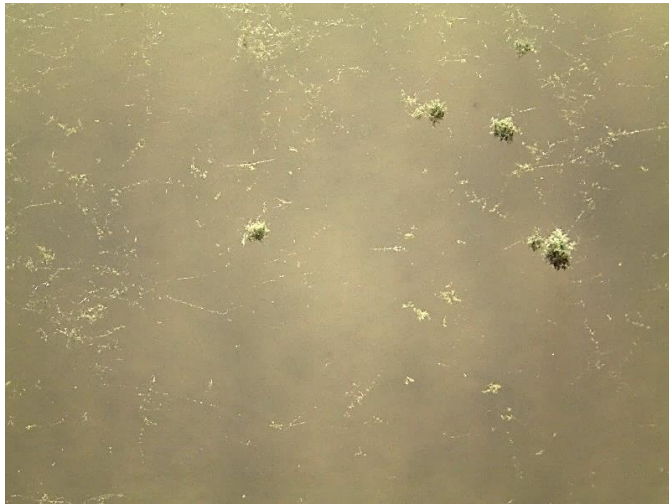


Radio de la colonia a 35°C en PDA: 11.8 mm

Radio de la colonia a 35°C en SNA: 4 mm



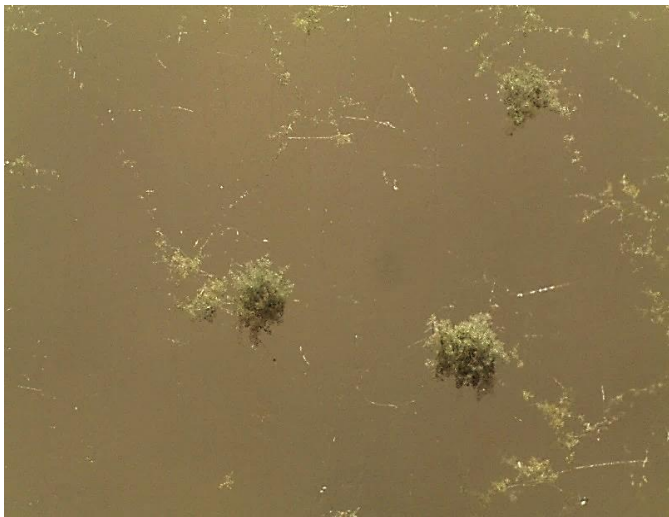
Conidiación: Presencia de pústulas algodonosas que se forman abundantemente en medio SNA, al ser observadas al microscopio estereoscópico son visibles los conidióforos. Muestran forma asimétrica de color verde oscuro.



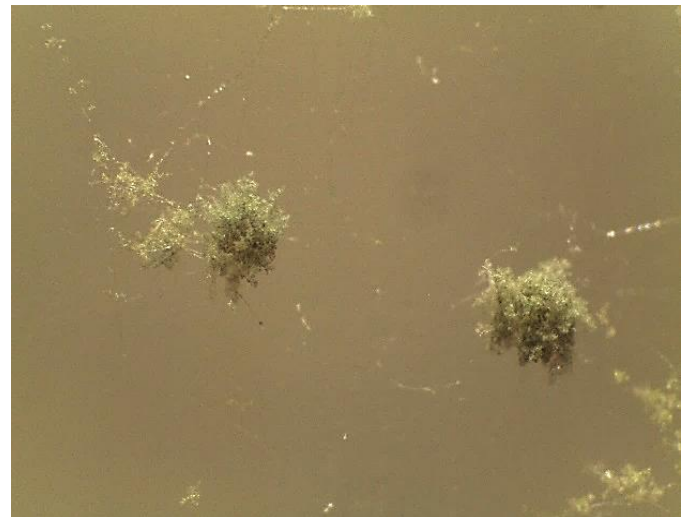
aumento 80X



aumento 160X



aumento 250X



aumento 350X

Características microscópicas:

Presentan conidióforo de tipo piramidal, los cuales terminan en hifas entrelazadas de las pústulas, compuestos por un eje central bien definido. Fiálides de tipo lageniformes (más largas que el ancho de la célula que las produjo), las cuales se mantienen en verticilos divergentes de tres o más. De acuerdo con los promedios obtenidos las fiálides obtuvieron una longitud de $7.3 \mu\text{m}$, una anchura de $2.6 \mu\text{m}$ y L/W de 3, por otro lado, la célula de soporte en la fiálide presentó una anchura de $2 \mu\text{m}$. Los conidios presentan forma subglobosa ligeramente ovalados, color verde oscuro, sin ornamentación, mostrando una longitud promedio de $3.3 \mu\text{m}$ y una anchura promedio de $2.5 \mu\text{m}$. A los 12 días hubo presencia de abundantes clamidosporas de forma subglobosa, con pared gruesa, solitarias terminales. En base a las características macroscópicas y microscópicas esta cepa fue identificada como *T. asperellum* de acuerdo con las descripciones de Samuels y Hebbbar (2015).

