



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO

Centro Universitario UAEM Tenancingo



EFFECTIVIDAD DE *Trichoderma* spp. Y *Bacillus subtilis* SOBRE LA ROYA DEL SOLIDAGO Y EN EL CRECIMIENTO VEGETAL

T E S I S

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA

OBTENER EL TÍTULO DE:

INGENIERO AGRÓNOMO EN FLORICULTURA

P R E S E N T A

GERARDO ALEJANDRO DÍAZ FRANCO

DIRECTORES

M. en C. Grisel Domínguez Arizmendi

Dr. en C. Rómulo García Velasco

Tenancingo, Estado de México

Noviembre de 2024

CONTENIDO

| | |
|---|-----|
| ÍNDICE DE CUADROS | V |
| ÍNDICE DE FIGURAS | VI |
| RESUMEN | VII |
| 1. INTRODUCCIÓN | 1 |
| 2. REVISIÓN DE LITERATURA..... | 2 |
| 2.1 Clasificación taxonómica de <i>Solidago</i> | 2 |
| 2.2 Características morfológicas del solidago | 2 |
| 2.3 Importancia del cultivo de solidago en México | 3 |
| 2.4 Importancia del cultivo de solidago en el Estado México | 3 |
| 2.5 Enfermedades fungosas en solidago..... | 4 |
| 2.6 Cenicilla de solidago (<i>Oidium</i> sp.)..... | 5 |
| 2.6.1 Clasificación taxonómica..... | 5 |
| 2.6.2 Signos y síntomas de la enfermedad..... | 5 |
| 2.6.3 Condiciones óptimas de desarrollo | 6 |
| 2.7 Marchitez en solidago (<i>Verticilium</i> spp.)..... | 6 |
| 2.7.1 Clasificación taxonómica..... | 6 |
| 2.7.2 Signos y síntomas de la enfermedad..... | 7 |
| 2.7.3 Condiciones óptimas de desarrollo | 7 |
| 2.8 Pudrición en solidago (<i>Sclerotinia</i> spp.)..... | 7 |
| 2.8.1 Clasificación taxonómica..... | 8 |
| 2.8.2 Signos y síntomas de la enfermedad..... | 8 |
| 2.8.3 Condiciones óptimas de desarrollo | 8 |
| 2.9 <i>Coleosporium</i> spp..... | 9 |

| | |
|---|----|
| 2.9.1 Clasificación taxonómica de <i>C. asterum</i> | 9 |
| 2.9.2 Características morfológicas..... | 10 |
| 2.9.3 Ciclo de vida de <i>C. asterum</i> | 11 |
| 2.9.4 Signos y síntomas | 12 |
| 2.9.5 Condiciones óptimas de desarrollo | 13 |
| 2.10 Métodos de manejo..... | 13 |
| 2.10.1. Manejo químico..... | 13 |
| 2.10.2 Manejo biológico..... | 14 |
| 2.11 Generalidades de <i>Trichoderma</i> spp. | 15 |
| 2.11.1 Clasificación taxonómica de <i>Trichoderma</i> spp..... | 16 |
| 2.11.2 Características morfológicas..... | 16 |
| 2.11.3 Condiciones óptimas de desarrollo | 16 |
| 2.11.4 Mecanismos de acción..... | 17 |
| 2.12 Generalidades de <i>Bacillus</i> spp. | 24 |
| 2.12.1 Clasificación taxonómica de <i>Bacillus subtilis</i> | 25 |
| 2.12.2 Condiciones óptimas de desarrollo | 25 |
| 2.12.3 Características morfológicas y bioquímicas | 25 |
| 2.12.4 Mecanismos de acción..... | 26 |
| 3. JUSTIFICACIÓN | 33 |
| 4. HIPÓTESIS..... | 34 |
| 5. OBJETIVOS | 34 |
| 5.1 Objetivo General | 34 |
| 5.2 Objetivos específicos | 34 |
| 6. MATERIALES Y MÉTODOS | 35 |
| 6.1 Ubicación de la investigación | 35 |

| | |
|--|----|
| 6.2. Efecto de <i>Trichoderma</i> spp. y <i>B. subtilis</i> en la incidencia y severidad de la roya y en el crecimiento vegetal | 35 |
| 6.2.1. Material vegetal | 35 |
| 6.2.2 Cepas nativas de <i>Trichoderma</i> spp. | 35 |
| 6.2.3 Cepa comercial de <i>Trichoderma</i> | 36 |
| 6.2.4 Cepa comercial de <i>B. subtilis</i> | 37 |
| 6.2.5 Inoculación de plantas de solidago | 37 |
| 6.2.6 Incorporación de fuente de inóculo de roya | 37 |
| 6.2.7 Manejo de las plantas | 38 |
| 6.2.8 Variables evaluadas | 38 |
| 6.2.9 Diseño experimental y análisis estadístico | 39 |
| 7 RESULTADOS | 41 |
| 7.1 Síntomas de la enfermedad | 41 |
| 7.2 Incidencia de la enfermedad | 41 |
| 7.3 Severidad de la roya sobre plantas de solidago | 42 |
| 7.4 Estimulación de crecimiento | 43 |
| 8. DISCUSIÓN | 51 |
| 9. CONCLUSIONES | 58 |
| 10. RECOMENDACIONES | 59 |
| 11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 60 |
| 12 ANEXO. DISEÑO DE UNA ESCALA DIAGRAMÁTICA DE SEVERIDAD | 78 |

ÍNDICE DE CUADROS

| | |
|---|----|
| Cuadro 1. Superficie cultivada (ha), cantidad de producción (t) y valor de la producción (MXN \$) de solidago como flor de corte en México en el año 2022..... | 3 |
| Cuadro 2. Valor de la superficie cultivada (ha), producción (t) y valor de la producción (MXN \$) de solidago como flor de corte en el Estado de México durante el periodo 2018-2022. | 4 |
| Cuadro 3. Incidencia de la roya en solidago, 30 días posteriores a la incorporación de la fuente de inóculo. | 42 |
| Cuadro 4. Altura, número de hojas, diámetro de tallo (cm), peso fresco (g) y peso seco (g) en plantas de solidago..... | 44 |
| Cuadro 5. Coeficientes de correlación Pearson entre las variables de altura (cm), número de hojas, peso seco (g) y peso fresco (g). | 48 |
| Cuadro 6. Correlaciones con las variables originales de altura (cm), número de hojas, peso fresco (g) y peso seco (g). | 49 |