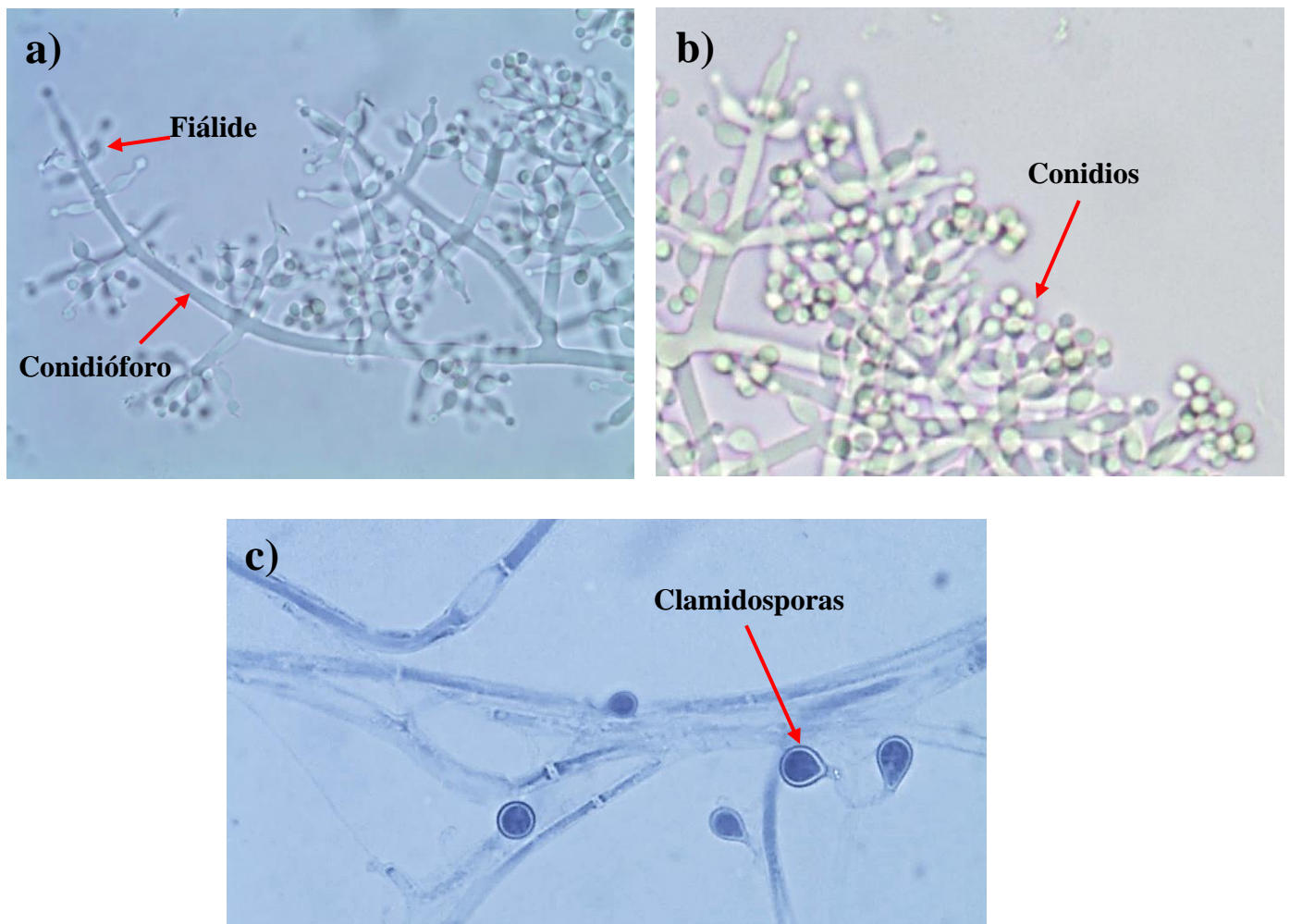


Figura 15. Características morfológicas de *T. asperellum* cepa 5; **a)** fiálide y conidióforo, **b)** conidios y **c)** clamidosporas. 55

- *Trichoderma cepa* 3

Radio de la colonia a 25°C en PDA: 64.6 mm



Radio de la colonia a 25°C en SNA: 67.2 mm



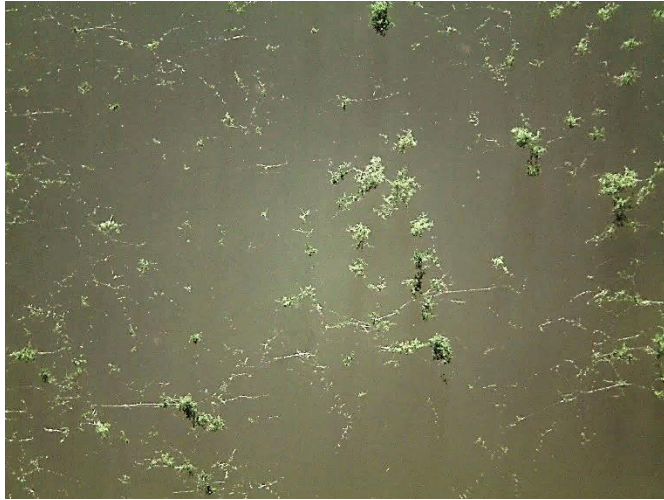
Radio de la colonia a 35°C en PDA: 12 mm



Radio de la colonia a 35°C en SNA: 6.6 mm



Conidiación: Presencia de pústulas algodonosas, formadas alrededor del inóculo original logrando extenderse por toda la caja Petri. Muestran forma asimétrica o sin forma y presentan una coloración verde oscuro o intenso.



aumento 80X



aumento 160X



aumento 250X



aumento 350X

Características microscópicas:

Presencia de conidióforo tipo piramidal con ramas laterales visiblemente emparejadas las cuales surgen desde un eje principal bien desarrollado. Fiálides de tipo lageniformes (más largas que el ancho de la célula que las produjo), las cuales se mantienen en verticilos divergentes de tres a cuatro. En base a los promedios obtenidos las fiálides presentaron una longitud de $9.3 \mu\text{m}$, una anchura de $2 \mu\text{m}$ y L/W de 5. La célula de soporte en la fiálide mostro una anchura de $2 \mu\text{m}$. Los conidios presentan forma subglobosa, color verde oscuro o intenso, mostrando una longitud promedio de $3.2 \mu\text{m}$ y una anchura de $2.4 \mu\text{m}$. Presencia de abundantes clamidosporas, las cuales mostraron forma subglobosas solitarias y de pared gruesa. En base a las características macroscópicas y microscópicas está cepa fue identificada como *T. atroviride* de acuerdo con las descripciones de Samuels y Hebbar (2015).

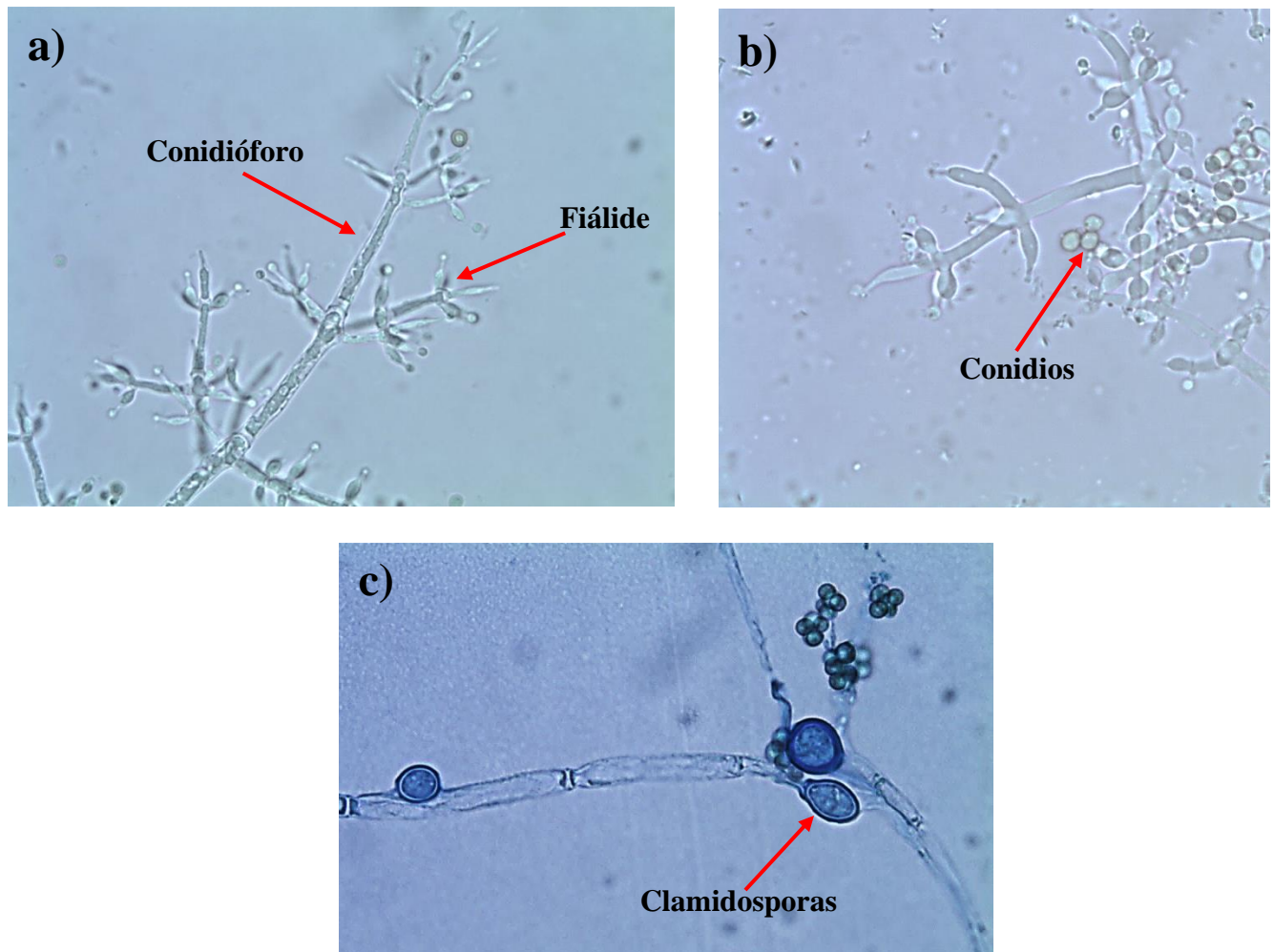


Figura 16. Características morfológicas de *T. atroviride* cepa 3; a) Conidióforo y fiálides, b) conidios y c) clamidosporas.

- *Trichoderma cepa* 6

Radio de la colonia a 25°C en PDA: 59.8 mm



Radio de la colonia a 25°C en SNA: 67.2 mm



Radio de la colonia a 35°C en PDA: 12.6 mm

Radio de la colonia a 35°C en SNA: 10 mm



Conidiación: Presencia de pústulas abundantes, uniformemente dispersas formando un césped continuo, presentan forma asimétrica, algodonosas, presentan una coloración verdosa intensa; conidióforos completamente fértiles visibles en el microscopio estereoscópico.



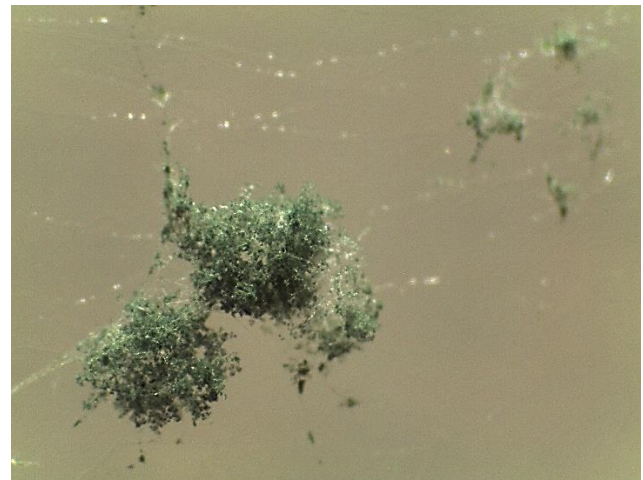
aumento 80X



aumento 160X



aumento 250X



Aumento 350X

Características microscópicas:

Presencia de conidióforo piramidal; conidióforos que terminan en hifas entrelazadas de pústulas, compuestos por un eje central muy bien definido. fiálides de tipo langeniformes (más largas que el ancho de la célula que las produjo) , las cuales normalmente se mantienen en verticilos divergentes de tres o más. De acuerdo con los promedios obtenidos las fiálides presentaron una longitud de $8.2\ \mu\text{m}$, un ancho de $2.8\ \mu\text{m}$ y L/W de 3, mientras que la célula de soporte en la fiálide mostro una anchura de $2.1\ \mu\text{m}$. Presentaron conidios subglobosos de color verde oscuro o intenso, los cuales formaron falsas cabezas en las fiálides, mostraron una longitud promedio de $3\ \mu\text{m}$ y un ancho de $2.4\ \mu\text{m}$. Clamidosporas subglobosas solitarias terminales, las cuales se presentaron en abundancia. En base a las características macroscópicas y microscópicas está cepa fue identificada como *T. atroviride* de acuerdo con las descripciones de Samuels y Hebbar (2015).

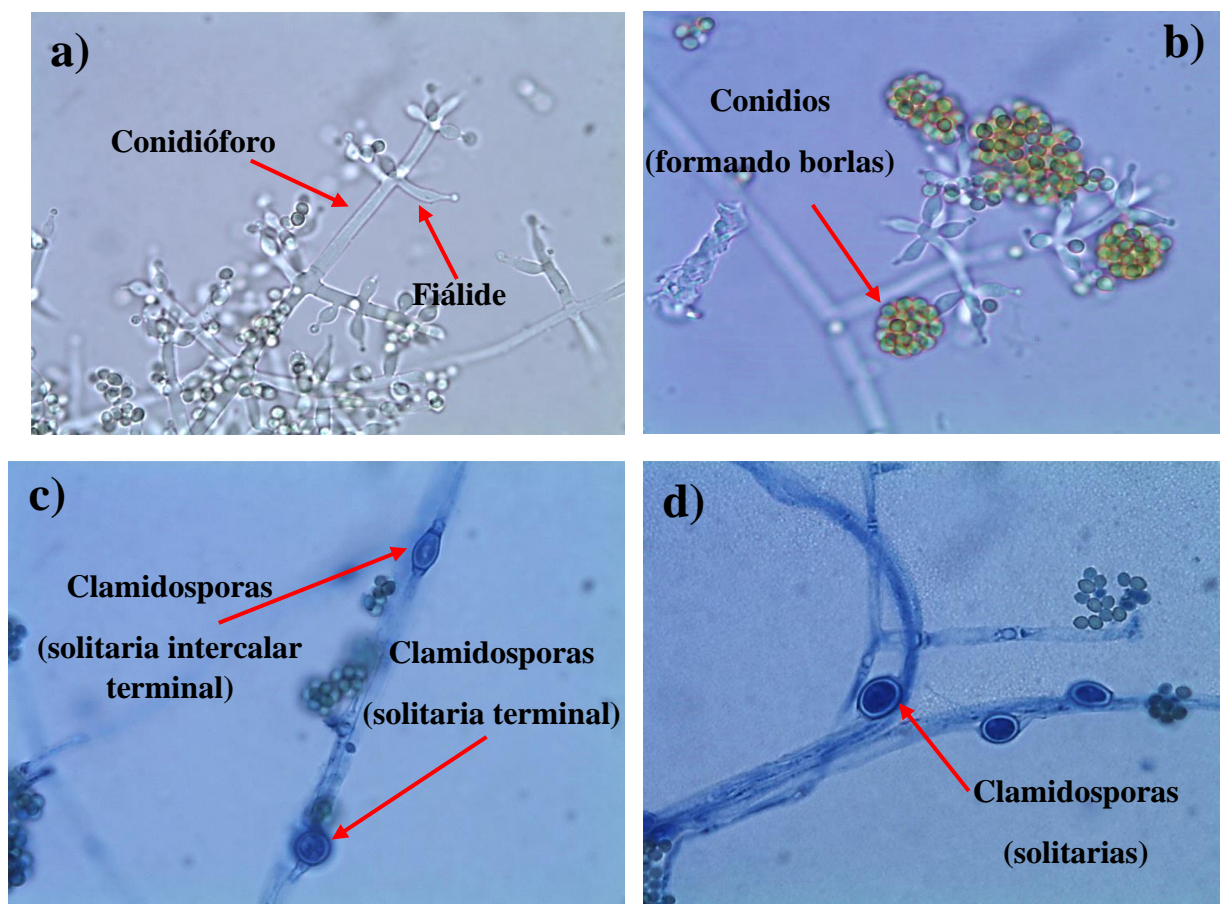


Figura 17. Características morfológicas de *T. atroviride* cepa 6; **a)** Conidióforo y fiálides, **b)** grupos de conidios (formando borlas), **c)** clamidosporas intercalar solitaria y solitaria terminal y **d)** clamidosporas solitarias.