ÍNDICE DE FIGURAS

| | |
|---|----|
| Figura 1. Características morfológicas de <i>C. asterum</i> . A) Urediniosporas de forma globosa, B) teliosporas cilíndricas de color amarillo-anaranjado observadas al microscopio óptico, C) micrografía electrónica de barrido de uredinios y D) urediniosporas de (barras de escala: A = 20 μm , B, C = 100 μm , D = 5 μm) (Fuente: Back et al., 2014). | 10 |
| Figura 2. Ciclo biológico de la roya <i>C. asterum</i> . Características morfológicas de las estructuras en cada etapa. Las estructuras productoras de esporas, es decir, basidios, espermogonio, aecio, uredinios y telias, se indican en color rojo, mientras que las esporas como son las basidiosporas, espermatias, aeciosporas, urediniosporas y teliosporas, se indican en color negro (Fuente: Zhao et al., 2022). | 12 |
| Figura 3. Síntomas y signos de roya en hojas de solidago. A) Pústulas de color anaranjado en el envés de la hoja; B) manchas amarillas y marrones en el haz de la hoja; C) urediniosporas observadas bajo microscopio compuesto; D) pústulas maduras de color blanquecino. | 41 |
| Figura 4. Índice de severidad de la roya en plantas de solidago inoculadas con Trianum-P®, Serenade® ASO, SS2, Cut-B y Testigo. Cifras con diferente literal indican diferencias estadísticas significativas. Comparación de medias Tukey ($P < 0.05$). | 43 |
| Figura 5. Altura de las plantas de solidago inoculadas con: A) testigo; B) cepa Cut-B; C) Cepa SS2; D) Trianum-P®; y E) Serenade® ASO. | 45 |
| Figura 6. Follaje de las plantas de solidago inoculadas con: A) testigo; B) cepa Cut-B; C) Cepa SS2; D) Trianum-P®; y E) Serenade® ASO. | 46 |
| Figura 7. Análisis de componentes principales de las variables de altura (cm), número de hojas, peso fresco (g) y peso seco (g). | 50 |
| Figura 8. Dendrograma de las variables de altura (cm), número de hojas, peso seco (g) y peso fresco (g) asociadas a los tratamientos testigo, cepa SS2, Trianum-P®, Serenade® ASO y cepa Cut-B. Método Ward, distancia Euclídea, correlación cofenética: 0.89. | 50 |

RESUMEN

El cultivo de solidago (*Solidago canadensis*) es atacado por diferentes patógenos, dentro de los que destaca el hongo *Coleosporium asterum*, agente causal de la roya, que se manifiesta como manchas amarillentas y marrones en el haz de las hojas y en el envés con pústulas de color anaranjado, que conforme avanza la enfermedad aumentan de tamaño y coalescen; otra característica es que cuando las pústulas maduran toman un color blanquecino de aspecto polvoriento. El principal método de manejo es el control químico con la aplicación de fungicidas; sin embargo, su uso puede resultar costoso y dañino para el ambiente, por ello es necesaria la búsqueda de alternativas sustentables como el uso de agentes de control biológico. Por lo anterior, el objetivo de la presente investigación fue determinar la incidencia y severidad de la roya del solidago, así como la respuesta en el crecimiento vegetal por efecto de *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis*. Se utilizaron plantas de solidago de 25 días de edad, las cuales fueron inoculadas al momento del trasplante y a los 15 y 30 días posteriores, aplicando los siguientes cinco tratamientos: los primeros dos correspondieron a las cepas nativas Cut-B (*T. asperellum*) y SS2 (*T. barbatum*) de las cuales se inocularon 1×10^7 conidios por planta; el tercero fue Triatum-P® (*T. harzianum*, cepa T22), del que se adicionaron 15 mL por planta, el cuarto correspondió a plantas inoculadas con Serenade® ASO (*B. subtilis*, cepa QST 7132) del que se adicionaron 11 mL de la suspensión por planta; el testigo consistió en plantas a las que se les adicionaron 15 mL de agua destilada estéril. Las plantas se mantuvieron en una cámara de crecimiento a 21 ± 2 °C, con humedad relativa de 70-90 % y fotoperiodo de 14 horas luz y 10 horas oscuridad. Para garantizar una fuente de infección permanente de la roya, al día 15 después de la primera inoculación, en cada uno de los tratamientos, se incorporaron cinco plantas de solidago con daños avanzados por la roya, las cuales se distribuyeron de forma equidistante. El experimento concluyó 45 después del establecimiento, momento en el que se determinó: incidencia, índice de severidad, diámetro de tallo, número de hojas, altura, peso fresco y seco. El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con cinco tratamientos con 16 repeticiones; los datos de índice de severidad, altura, grosor del tallo, número de hojas, peso fresco y seco se

analizaron con un ANOVA de una vía y comparación de medias Tukey ($P < 0.05$); adicionalmente, para determinar las relaciones entre las variables se realizó un análisis multivariado; todos los análisis estadísticos se realizaron con el programa InfoStat, versión estudiantil. Como resultados se obtuvo que la mayor incidencia se presentó en las plantas inoculadas con la cepa Cut-B y con Serenade® ASO con 94 %, mientras que se presentó menor número de plantas enfermas en las inoculadas con Trianum-P® (56 %). En lo que respecta a la severidad, se presentaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$), siendo las inoculadas con Trianum-P® las que presentaron el menor índice de severidad con 0.09, destaca que en este tratamiento se presentó una reducción de la severidad del 52.6 % respecto al testigo. En lo relativo a las variables de estimulación de crecimiento vegetal, los resultados del análisis estadístico mostraron que entre tratamientos no se presentaron diferencias estadísticas significativas ($P > 0.05$) en la altura y el número de hojas; mientras que en las variables de grosor del tallo, peso fresco y peso seco sí las hubo. De acuerdo con el análisis multivariado, los mejores tratamientos fueron Trianum-P® y Serenade® ASO, por presentar los valores más altos en la mayoría de las variables de crecimiento vegetal.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de solidago tiene una buena aceptación comercial debido a que se utiliza como flor de relleno. A nivel nacional su producción se centra en estados de Guerrero y Estado de México; siendo este último el de mayor importancia, con un valor de la producción de MXN \$ 37,304,560 en el año 2021 (SIACON, 2024).