8 DISCUSIÓN

El género *Trichoderma* es ampliamente conocido por ser un hongo cosmopolita, debido a su plasticidad ecológica que le ha permitido llevar a cabo su desarrollo en todos los tipos de suelos de climas tropicales y templados desarrollándose sobre materia vegetal de condición variada. En este trabajo se obtuvieron 20 cepas de *Trichoderma* spp. obtenidas de 7 muestras de suelo pertenecientes a los municipios de Jojutla y Tlaltizapán, dichas cepas presentaron características típicas del género *Trichoderma* tales como rápido crecimiento en un medio de cultivo, micelio algodonoso, color amarillo-verde oscuro, sin embargo, su intensidad es variable de acuerdo con la especie, coincidiendo con lo reportado en la literatura (Samuels y Hebbbar, 2015; Allende et al., 2022).

Trichoderma es uno de los géneros de hongos que se ha destacado por su importancia biotecnológica y ambiental debido a su gran variedad de especies benéficas que contribuyen a mejorar la rizosfera vegetal y a combatir patógenos en cultivos económicamente importantes, por lo que dicho género ha sido utilizado como un biocontrol contra hongos fitopatógenos gracias a sus múltiples mecanismos de acción, sobresaliendo la antibiosis, el micoparasitismo, la competencia por espacio y nutrientes, y la producción de metabolitos secundarios (Hernández et al 2019; Allende et al., 2022). La identificación de las especies que conforman a este grupo de hongos ha sido una herramienta fundamental debido a la gran importancia por la cual se caracteriza dicho género. *Trichoderma* ha sido identificado principalmente en base a su morfología macroscópica y microscópica. De acuerdo con su morfología macroscópica se evalúa, primeramente; el color de la colonia, tipo de micelio, se mide el radio de la colonia y la formación de pústulas, mientras que en la morfología microscópica se evalúa principalmente forma y tamaño de los conidios, tipo de fiálides, conidióforos y presencia o ausencia de clamidosporas. En la actualidad el empleo de técnicas moleculares es un complemento para la identificación morfológica de varios grupos de hongos (Allende et al., 2022).

En este trabajo se evaluaron 20 cepas obtenidas de suelo en cultivo de agave para determinar su grado de antagonismo y sobrecrecimiento contra el patógeno *Fusarium oxysporum* utilizando la técnica de cultivo dual. Se observó que las cepas T5, T3 y T6 fueron las que presentaron mayor porcentaje de inhibición y sobrecrecimiento ante el patógeno. Es

importante mencionar que la interacción entre *Trichoderma* y *Fusarium* en cultivos duales es dividida en tres fases: a) fase inicial en donde las hifas de *Trichoderma* y *Fusarium* entran en contacto, b) fase intermedia en donde *Trichoderma* puede o no inhibir a *Fusarium*, caracterizada por el desarrollo de una zona de intersección en las puntas de unión de las hifas y c) fase final donde *Trichoderma* parasita o sobrecrece en el patógeno (Gamboa, 2017). En los bioensayos realizados también se observó el desarrollo de las tres fases mencionadas.

En nuestro estudio la cepa de *Trichoderma* T5 creciendo en medio SNA presento pústulas algodonosas de color verde oscuro, abundantes, con forma asimétrica, conidióforos de tipo piramidal, fiálides lageniformes, conidios subglobosos formados abundantemente y clamidosporas subglobosas, estas características macroscópicas y microscópicas corresponden con las descripciones de *T. asperellum* proporcionadas por Samuels y Hebbbar, (2015). Esta especie en el bioensayo de antagonismo mostro PIC del 24.8% y un sobrecrecimiento hacia el patógeno *Fusarium oxysporum* del 100%, mientras que estudios similares en plantas de caña de azúcar se observó que esta especie mostro un PIC del 44.37% hacia *Fusarium sacchari* proporcionando un efecto positivo como un buen agente antagonista hacia el patógeno y además promoviendo un mejor desarrollo en las plantas ya que se demostró un incremento en el número de tallos, altura, diámetro de tallos, longitud de raíz, así como biomasa húmeda y seca de las raíces (Gamboa *et al.*, 2017). Así mismo Duarte *et al.*, 2021 reporta que cepas de *T. asperellum* procedentes de semillas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), mostraron un efecto eficaz como antagonistas contra el patógeno perteneciente al género *Fusarium* en donde se obtuvo un PIC por encima del 60%. Por otro lado, Espinoza *et al.*, 2019 exponen la capacidad antagónica obtenida por cepas de *T. asperellum*. Dichas cepas fueron confrontadas frente a *Fusarium oxysporum* y *F. solani* utilizando la técnica de cultivo dual debido que ambas especies patógenas inducen la pudrición de raíces y tallo en plantas de melón (*Cucumis melo*). En dicho estudio se obtuvo que las cepas de la especie *T. asperellum* presentaron un PIC del 54.9% al 74.1%.

Por otra parte, tomando en cuenta las características morfológicas observadas en las cepas de *Trichoderma* T3 y T6, presencia de abundantes pústulas asimétricas, algodonosas de color verde oscuro, conidióforos tipo piramidal, fiálides de tipo lageniformes, conidios subglobosos y clamidosporas solitarias terminales se identificó como *T. atroviride* de

acuerdo con las descripciones de Samuels y Hebbar (2015). En nuestro estudio las cepas T3 y T6 presentaron un PIC del 23% y 18% con un sobrecrecimiento del 100% hacia *Fusarium oxysporum*. En un reporte previo, Cabrera *et al.*, (2020) mostraron la eficacia de la especie *T. atroviride* hacia *Fusarium graminearum*, patógeno causante de la fusariosis en la espiga, la cual es una enfermedad de distribución mundial. En dicho estudio *T. atroviride* presentó un PIC de 60% destacando por presentar la mayor inhibición y sobrecrecimiento ante el patógeno. Así mismo Fabiano *et al.*, (2021) exponen que cepas pertenecientes a la especie *T. atroviride* fueron aisladas de suelo donde se cultiva sorgo para conocer su capacidad antagonista hacia el patógeno *Fusarium nygamai* quien se distingue por ocasionar graves problemas en el cultivo de sorgo (*Sorghum bicolor*), en dichas pruebas duales se obtuvo que una de las cepas (T21) perteneciente a la especie *Trichoderma atroviride* mostró un PIC del 73.1 % y 62.7 % contra ambas cepas evaluadas del patógeno *F. nygamai*. Por otro lado, Rao *et al.*, 2022 comprobaron la eficacia de la especie *T. atroviride* ante el patógeno *Fusarium oxysporum* quien se caracteriza por producir la enfermedad del marchitamiento en plántulas de tomate. En dicho estudio se llevó a cabo la confrontación dual entre el antagonista y el patógeno obteniendo como resultado un PIC del 54.7% hacia *Fusarium oxysporum* mediante la emisión de compuestos orgánicos volátiles producidos por el antagonista, por lo que, al comprobar la eficacia del antagonista hacia el patógeno se realizaron pruebas de bioestimulación en plántulas de tomate inoculadas con *T. atroviride* formulado en talco, consiguiendo que las plántulas de tomate mostraran un mayor aumento en pesos secos aéreos y de raíces después del tratamiento con *T. atroviride* y con ello suprimiera eficazmente la enfermedad del marchitamiento por *Fusarium oxysporum* en plántulas de tomate, con una eficacia de control del 82.69 %.

Con respecto a los resultados del sobrecrecimiento de las cepas de *T. asperellum* (T5) y *T. atroviride* (T3 y T6) sobre *Fusarium oxysporum* estos son semejantes a lo reportado con Infante y Martínez (2019) en donde indican que *T. asperellum* alcanza un sobrecrecimiento hacia el patógeno *Rhizoctonia solani* con un 75% a 100 % por lo que demuestra el rápido crecimiento que caracteriza al género *Trichoderma*. Así mismo Gamboa *et al.*, (2017) demuestran un sobrecrecimiento del 75% por medio de la especie *T. asperellum* frente a *Fusarium sacchari*. Mientras que Pérez *et al.*, (2020) indican que al evaluar dos cepas

pertenecientes a la especie *T. atroviride* mostraron un sobrecrecimiento del 85% al 100% hacia *Rhizoctonia solani*.

De acuerdo con los reportes obtenidos en base a el PIC reflejados por la especie *T. asperellum* y *T. atroviride* ante el patógeno *Fusarium oxysporum* son menores comparados a los reportados en la literatura mencionada por lo que se asume que existe una amplia variabilidad en el PIC entre las especies antagonistas reportadas, además que dicho genero utiliza diferentes mecanismos de acción para llevar a cabo la inhibición, por ejemplo: competencia por nutrientes y espacio, dentro de los nutrientes principalmente por carbono, nitrógeno y hierro, de la misma manera se reporta que *Trichoderma* spp. tiene la capacidad de producir metabolitos volátiles y no volátiles, así como enzimas hidrolíticas extracelulares y metabolitos antifúngicos secundarios que actúan sinérgicamente en la inhibición del crecimiento fúngico, algunos compuestos tales como antibióticos, ácido arziánico, N-acetilado, viridina y sus derivados entre otros que han sido descritos (Gamboa *et al.*, 2017) , por lo que es posible que las cepas evaluadas en este trabajo *T. asperellum* (T5) y *T. atroviride* (T3 y T6) no secretaran en mayor proporción este tipo de compuestos hacia el patógeno. Así mismo la ventaja que obtuvo el patógeno *Fusarium oxysporum* al ser colocado a las 24 horas antes que las cepas de *Trichoderma* podría influenciar en los bajos niveles de inhibición por parte de los antagonistas con respecto a otros estudios.

9 CONCLUSIONES

1. De las muestras de suelo de agave obtenidas en el estado de Morelos, se aislaron 20 cepas con las características morfológicas típicas del género *Trichoderma*.
2. En los cultivos duales las cepas de *Trichoderma* que mostraron el mayor porcentaje de inhibición del crecimiento sobre *Fusarium oxysporum* fueron la T5 con un 28.4% y las T3 y T6 con un 23% y 18.4% respectivamente.
3. Las cepas de *Trichoderma* T5, T3 y T6 mostraron un sobrecrecimiento del 100% hacia *Fusarium oxysporum*.
4. De acuerdo con las características morfológicas macroscópicas y microscópicas la cepa T5 se identificó como *Trichoderma asperellum*.
5. Acorde a las características morfológicas macroscópicas y microscópicas evaluadas las cepas T3 y T4 se identificaron como *Trichoderma atroviride*.

10 PERSPECTIVAS

En base a los resultados obtenidos en este trabajo las tres cepas aisladas e identificadas como *T. asperellum* (T5) y *T. atroviride* (T3 y T6) presentan bases viables para considerarse como eficientes agentes antagonistas contra *F. oxysporum*, por lo que se prevé llevar a cabo la identificación molecular de dichas cepas para comprobar y confirmar que las especies identificadas como *T. asperellum* y *T. atroviride* corresponden con la identificación morfológica. Así mismo se pretende evaluar en estudios posteriores las enzimas y tipos de enzimas secretadas por las tres cepas (T5, T3 y T6), para determinar y conocer las enzimas más eficientes hacia el patógeno *Fusarium oxysporum*. Por otro lado, se podrían realizar estudios *in vivo* con plantas de agave enfermas por *Fusarium oxysporum*, las cuales serían inoculadas con una suspensión de conidios por cada una de las cepas para determinar la eficacia bioestimulante en las plantas y antagonica hacia el patógeno.

11 REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS:

- Agrios, G.** (2005). Plant diseases caused by fungi. En D. Sonnack (Ed.), *Plant pathology* (385-427). EL SEVIER.
- Allende, R.,** Báez, K. M., Salazar, E., & Rojo, I. (2022). Biodiversity of *Trichoderma* spp. in México and its potencial use in agriculture. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 25(3). <https://doi.org/10.56369/tsaes.4297>
- Arbeláez, G.** (2000). Algunos aspectos de los hongos del género *Fusarium* y de la especie *Fusarium oxysporum*. *Agronomía Colombiana*, 17, 12-16. [file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/21538-Article%20Text-73639-1-10-20110613%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/21538-Article%20Text-73639-1-10-20110613%20(1).pdf)
- Argumedo, R.,** Alarcón, A., Ferrera, R & Peña, J.J. (2009). El Género Fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos. *Int. Contam. Ambient.* 25(4), 258-269. <http://www.scielo.org.mx/pdf/rica/v25n4/v25n4a6.pdf>
- Armendáriz, I.,** Quiña, D., Ríos, M & Landázuri, P. (2015). nematodos fitopatógenos y sus estrategias de control. <file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/NemtodosFitopatgenos.pdf>
- Barrientos, G.,** Esparza, E. L., Segura, H. R., Talavera, O., Sampedro, M. L & Hernández, E. (2019) Caracterización morfológica de *Agave angustifolia* y su conservación en Guerrero, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10(3), 655-668.
- Briseño, G.,** Hurtado, S., Díaz, P & Pérez, A. (2011). 1er foro de discusión fitosanitaria en el cultivo del agave azul tequilero. memoria 1er foro de discusión fitosanitaria.
- Cabrera, M.,** Garmendia, G., Rufo, C., Pereyra, S., & Vero, S. (2020). *Trichoderma atroviride* como controlador biológico de fusariosis de espiga de trigo mediante la reducción del inóculo primario en rastrojo. *Terra Latinoamericana*, 38(3), 629-651. DOI: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i3.664>
- Calzada, J. E.,** Sánchez, E., Trujillo, F.J & López, J.A. (2022). Ficha Técnica Pudrición blanda del cogollo del agave. Dirección general de sanidad vegetal. Centro nacional

de referencia fitosanitaria, SAGARPA y SENASICA, 1-16.
[file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/Ficha Tcnica Pectobacterium carotovorum en agave Versi n FINAL.pdf](file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/Ficha_Tecnica_Pectobacterium_carotovorum_en_agave_Versi_n_FINAL.pdf)

Cano, M. A. (2011). A review of interaction of beneficial microorganisms in plants: Mycorrhizae, *Trichoderma* spp. and *Pseudomonas* spp. *U.D.C.A Actualidad & Divulgación Científica*, 14(2), 15-31.
<http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v14n2/v14n2a03.pdf>

CEDRSSA. (2020). Impacto del uso de plaguicidas en el sector agropecuario.
[file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/54IMPACTO%20DE%20LOS%20PLAGUICIDAS%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/54IMPACTO%20DE%20LOS%20PLAGUICIDAS%20(1).pdf)

Coria, J.J., Mora, G. & Yáñez, M.D.J. (2019). Applied regional epidemiology to inductive characterization and forecasting of blue agave gray-spot (*Cercospora agavicola*) in Jalisco, Mexico. *Mexican Journal of Phytopathology*, 37(1), 71-94.
10.18781/R.MEX.FIT.1809-4

Cruz, H., Enríquez, José., Velasco, A. V., Luna, J., Campos, G y Aquino, D. V. (2013). Nutrients and carbohydrates in plants from *Agave angustifolia* Haw. and *Agave karwinskii* Zucc. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, núm. 6, 2013, pp. 1161-1173.