Este cultivo es afectado por diversos fitopatógenos, entre los que se encuentra el hongo *Coleosporium* spp.; al respecto McTaggart y Aime (2018), reportan que en América del Norte al menos tres especies del género infectan al solidago: *C. delicatulum*, *C. solidaginis*, *C. montanum* comb. nov.; esta última se propone para el taxón que comúnmente se ha identificado como *C. asterum*, una característica de esta especie es que sobre las hojas se desarrollan pústulas de apariencia pulverulenta, de color amarillo cuando son inmaduras y blanquecinas cuando maduran (Salazar-Yepes, 2021).

El manejo de la enfermedad se basa en el uso de productos químicos, los cuales pueden perder su efectividad debido al desarrollo de resistencia (Carmona y Sautua, 2017). Una alternativa sostenible es el uso de ciertos hongos y bacterias que actúan como agentes de control biológico; por ejemplo, especies del género *Trichoderma* presentan diferentes mecanismos de acción que le permiten manejar a las poblaciones de fitopatógenos, entre estos se encuentran: competencia, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de enzimas del patógeno, inducción resistencia y estimulación de crecimiento vegetal (Infante *et al.*, 2009). Otra alternativa es el uso de bacterias promotoras de crecimiento vegetal, tales como el género *Bacillus*, las cuales tienen la capacidad de producir antibióticos, enzimas, solubilizar de fosfatos, fijar nitrógeno atmosférico, etc. (Villarreal *et al.*, 2018; Tejera *et al.*, 2011). Cabe señalar que a la fecha no se tienen reportes sobre la efectividad de agentes de control biológico frente a la roya del solidago, por lo que en la presente investigación se planteó por objetivo determinar la incidencia y severidad de la roya del solidago, así como la respuesta en el de crecimiento vegetal por efecto de *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis*.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Clasificación taxonómica de *Solidago*

El género *Solidago* comprende alrededor de 100 especies originarias del hemisferio norte, la mayoría de Norteamérica y algunas de Asia. Hassler *et al.* (2019), ubican al género dentro de la siguiente clasificación taxonómica:

Reino Plantae

Filo Tracheophyta

Clase Magnoliopsida

Orden Asterales

Familia Asteraceae

Género *Solidago canadensis* L.

2.2 Características morfológicas del solidago

Es una especie vegetal en condiciones naturales florece al final del verano; es una planta plurianual que ha tenido rápida difusión entre los productores y buena aceptación a nivel comercial al ser utilizada como flor de complemento o relleno (Rzedowsk y Rzedowsk, 2010; Romero y García, 2001)

Rzedowski y Rzedowsk (2010), describen a las especies de este género como plantas herbáceas perennes, rizomatosas, rara vez subarborescentes; con hojas alternas, dentadas; cabezuelas frecuentemente dispuestas en panículas piramidales, formadas por ramas escorpioides. Flores liguladas, fértiles, rara vez ausentes, casi siempre amarillas; las flores del disco son hermafroditas, sus corolas casi siempre amarillas, con la garganta tubulosa o angostamente campanulada; anteras con las bases obtusas; forma de las ramas del estilo de las flores hermafroditas oblongas, aplanadas, provistas de apéndices lanceolados. Sus frutos son aquenios cilíndricos o prismáticos, vilano de numerosas cerdas capilares.

2.3 Importancia del cultivo de solidago en México

A nivel nacional la especie más cultivada es *S. canadensis* (SIAP, 2024), su producción se centra únicamente en las entidades de Guerrero y Estado de México; siendo este último el principal productor. Durante el año 2022 el Estado de México participó con el 98.14 % del total de superficie cultivada (ha), mientras que la participación de Guerrero fue del 1.85 %. Por otra parte, en el Estado de México el valor de la producción en dicho año fue de MXN \$ 46,006,980 lo que representa al 65 % de los ingresos generados a nivel nacional por dicha especie (Cuadro 1) (SIACON, 2024). Estos datos son un indicador de la importancia del cultivo para el Estado de México, lo cual se refleja en la generación de empleos directos e indirectos, además de la derrama económica que contribuye a la consolidación de la entidad como una potencia del sector florícola (Orozco y Mendoza, 2002).

Cuadro 1. Superficie cultivada (ha), cantidad de producción (t) y valor de la producción (MXN \$) de solidago como flor de corte en México en el año 2022.

| Estado | Superficie cultivada (ha) | Producción (t) | Valor de la producción (MXN \$) |
|-------------------------|---------------------------|----------------|---------------------------------|
| Guerrero | 0.95 | 4,550.36 | 24,399,670 |
| Estado de México | 50.10 | 1,949,072.05 | 46,006,980 |
| Total | 51.05 | 1,953,622.41 | 70,406,650 |

Fuente: SIACON (2024).

2.4 Importancia del cultivo de solidago en el Estado México

Durante el periodo 2018-2022 la producción de solidago en el Estado de México ha tenido variaciones en cuanto a la superficie cultivada de hasta 15 ha; siendo 2022 el año cuando se alcanzó la mayor superficie cultivada con 50.1 ha, mientras que el segundo lugar lo ocupan los años 2018 y 2021, con 68.7 ha. En 2018 se alcanzó el punto máximo de producción con 3,158,179.01 t, lo que representó ingresos de MXN \$ 45,517,370; esta cantidad se encontró por debajo de la reportada en 2022,

cuando los ingresos generados fueron de MXN \$ 46, 006, 098 (Cuadro 2) (SIACON, 2024). Respecto a estos indicadores, es importante analizar cuáles son los factores que más intervienen en las variaciones de rentabilidad y productividad, como puede ser la economía global, el clima, así como las plagas y enfermedades que se presentaron en estos años, entre otros; para que a partir de estos se identifiquen las principales problemáticas, y así centrar los esfuerzos para mejorar año con año la productividad (Ramírez y Avitia, 2015).