Cruz, J.J., Figueroa, P., Alcántara, J.A., López, V y Silva, F. (2019). Vegetal synergists for trapping the adult of *Scyphophorus acupunctatus* gyllenhal, in pheromone baited traps, in agave angustifolia haw., in morelos, mexico. *Acta Zoológica Mexicana (nueva serie)*, 35, 1-9. [Vegetal synergists for trapping the adult of Scyphophorus acupunctatus Gyllenhal, in pheromone baited traps, in Agave angustifolia Haw., in Morelos, Mexico | ACTA ZOOLOGICA MEXICANA \(N.S.\) \(inecol.mx\)](#)

Departamento de Botánica, Instituto de Biología (IBUNAM), *Agave angustifolia* Haw., ejemplar de: Herbario Nacional de México (MEXU), Plantas Vasculares. En Portal de Datos Abiertos UNAM (en línea), México, Universidad Nacional Autónoma de México. Disponible en: <http://datosabiertos.unam.mx/IBUNAM:MEXU:1232295>

- El Amin A. & Saadabi A. M. A.** 2007. Contribution to the knowledge of soil fungi in Sudan rhizosphere mycoflora of sugarcane at Kenana Sugar Estate. *International Journal of Botany* 3(1): 97102
- Espinoza, C. A., Gallegos, G., Hernández, F. D., Ochoa, Y. M., Cepeda, M., & Castillo, F.** (2019). Antagonistas microbianos a *Fusarium* spp., como agente causal de pudrición de raíces y tallo en melón. *Ecosistemas y recursos agropecuarios*, 6(16), 45-55.
- Esqueda, M., Coronado, M., Gutiérrez, A. H y Fragoso, T.** (2022). *Agave angustifolia* Haw. Técnicas para el trasplante de vitroplantas a condiciones de agostadero. SAGARPA, CIAD, UES y SINAREFI. (2022), 1-18. [file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/Agave_angustifolia Haw. Tcnicas para el Transplante de Vitroplantas a Condiciones de Agostadero%20\(3\)%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/Agave_angustifolia_Haw._Tcnicas_para_el_Transplante_de_Vitroplantas_a_Condiciones_de_Agostadero%20(3)%20(1).pdf)
- Fabiano, A. B. C., Rossi, L. J. B., y Córdoba, S. M. T.** (2021). Selección de cepas de *Trichoderma* para el control biológico de *Fusarium nygamai* en sorgo (*Sorghum bicolor* L. Moench). *Revista Colombiana de Investigaciones Agroindustriales*, 8(1), 11-22. <https://doi.org/10.23850/24220582.4064>
- Fokkema N. J.** 1976. Antagonism between fungal saprophytes and pathogens on aerial plant surfaces. In: Dickinson C. H, Preece T. F. (eds.) *Microbiology of aerial plant surfaces*. Academic Press, London, 487-505 pp.
- Fragoso, T., Gutierrez, A., Coronado, M. L., Terrazas, T., Ramos, C., Vasquez, G., Alvarez, L & Esqueda, M.** (2021). Wild populations of *Agave angustifolia* (Asparagaceae) from Sonora, Mexico: morphological variation and sugar content. *Acta Botánica Mexicana*. núm. (128), 1-17.
- Gamboa, L.C.** (2017). *Selección de cepas nativas de Trichoderma spp. para el control de Fusarium sacchari Y Fusarium andiyazi causantes de la necrosis de las raíces en caña de azúcar (Saccharum officinarum)*. [Tesis de maestría ,Universidad Autónoma del estado de Morelos].
- García, R.** (2007). Enfermedades con origen en el suelo, control biológico y supresividad de suelos. En F. Cerrato (Ed.), *Microbiología agrícola* (328-342). Trillas.

- Gaviña, D.** (14 de septiembre, 2019). Especial mezcal, el sabor de Morelos. El sol de Cuernavaca, Boletín 3593.
- Gelderen, A. A.** (2009). Micoparasitismo Biotrófico de *Fusarium oxysporum* sobre *Cunninghamella* sp. *Boletín micológico*, 24, 51-56.
- Gonzales, P.** (2019). Efecto de los plaguicidas sobre la salud humana. *Biblioteca del Congreso Nacional de Chile*, 1-8. [Efecto de los plaguicidas en la Salud.pdf](#)
- Guigón L.C.** y **Gonzales G.P.A.** (2004). Selección de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en el cultivo de chile (*Capsicum annuum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología*. 22(1): 117-124.
- Hernández, D. J.,** Ferrera, R., & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean journal of agricultural & animal sciences*, 35(1), 98-112.
- Hernández, J. D.,** Ferrero, C & Alarcón, A. (2019). *Trichoderma*: importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia*, 35(1), 98-112. <https://www.scielo.cl/pdf/chjaasc/v35n1/0719-3890-chjaasc-00205.pdf>
- Hernández, J.J.,** Montero, A.M., Montero, J., González, L., Ramírez, R.A., Gonzales, N., Zamora, R., Banderas, A.A., Martínez, S.A., Figueroa, A., Yáñez, M & Maldonado, S. (2017). *Agave angustifolia*. tecno agave (*Revista de la cadena del agave y sus derivados*), 50, 9-58. <http://www.agared.org/sites/default/files/informes2017/2.%20Tecnoagave%20Num.%2050-%20Noviembre-%20Diciembre%202017.pdf>
- Infante, D.,** Martínez, B., Gonzales, N & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Protección Veg*, 24(1), 14-21. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v24n1/rpv02109.pdf>
- Infante, D.,** y Martínez, B. (2019). Actividad antagónica de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg sobre aislados de diferentes grupos anastomóticos de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Revista de Protección Vegetal*, 34(2).

- Karam, M. A.,** Ramírez, G., Bustamante, L.P y Galván, J.M. (2004). Plaguicidas y salud de la población. *Ciencias de la salud humana*, 11(3), 246-254. [Plaguicidas y salud de la población \(redalyc.org\)](https://doi.org/10.15443/redalyc.org)
- Kendrick, B.** 2017. The Fifth Kingdom. Fourth edition. Focus an imprint of Hackett Publishing. Indianapolis
- Khalili E.,** Sadravi M., Nacimi S. y Khosravi V. 2012. Biological control of rice Brown spot with native isolates of three *Trichoderma* species. *Brazilian Journal of Microbiology* 297-305
- Komy, M. H.,** Saleh, A. A., Eranthodi, A., & Molan, Y. Y. (2015). Characterization of Novel *Trichoderma asperellum* Isolates to Select Effective Biocontrol Agents Against Tomato *Fusarium* Wilt. *The plant pathology journal*, 31(1), 50–60. <https://doi.org/10.5423/PPJ.OA.09.2014.0087>
- Kullning-Gradinger C. M.,** Szakacs G. y Kubicek C. P. 2002. Phylogeny and evolution of the fungal genus *Trichoderma* – a multigene approach. *Mycological Research* 106: 757-767.
- Leal, Y. D.,** Martínez, D. I., y Coca, B. M. (2021). Biocontrol de cepas de *Trichoderma* spp. frente a aislados de *Fusarium* spp. procedentes de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista de Protección Vegetal*, 36(2).
- López, U. C.,** Brito, H., López, D., Salaya, J & Gómez, E. (2017). Papel de *Trichoderma* en los sistemas agroforestales- cacaotal como un agente antagónico. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 20 (1), 91-100. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93950595003>
- López, V.,** Mora, G., Gutiérrez, M. A., Mendoza, C., Martínez, V. I., Coria, J. J. & Santana, B. (2020). Caracterización morfológica y molecular de *Fusarium* spp. asociados a la ocurrencia regional de marchitez y pudrición seca del cogollo en *Agave tequilana*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 38(1), 79-106. <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v38n1/2007-8080-rmfi-38-01-79.pdf>

- Martínez, B.**, Infante, D & Peteira, B. (2015). Taxonomía polifásica y variabilidad en el género *Trichoderma*. *Protección Veg*, 30, 11-22. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v30s1/rpv004s15.pdf>
- Martínez, B.**, Infante, D & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Protección Veg*, 28(1), 1-11. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>
- Miranda, M. D. S.**, Mayorga, L. F. M., y Aguilera, L. A. P. (2021). Identificación morfológica y molecular de especies autóctonas *Trichoderma* spp., aisladas de suelos de importancia agrícola. *Revista Ciencia y Tecnología El Higo*, 11(1), 26-42. <https://doi.org/10.5377/elhigo.v11i1.11715>
- Noja, I. A** & Medina, L. (2011). Efecto del control biológico por antagonistas sobre fitopatógenos en vegetales de consumo humano. *Salus*, 15(3), 8-12. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=375939018004>
- Ortiz, E.**, Riascos, D., Angarita, M., Castro, O., Rivera, C., Romero¹, D., Puentes, C., Silva, K., y Hoyos, L. (2009). Tópicos taxonómicos para el estudio del género *Fusarium*. *Fitopatología Colombiana*, 33(2), 61-66.
- Palm, C.** (1988). Desarrollo y control de las enfermedades de plantas. Limusa. México, D.F.
- Parra, J. A.**, España, V. H., Pérez, P. A. L., Ovando, M. A., Cervantes, O., Burgos, J. E., & Cortes, T. (2019). *Scyphophorus acupunctatus* (Coleoptera: Dryophthoridae): a weevil threatening the production of agave in Mexico. *Florida Entomologist*, 102(1), 1-9. <https://doi.org/10.1653/024.102.0101>
- Pérez, A.**, Pérez, M. A., Coca, B. M., Rollhaiser, I. N., y Blengini, M. (2020). Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. in vitro como potenciales biofungicida para el control de *Rhizoctonia solani* Kühn en la papa. *Agriscientia*, 37(2), 21-30. DOI: 10.31047/1668.298x.v37.n2.29419.
- Pérez, E.**, Chávez, C & González, J. C. (2016). Revisión del agave y el mezcal. *Colomb. Biotecnol*, 18(1), 148-164. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77645907016>

- Pérez, V.H.**, Cuervo, J.A., Morales, M.A., Peralta, M & Romero, T. (2022). Importance of the cuticular layer during the colonization of the fungus that causes negrilla in *Agave salmiana* Otto ex Salm-Dyck ssp. *Salmiana*. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 13 (70), 166-174. <http://177.242.149.221/index.php/forestales/article/view/1265/3046>
- Quiñones, E. E.**, Montoya, A. C., Rincón, G., & López, L. (2023). Inoculación de bulbilos de *Agave tequilana* con hongos micorrízicos arbusculares: efecto en el crecimiento y biocontrol contra *Fusarium oxysporum*. *Ciencia y Tecnología Agropecuaria*, 24(1), e3043. https://doi.org/10.21930/rcta.vol24_num1_art:3043
- Ramírez, M. E** & Rojas, M. (2010). La necrosis un mecanismo regulado de muerte celular. *Revistas Científicas de América Latina*, 23(2). <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=180519015008>
- Ramírez, V.** (2002). *Diagnóstico del estado de sanidad del agave (Agave tequilana Weber variedad azul) En la zona protegida por la denominación de origen del tequila*. [Tesis Maestría, Universidad de Guadalajara]. Cuba. http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5419/Vicente_Ramirez_Ismael.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Rao, Y.**, Zeng, L., Jiang, H., Mei, L., y Wang, Y. (2022). *Trichoderma atroviride* LZ42 releases volatile organic compounds promoting plant growth and suppressing *Fusarium* wilt disease in tomato seedlings. *BMC microbiology*, 22(1), 88. <https://doi.org/10.1186/s12866-022-02511-3>
- Reynoso, R.**, García, A.J., López, W., López, A., Cadena, P., Pérez, M. A & Domínguez, M. H. (2012). Identificación taxonómica de utilizados para la elaboración del licor comiteco en Chiapas, México. *Agro productividad (AP)*. (Agave spp). 5(4). Pág. 9-10. [file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/valeria_sias,+Journal+editor,+con-2%20\(3\).pdf](file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/valeria_sias,+Journal+editor,+con-2%20(3).pdf)
- Rodríguez, L. A.** y Arredondo, H. C. (eds.). 2007. *Teoría y Aplicación del Control Biológico*. Sociedad Mexicana de Control Biológico, México. 303 p.

- Romero, S.** (1993). Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México. PP. 294-343.
- Ruiz, J.** (2001). El asombroso mundo de los hongos. *Avance y perspectiva*, 20, 275-281.
<file:///C:/Users/ADMIN/Downloads/Elasombrosomundodeloshongos.pdf>
- Samuels, G. J. & Hebbbar, P. K.** (2015). *Trichoderma identification and Agricultural Applications*. APS PRESS.
- Sánchez, M. D., Morenos, L. F & Páramo, L. A.** (2021). Identificación morfológica y molecular de especies autóctonas *Trichoderma* spp., aisladas de suelos de importancia agrícola. *Ciencia y Tecnología*, 11(1), 26-42. DOI: <https://doi.org/10.5377/elhigo.v11i1.11715>
- Tapia, C., y Amaro, J.** (2014). Género *Fusarium*. *Revista chilena de infectología*, 31(1), 85-86.
- Trinidad, J.R.,** Quiñones, E.E & Rincón, G. (2017). Mycorrhization of *Agave cupreata*: Biocontrol of *Fusarium oxysporum* and plant growth promotion. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 35(2), 151-349.
- Tudi, M.,** Daniel Ruan, H., Wang, L., Lyu, J., Sadler, R., Connell, D., Chu, C., & Phung, D. T. (2021). Agriculture Development, Pesticide Application and Its Impact on the Environment. *International journal of environmental research and public health*, 18(3), 1112. <https://doi.org/10.3390/ijerph18031112>
- Vicente, I.** (2002). Diagnóstico del estado de sanidad del agave (*Agave tequilana* Weber variedad azul) En la zona protegida por la denominación de origen del tequila [Tesis maestría, Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de Ciencias Biológicas y Agropecuarias]
http://repositorio.cucba.udg.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/5419/Vicente_Ramirez_Ismael.pdf?sequence=1&isAllowed=y
- Vinchira, D. M. & Moreno, N.** (2019). Biological control: Path to modern agriculture. *Colomb. Biotecnol*, 21(1), 2-5. DOI: 10.15446/rev.colomb.biote.v21n1.80860



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS



FACULTAD
DE CIENCIAS
BIOLÓGICAS

FACULTAD DE CIENCIAS BIOLÓGICAS
Secretaría Académica

Licenciatura en Biología, Programa Educativo de Calidad.