Cuadro 2. Valor de la superficie cultivada (ha), producción (t) y valor de la producción (MXN \$) de solidago como flor de corte en el Estado de México durante el periodo 2018-2022.

| Año | Superficie cultivada (ha) | Producción (t) | Valor de la producción (MXN \$) |
|--------------|----------------------------------|-----------------------|--|
| 2018 | 68.7 | 3,158,179.01 | 45,517,370 |
| 2019 | 55.85 | 2,264,602.49 | 24,426,570 |
| 2020 | 68.47 | 2,985,494.56 | 36,382,820 |
| 2021 | 68.7 | 3,024,041.51 | 37,304,560 |
| 2022 | 50.10 | 1,949,072.05 | 46,006,098 |
| Total | 311.82 | 13,381,389.62 | 189,63,8290 |

Fuente: SIACON (2024).

2.5 Enfermedades fúngicas en solidago

Romero y García (2001), reportan a las siguientes enfermedades fúngicas en el cultivo de solidago: cenicilla (*Oidium* sp.), marchitez (*Verticillium* sp.), pudrición (*Sclerotinia* sp.) y roya (*Coleosporium* spp.). La cenicilla se presenta como manchas blancas en las hojas maduras; la marchitez se manifiesta como secado rápido de los tallos y con manchas oscuras en los haces vasculares. La pudrición se manifiesta en raíz y tallo cuando la humedad es elevada. Finalmente, la parte aérea

de la planta es susceptible a la roya, la cual se presenta en el follaje (McTaggart y Aime, 2018).

2.6 Cenicilla de solidago (*Oidium* sp.)

Las cenicillas en general son ampliamente difundidas en cultivos ornamentales, donde las pérdidas ocasionadas en el crecimiento y la producción quizá superan a las pérdidas que ocasiona cualquier otra enfermedad de las plantas. Esta enfermedad rara vez mata a sus hospedantes; sin embargo, el fitopatógeno provoca daños en las plantas debido a que utiliza sus nutrientes, disminuye la fotosíntesis, aumenta la respiración y transpiración, disminuye el crecimiento y reduce la productividad entre 20 a 40 % (Agrios, 2016).

2.6.1 Clasificación taxonómica

Kirk *et al.* (2019), ubican al género *Oidium* dentro de la siguiente clasificación taxonómica:

Reino Fungi

Filo Ascomycota

Clase Leotiomycetes

Orden Erysiphales

Familia Erysiphaceae

Género *Oidium*

2.6.2 Signos y síntomas de la enfermedad

La enfermedad causada por *Oidium* sp., se presenta en la superficie de las hojas más viejas como manchas blancas, ante el cual suelen ser efectivos los tratamientos con productos químicos (Romero y García, 2001). Por su parte Páez (2001; citado por Collaguazo, 2019) menciona que incluso puede presentarse en yemas o tallos donde puede ser evidente el micelio blanco; además, se puede presentar enanismo, enrollamiento, pérdida de hojas y envejecimiento prematuro.

2.6.3 Condiciones óptimas de desarrollo

Las cenicillas comúnmente infectan a su hospedante en regiones húmedas, moderadamente frías o cálidas; sin embargo, son mucho más comunes y virulentas en climas cálidos y secos. Esto se debe a que cuando sus esporas son liberadas germinan y producen infección, incluso cuando la humedad relativa no es alta, lo cual hace innecesaria la presencia de agua sobre la superficie de la planta. Asimismo, una vez que se ha producido la infección, el micelio del hongo continúa propagándose sobre la superficie de la planta sin importar las condiciones de humedad en la atmósfera (Agrios, 2016). Bernal (2007), reporta que en el cultivo de pimiento la enfermedad puede presentarse desde los 10 °C hasta 35 °C en climas secos o húmedos; además, las condiciones óptimas para la germinación de los conidios son entre 90-95 % de humedad relativa durante la noche y por encima de 85 % durante el día. Por otra parte, el autor contrasta esto con los requerimientos del hongo en el cultivo de fresa, en el cual el desarrollo del oídio es favorecido por humedad relativa de moderada a alta y temperatura entre 16 °C y 27 °C.

2.7 Marchitez en solidago (*Verticillium* spp.)

Verticillium spp. se encuentra ampliamente distribuido por todo el mundo, pero tiene mayor importancia en zonas templadas. Entre las especies del patógeno destacan *V. alboatrum* Reinke & Berthold y *V. dahliae* Kleb., que atacan a más de 200 especies de plantas, en las que ocasionan marchitez vascular en especies de importancia florícola, hortalizas, plantas de ornato perennes, árboles frutales y forestales, arvenses anuales y perennes, entre otras (Agrios, 2016).

2.7.1 Clasificación taxonómica

De acuerdo con Kirk *et al.* (2019), el género *Verticillium* se ubica en la siguiente clasificación taxonómica:

Reino Fungi

Filo Ascomycota

Clase Sordariomycetes

Orden Glomerellales

Familia Plectosphaerellaceae

Género *Verticillium*

2.7.2 Signos y síntomas de la enfermedad

En solidago *Verticillium* spp. provoca secado rápido de tallos con manchas oscuras en los haces vasculares (Romero y García, 2001). Produce marchitez en las hojas, produciendo una decoloración amarilla a lo largo de las nervaduras, las hojas muestran lesiones rojizas que finalmente se tornan blanco conforme la progresión de la enfermedad. En los cultivos es común encontrar plantas sanas vecinas; además, no presenta ningún síntoma perceptible en tallos o raíces, pero los haces vasculares se vuelven marrones (Rinzo, 1994).

2.7.3 Condiciones óptimas de desarrollo

Verticillium alboatrum se desarrolla mejor a temperatura entre 20 y 25 °C; mientras que *V. dahliae* prefiere temperaturas superiores que van de 25 a 28 °C y es más común en regiones cálidas. Además, existe variabilidad en cuanto a virulencia y otras características de las cepas dentro de cada especie. Es importante considerar que *V. dahliae* inverna en el suelo en forma de esclerocios que pueden sobrevivir hasta por cincuenta años (Agrios, 2016).

2.8 Pudrición en solidago (*Sclerotinia* spp.)

Sclerotinia spp. es reconocido como un importante patógeno de plantas debido a su distribución mundial, su amplio rango de huéspedes y por las dificultades para su manejo. Aunque este hongo se encuentra con mayor frecuencia en regiones que tienden a ser frías y húmedas, también infecta en algunas zonas semiáridas donde las condiciones parecen desfavorables para el desarrollo de la enfermedad;

además, las pérdidas de rendimiento en cultivos susceptibles varían y pueden llegar al 100 % (Saharan y Mehta, 2008).

2.8.1 Clasificación taxonómica

Kirk *et al.* (2019), ubican al género *Sclerotinia* dentro de la siguiente clasificación taxonómica:

Reino Fungi

Filo Ascomycota

Clase Leotiomycetes

Orden Helotiales

Familia Sclerotiniaceae

Género *Sclerotinia*

2.8.2 Signos y síntomas de la enfermedad

El signo más característico provocado por *Sclerotinia* spp. es la aparición de micelio algodonoso y blanco en el que poco después se desarrollan grandes estructuras compactas de resistencia llamadas esclerocios, los cuales al principio son blancos, pero conforme maduran se ennegrecen y endurecen superficialmente (Arias *et al.*, 2007).

Arias y Jerez (2008) mencionan que en las plantas de solidago se observan sobre la base del tallo o cuello de la raíz lesiones secas de color café, acompañadas generalmente de micelio algodonoso blanco con formación de esclerocios de forma redondeada, inicialmente blancos y posteriormente cafés.

2.8.3 Condiciones óptimas de desarrollo

Las temperaturas óptimas para el desarrollo de la enfermedad varían entre 12 y 18 °C. Además, la humedad relativa que favorece el inicio de la infección es de 90 % o mayor y coincide con lluvias o neblina abundantes (Busilacchi *et al.*, 2019).

2.9 *Coleosporium* spp.

Las especies pertenecientes al género *Coleosporium* son royas que típicamente alternan entre pinos y angiospermas. McTaggart y Aime (2018) reportan que en América del Norte el solidago es afectado por las especies *C. delicatulum* Arthur & F. Kern, *C. solidaginis* Schwein, *C. montanum* comb. nov. Arthur & F. Kern, esta última se proponen para el taxón que comúnmente se ha identificado como *C. asterum* Dietel; no obstante, Kirk *et al.* (2019) indican que *C. delicatulum*, *C. solidaginis* y *C. montanum* son sinónimos de *C. asterum*.

Coleosporium asterum es una especie de distribución global, pero se encuentra especialmente en China y Japón; en América está reportada en la región norte que incluye a México. Cabe señalar que esta especie también es fitopatógena de otros géneros de la familia Asteraceae especialmente los géneros *Aster* y *Callistephus* (Pardo, 2006).

2.9.1 Clasificación taxonómica de *C. asterum*

Kirk *et al.* (2019), ubican a *C. asterum* dentro de la siguiente clasificación taxonómica:

Reino Fungi

Filo Basidiomycota

Clase Pucciniomycetes

Orden Pucciniales

Familia Coleosporiaceae

Género *Coleosporium*

Especie *Coleosporium asterum*
(Dietel) Syd. & P. Syd.

2.9.2 Características morfológicas

Coleosporium asterum se caracteriza por presentar un uredinio (Figura 1C) hipófilo, solitario o agrupado, de origen subepidermal, ruptura de la epidermis conspicua, pulverulento, de color amarillo cuando inmaduros y blanquecino en estado maduro; paráfisis ausentes; uredosporas catenuladas, oblongas, elipsoides u oblongo-elipsoides (Figura 1A) de 22-30 x 12-25 μm ; pared de 2.5 μm , hialina, verrugoso-reticulada, poros germinativos oscuros (Salazar-Yepes, 2021; Black *et al.*, 2014).

Además, según Salazar y Buriticá (2012) presenta telio hipófilo, dispersos, anaranjado-rojizo cuando están frescos; teliosporas cilíndricas (Figura 1B) de 55-80 x 15-23 μm , redondas u obtusas en el ápice y en la base, de pared lisa, engrosada en el ápice y en la base. Por su parte, Heather (2020) menciona que en el hospedante alternativo de *C. solidaginis* se desarrollan ampollas subepidérmicas que producen espermagonio y aecia las cuales son de color naranja brillante y las cuales pueden infectar al solidago.

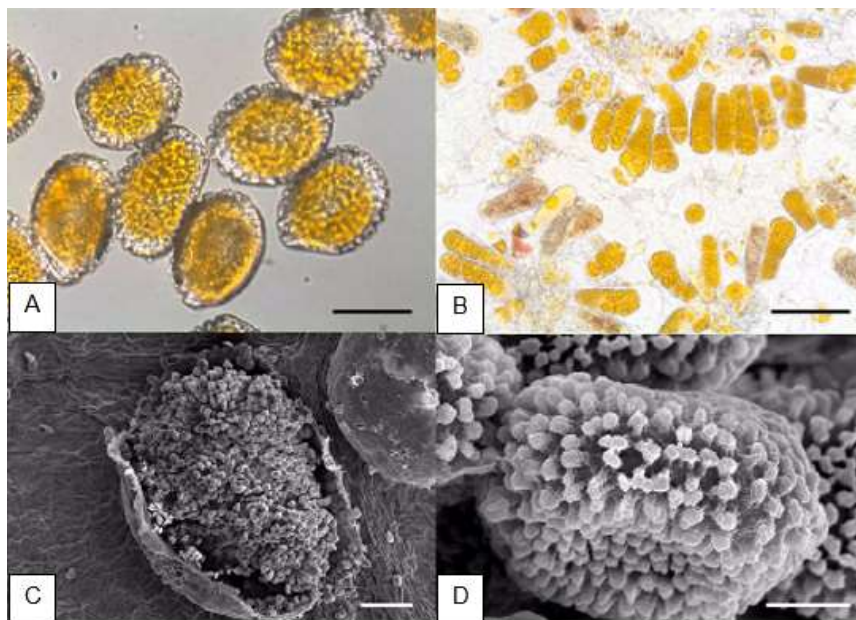


Figura 1. Características morfológicas de *C. asterum*. A) Urediniosporas de forma globosa, B) teliosporas cilíndricas de color amarillo-anaranjado observadas al microscopio óptico, C) micrografía electrónica de barrido de uredinios y D) urediniosporas de (barras de escala: A = 20 μm , B, C = 100 μm , D = 5 μm) (Fuente: Back *et al.*, 2014).