Cuernavaca, Mor., 27 de febrero del 2024

DRA. DULCE MARÍA ARIAS ATAIDE
DIRECTORA GENERAL DE SERVICIOS ESCOLARES

P R E S E N T E.

Por este conducto, los catedráticos suscritos comunicamos a Usted, que hemos revisado el documento que presenta la Pasante de Biólogo: **C. SÁNCHEZ CASTELL KASANDRA JOHANA**, con el título del trabajo: **AISLAMIENTO Y SELECCIÓN DE CEPAS DE *Trichoderma* spp. ANTAGONISTAS A *Fusarium oxysporum* CAUSANTE DE LA NECROSIS EN LA RAÍZ DEL *Agave angustifolia*.**

En calidad de miembros de la comisión revisora, consideramos que el trabajo reúne los requisitos para optar por la Modalidad de Titulación por Tesis Profesional por Etapas como lo marca el artículo 26° del Reglamento de Titulación Profesional vigente de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos.

Atentamente

Por una humanidad culta

JURADO REVISOR

FIRMA

PRESIDENTE: DRA. MA. DE LOURDES ACOSTA URDAPILLETA

SECRETARIO: DRA. MAURA TÉLLEZ TÉLLEZ

VOCAL: DR. EDGAR MARTÍNEZ FERNÁNDEZ

SUPLENTE: DRA. ELBA CRISTINA VILLEGAS VILLARREAL

SUPLENTE: M. EN C. PATRICIA MARTÍNEZ JAIMES





UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

MAURA TELLEZ TELLEZ | Fecha:2024-02-28 08:37:01 | Firmante

SISx8YAGBzEvDSxqOKAfgJ3lp2XwL9DF94v3ltErVz1jnJC7kPXsAYxFeBbdTilvydjEG3VDPpjLeSQzW1AiAUuKb7BWanhQX1J4dKsRp7//YSUIYR0FwY6wD9KifSFTt/5oqBKLzjr4SmZD4sMiNWoUe7mtiUt7ZTPOCwsCFcaJeVrGQnXpaP7ee6ecQ6E0hmdBbdtbj0VfrqncOSArxpl0K1+6/EkNC1rXLZWIZpKelVoY0pf71S+3diaeJlCTUEocjymIzVgD3j1W+jap73g7bAluMO811MBuQHqUNRU14+Jx7y7Uen4ip/GyT/FBINCXN6dru2QlwfB2wkw==

EDGAR MARTINEZ FERNANDEZ | Fecha:2024-02-28 09:56:37 | Firmante

hlav/iRkVj+68EHU/uvAWrAliL8O4dm4BmBnqXmRfu0AfcxPBWQAaSRFNmi6bmArZ+p30rCWCDblnVla3dDeZxc0FWFYggTmZ0ui2gHY4Yw8wSip6Kz3ZS5a9ZMPwALb7y+Dr ecx+4OSILZg5ob9DoV6til0MivGxbSFU+PfpD2Xt7GdjMlfbt/4Y17+zQMYm/OVIBsl6dN+QY8Vtgg1/m/3DFviKNXjwrsh+PtP5PB2JKuYsd1G7lo9fJQoMjTWGZdIA0jtUr6+m0xv6cbj omN0D3MHAAn5vziXUodTR2b/kXANLhqGCSu/4rKGVWh8ihZW8qet/+UBUVoQYrHkQGw==

PATRICIA MARTINEZ JAIMES | Fecha:2024-02-28 10:10:39 | Firmante

WuvIgyhoXNcGTYcKaMxiFQ+zNoJVYIIlZKtU8r+cQVYgJOULFNX23V3iilQ4+mnBfSSGcym7DcNhmb9Mp65lumZSEER8lzvrFPO5zkvV9VqnxmAvy8olPeP/RRLlc2InZbA5+8uNa 1HBIQo7jijmJqBqXvHikrcCbC3B525XonmLZUEC/vKW5mxlrH1eZzvpBowQrF2v0RPLc7DZPSNJz8+wqzzsOZtJW86J8pviQssCbTFIghoapfetGJBCQoLCS201O1HRIE2/FVMK s3Bwh22SBn4HDpVfiYCVcYngsicWbmVN/IOn/ly93urxSu10ss/Dot6FbbHsqeXJ7e5fxMg==

MA DE LOURDES ACOSTA URDAPILLETA | Fecha:2024-02-29 19:57:30 | Firmante

UkyzbNhpBkCaZlXUMT1oI/gHdl8AOxm1akmL10XoliVccc9iyB0/HI4e9SQdglNo68qVhR61wJZkI97fv/XfiEAU9qu5c63QiszD8pXnLoQPk1JNtakusv/H4TpFVbRgeL3xpqJAB3rp ykGC+HysQhc1c6UTqaqFEm9ylsHRBIRNUysTdsac/EeviCi455IXsYJ43XM9ljtBq14fFYOHvHrXe3l+DI7pZpXEAyEQ5k0xADZ01j4Ljsh6bf5VIDH26fy5ucPjFvgSU34IyaRYhc8RTL M6SOzBdckPXDjv8K4N4DQuivzh1VAqYtYB2IHqUv7npx8LsraErMBvBUg==

ELBA CRISTINA VILLEGAS VILLARREAL | Fecha:2024-03-06 10:45:07 | Firmante

LpIWHYm13dsnijMi5Xf/zQGTJEJ0+2DDTReN4n5/IMNTmJf9B44xc3PkyvB4OpB1nIL4yVcV3seblGg3uM6r4ysNI3BF21vnbSqJzMLu+MEHJkZPy5Yj01j+mZx9oJylQwrccsnHOO 40yudrAEvqMwHuljZLVMVLcJgqbqmyOolV8P8dhzR9JSCToWQyd/e/DEXYFQ9hCKwmzbrRTntl3/d+1+MRELMSe1RSPmC7czrF4XXWTnDqJrvysG9bY+dyzHyKzbSfqSbwX7H W6qcPIBFhQPRBvi6FL/72HSaYpL9P8WYjEGeLZQgLWRRu8eata7XyK4n6d9DLW40mhrVg==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica o escaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



[HJakQoEce](#)

<https://efirma.uaem.mx/noRepudio/SfKNlijzEANshbMlfMgO0ZpaHoW8iMJ>



UAEM
RECTORÍA
2023-2029