2.9.3 Ciclo de vida de *C. asterum*

Coleosporium asterum es una roya heteroica (hospedador alternante), macrocíclica (fase de cinco esporas) (Figura 2) cuyos huéspedes espermatoniales y aeciales (alternativos) son especies del género *Pinus* (Price *et al.*, 2004).

En el cultivo de solidago las pústulas producen cantidades masivas de urediniosporas pulverulentas de color amarillo brillante o amarillo anaranjado (etapa II) principalmente en el envés de las hojas. En algunos entornos, las telias producen teliosporas (etapa III) generalmente al final de la temporada sobre las hojas que albergan gran cantidad de uredinios. Al madurar, las lesiones aumentan de tamaño y coalescen; las áreas amarillas se convierten en manchas hundidas, angulares de color grisáceo a marrón. Las hojas con alto grado de severidad se cubren casi por completo de pústulas, se secan y caen (Heather, 2020).

Los basidios son frágiles y efímeros con basidiosporas (etapa IV). Se producen a partir de teliosporas en solidago y las basidiosporas pueden infectar a *Pinus* spp., donde germinan; de esta forma, la roya crece y pasa el invierno solo dentro de las agujas; posteriormente en la primavera siguiente, aparecen manchas amarillas en las agujas. Se desarrollan ampollas subepidérmicas sobre las agujas de los pinos, produciendo espermagonios (etapa 0) y aecias (etapa I). Las aecias son de color naranja brillante, y las infecciones graves pueden causar marchitez de la aguja (Heather, 2020).

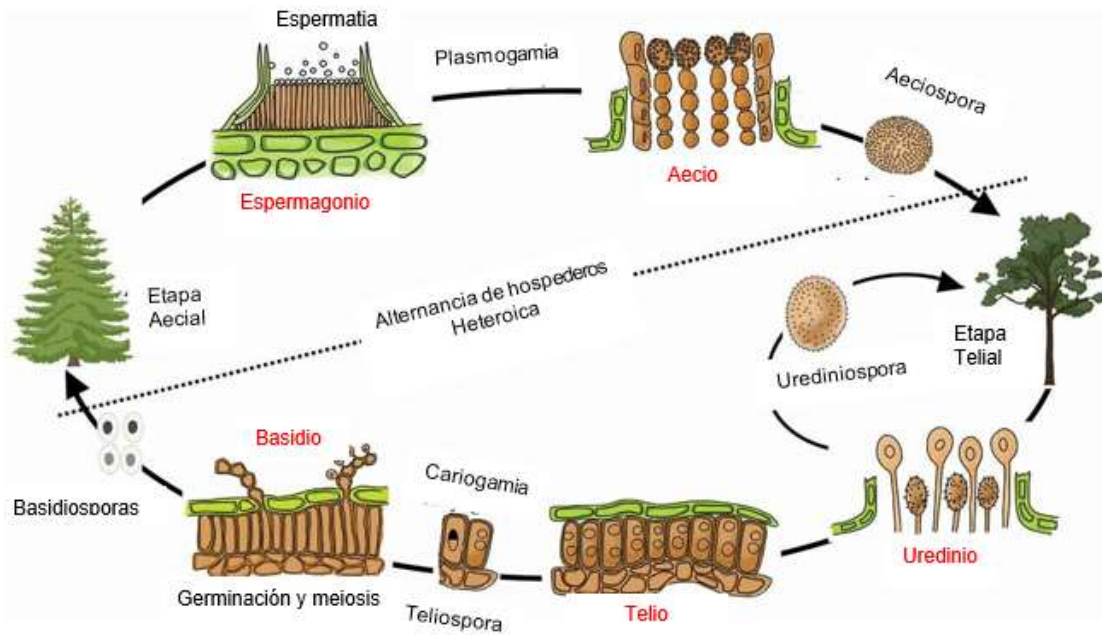


Figura 2. Ciclo biológico de la roya *C. asterum*. Características morfológicas de las estructuras en cada etapa. Las estructuras productoras de esporas, es decir, basidios, espermogonio, aecio, uredinios y telias, se indican en color rojo, mientras que las esporas como son las basidiosporas, espermatias, aeciosporas, urediniosporas y teliosporas, se indican en color negro (Fuente: Zhao et al., 2022).

2.9.4 Signos y síntomas

En el cultivo de solidago, la infección por roya se caracteriza por la aparición de pequeñas manchas amarillentas en la parte superior de las hojas, que posteriormente coalescen y se convierten en áreas marrones y necróticas. Las pústulas producen cantidades masivas de urediniosporas pulverulentas de color amarillo brillante o amarillo-anaranjado, principalmente en el envés de las hojas. En algunos entornos, las telias producen teliosporas, generalmente en hojas que albergan gran cantidad de uredinios. A medida que las lesiones envejecen, se agrandan y coalescen, y las áreas amarillas se convierten en manchas hundidas de color grisáceo a marrón. Las hojas pueden enfermarse gravemente y cubrirse casi por completo con pústulas, además pueden secarse, enrollarse, deformarse y caer.

Con ciclos repetitivos de infección, la defoliación en una planta puede ser de hasta el 100 % (Heather, 2020).

2.9.5 Condiciones óptimas de desarrollo

Durante las cinco fases de esporas del ciclo de vida de *Coleosporium* spp. el intervalo de temperatura adecuado para su desarrollo es variable. Ferguson (2018) reporta que la temperatura óptima para la germinación de aeciosporas y urediosporas de *C. solidaginis* es de aproximadamente 20 °C, siendo la máxima entre 30 °C y 35 °C, y la mínima por debajo de 6 °C. Bajo condiciones de temperatura óptima, el tiempo mínimo requerido para la formación de tubos germinativos es de 16 horas, fuera de esta su formación se ve afectada.

2.10 Métodos de manejo

2.10.1. Manejo químico

El manejo de la roya del solidago se basa en el uso de productos químicos sintéticos, los cuales pueden perder su efectividad como consecuencia del desarrollo de resistencia, debido a que el número de productos químicos es reducido y algunos cuentan con un mismo modo de acción (Carmona y Sautua, 2017). Entre los ingredientes activos utilizados para el manejo se encuentran: azoxystrobin, trifloxystrobin, tebuconazole, difenoconazol y azufre; sus mecanismos de acción son los siguientes (Díaz *et al.*, 2018; Garcés-Fiallos *et al.*, 2011):

- Azoxystrobin: actúa como inhibidor de la respiración mitocondrial mediante la unión del sitio Qo del citocromo b, interrumpiendo el ciclo de energía dentro del hongo. Interfiere en el ciclo de vida, principalmente durante la germinación de las esporas y la penetración del tejido.
- Trifloxystrobin: su acción bioquímica consiste en impedir la respiración en las mitocondrias bloqueando la transferencia electrónica en el complejo III.

- Tebuconazole: influye sobre el proceso de la biosíntesis del ergosterol en los hongos patógenos impidiendo la formación de las paredes celulares.
- Difenconazol: es un inhibidor de la desmetilación del esterol, Inhibe la biosíntesis del ergosterol de las membranas celulares, deteniendo el desarrollo de los patógenos.
- Azufre: fungicida de contacto, protector y erradicante que inhibe la respiración; además presenta acción acaricida secundaria.

2.10.2 Manejo biológico

No se tienen reportes sobre el uso de agentes de control biológico para el manejo de *C. asterum*; sin embargo, durante los últimos años, el control biológico de fitopatógenos es una de las líneas de investigación y desarrollo de mayor expansión en México. En términos generales, se han evaluado diferentes microorganismos dentro de los cuales destacan los hongos; de los artículos publicados, alrededor del 63 % corresponden a este grupo y el 31 % a bacterias; otros agentes de control biológico como levaduras y actinomicetos han sido menos estudiados (Bettiol *et al.*, 2014).

De manera general, los esfuerzos en investigación y comercialización se han centrado en dos géneros de microorganismos, estos son hongos del género *Trichoderma* spp. y bacterias del género *Bacillus* spp. De acuerdo con Bettiol *et al.* (2014), del primero, se han evaluado alrededor de 11 especies entre las cuales destaca *T. harzianum* Rifai con el mayor número de reportes; con relación a *Bacillus* spp. se han estudiado seis especies, siendo *B. subtilis* Ehrenberg la más conocida. El autor también hace referencia a otros géneros de hongos y bacterias utilizados en menor frecuencia, entre los que se encuentran *Aspergillus*, *Penicillium*, *Pochonia*, *Gliocladium*, *Conyothirium*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* y *Serratia*.

En lo que respecta al manejo biológico de royas, a nivel mundial la roya del café causada por *Hemileia vastatrix* Berk. & Broome es considerada la enfermedad más

destruccion y de mayor importancia economica en dicho cultivo, por lo cual se han realizado diversas investigaciones para determinar la efectividad de agentes de control biologico. En este sentido, Ramirez *et al.* (2021) evaluaron la efectividad de biofungicidas elaborados a base de *B. subtilis*, *Trichoderma* spp., *Streptomyces* spp., *Bovista plumbea* Pers. a partir de lo cual reportan disminucion de la incidencia con la combinacion de los tratamientos Bacit-Sur (*B. subtilis*)+Nat-Rx (*B. plumbea*), Baci-Sur subtilis (*B. subtilis*)+Blite FreeF-07/Guanobras (*Streptomyces* spp.) y Michoderma (*T. harzianum*)+Blite Free F-07/Guanobras con una media de disminucion de 17 % respecto al testigo.

Por su parte Gomez *et al.* (2018), obtuvieron 23 aislamientos de microorganismos asociados a pustulas *H. vastatrix*, entre los que se encontraron siete aislamientos de *Lecanicillium* spp., cuatro de *Calcarisporium* sp., cuatro de *Sporothrix* sp. y ocho de *Simplicillium* spp., como resultados reportaron que todos causaron micoparasitismo en las uredosporas; obteniendo los mayores porcentajes de micoparasitismo con *Simplicillium* sp. (89 %) y *Lecanicillium* sp. (68 %).

En el caso de royas en ornamentales *Puccinia horiana* Henn., es el agente causal de la roya del crisantemo, para la cual se han realizado evaluaciones de agentes de control biologico como *Cladosporium* sp. y *Trichoderma* spp., lo cual ha dado como resultado la disminucion de la severidad de hasta 84 % con *Cladosporium* sp. (Garcia-Velasco *et al.*, 2005), ademas una disminucion de 80 y 75 % con *T. barbatum* Samuels, cepa SS2 y *T. asperellum* Samuels, Lieckf y Nirenberg, cepa CUT-B, respectivamente, al realizar tres aplicaciones quincenales de 10^7 conidios por planta (Martinez, 2020).

2.11 Generalidades de *Trichoderma* spp.

Las especies pertenecientes al genero *Trichoderma* estan presentes en todo el mundo distribuidas en diferentes zonas y habitats. Pueden ser aisladas de distintos sitios, desde suelos ricos en materia organica hasta materiales en descomposicion como madera o plantas. El potencial de *Trichoderma* spp. como agente de control biologico fue reconocido en la decada de 1930; a partir de ese momento se han

realizado innumerables estudios centrados en el control de fitopatógenos, lo que ha conducido a la producción comercial de varias cepas, que en la actualidad son usadas como agentes de control biológico en todo el mundo, gracias a sus distintos mecanismos de acción (Gupta *et al.*, 2014; Bettiol *et al.*, 2014; Howell, 2003).

2.11.1 Clasificación taxonómica de *Trichoderma* spp.

De acuerdo con Kirk *et al.* (2019), el género *Trichoderma* se ubica en la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Trichoderma*

2.11.2 Características morfológicas

En su estado vegetativo, el género *Trichoderma* presenta micelio septado y ramificado, las células son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucano. Presenta fiálides hialinas en forma de matraz, aunque en algunas especies pueden ser redondas y en otras ovaladas; en la mayoría de las especies las fiálides terminales tienden a ser alargadas, en cuyo extremo se forman los conidios que pueden ser de 3 a 5 μm de diámetro, el color puede ser de tonalidades verdes y menos frecuente marrones y grises. También desarrollan clamidosporas que tienden a ser globosas y pueden estar intercaladas o encontrarse al final de la hifa (Kubicek y Harman, 2002; Companioni *et al.*, 2019).

2.11.3 Condiciones óptimas de desarrollo

Entre los factores abióticos más relevantes para el género *Trichoderma* se encuentran la temperatura, humedad relativa y pH, los cuales dependen tanto de la especie como de la cepa. En algunas cepas la temperatura óptima para el

crecimiento es de 20 °C, aunque de manera general esta varía entre 25 y 30 °C (Martínez *et al.*, 2013). La temperatura óptima para su crecimiento en medio de cultivo es entre 20-28 °C, aunque crece bien entre 6-32 °C; además, se ha reportado que algunos aislamientos pueden tolerar intervalos de 4 hasta 41°C (Martínez *et al.*, 2013; Romero *et al.*, 2009).

El desarrollo de *Trichoderma* spp. se activa con la presencia de humedad. En suelos la humedad óptima es de 60 %; en porcentajes mayores de saturación, la colonización y sobrevivencia disminuyen por la baja disponibilidad de oxígeno (Martínez *et al.*, 2013). Ante condiciones *in vitro* Romero *et al.* (2009), mencionan que el contenido mínimo de humedad para su crecimiento es del 92 % y para su esporulación entre 93-95 %.

Martínez *et al.* (2013) reportan que las especies de *Trichoderma* spp. no son exigentes con relación al pH del sustrato, estas pueden crecer en suelos con pH desde 5.5 a 8.5, aunque los valores óptimos se encuentran entre 5.5-6.5, es decir en un ambiente ligeramente ácido. Otro aspecto importante en el desarrollo de *Trichoderma* spp. es la luz y su espectro, sobre todo en la esporulación y producción de metabolitos secundarios.

2.11.4 Mecanismos de acción

Las especies del género *Trichoderma* presentan diferentes mecanismos de acción que les permiten el control de fitopatógenos. Entre estos se encuentran: competencia por el sustrato, micoparasitismo, antibiosis, desactivación de enzimas del patógeno, inducción de resistencia sistémica en las plantas, estimulación de crecimiento vegetal, entre otros. Es importante mencionar que entre más mecanismos de acción manifieste una cepa de *Trichoderma* spp., más eficiente y duradero será el control sobre el patógeno (Infante *et al.*, 2009).

2.11.4.1 Competencia

La competencia por nutrientes se define como la demanda simultánea de los mismos recursos por dos o más poblaciones microbianas. Este modo de acción es común en bacterias y hongos, debido a la relación superficie/volumen que estos tienen. Estas características les permiten asimilar los nutrientes disponibles y diluir las soluciones nutritivas con más rapidez y en mayor cantidad en comparación con agentes patógenos (Guerrero *et al.*, 2011).

Este antagonismo se ve favorecido por las características del agente control biológico, tales como su plasticidad ecológica, la velocidad de crecimiento y desarrollo; así como por factores externos como el tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros. La competencia por nutrientes puede ser por nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros) y microelementos. *Trichoderma* spp. se considera un excelente competidor por espacio y recursos nutricionales por su alta tasa de crecimiento, abundante esporulación y la amplia gama de sustratos sobre los que puede crecer. La riqueza de enzimas que posee contribuye a que sea muy eficiente como saprófito y aún más como agente de control biológico (Infante *et al.*, 2009).

En el caso de patógenos que causan daños al cultivo del solidago, como por ejemplo *Sclerotinia* spp. se ha demostrado la efectividad antagónica por competencia de *Trichoderma* sp. en solitario o en consorcio con otros microorganismos como *Aspergillus* sp. y *B. subtilis*, los cuales disminuyen el crecimiento micelial e inhiben la formación de esclerocios (Zubieta *et al.*, 2021; Pérez *et al.*, 2015).

Otras cepas que han demostrado su efectividad biológica por competencia frente otros microorganismos patógenos, son las reportadas por López (2023), que al realizar pruebas de competencia con la cepa Cut-B de *T. asperellum* obtuvo una efectividad del 88.6 % frente a *Rosellinia necatrix* Berl. ex Prill., 65.85 % de efectividad frente a *V. dahliae* y 55.43 % frente a *Botrytis cinerea* Pers. Por su parte Alonso (2020), en experimentos de competencia frente a los mismos patógenos,

reportó que cuatro cepas inhibieron el crecimiento micelial de los fitopatógenos anteriores en un intervalo entre 89 y 43.3 %, entre las que se encuentra la cepa SS2 de *T. barbatum*, así como las cepas SS1, TA4 y TFR3 que corresponden a *T. tomentosum* Bissett, *T. harzianum* y *T. asperellum*, respectivamente.

2.11.4.2 Micoparasitismo

El micoparasitismo es definido como una simbiosis antagónica entre organismos. Durante el proceso, *Trichoderma* spp. secreta enzimas que hidrolizan la pared celular de los hongos que parasita, siendo las más conocidas las proteasas, las quitinasas y las glucanasas; además provoca la retracción de la membrana plasmática y la desorganización del citoplasma e incluso inhibe la germinación de esporas y la elongación del tubo germinativo (Hernández *et al.*, 2019; Infante *et al.*, 2009).

Trichoderma spp. se considera un agente de control biológico eficaz debido a su capacidad antagónica frente a una amplia gama de hongos fitopatógenos. El mecanismo empleado por este género para atacar a su presa es complejo, involucra eventos secuenciales y cooperativos, incluyendo un crecimiento quimiotrófico positivo hacia su huésped, el contacto directo con la presa fúngica y enrollamiento alrededor de las hifas huésped. Además, también se producen cambios morfológicos en las hifas de *Trichoderma* spp. al formar estructuras de penetración tipo apresorio y la producción de enzimas hidrolíticas que degradan la pared celular, permitiendo que las hifas del huésped sean penetradas, lo que termina en la muerte del huésped y consumo de biomasa por el micoparásito (Gupta *et al.*, 2014).

En un estudio realizado por López (2023), se reportó que la cepa Cut-B presentó micoparasitismo sobre *B. cinerea*, esto al observar que el antagonista se adhirió al micelio de *B. cinerea*; además, también registró la penetración a través de haustorios y enrollamiento del micelio.

2.11.4.3 Antibiosis

Los metabolitos secundarios se definen como pequeñas moléculas orgánicas producidas por un organismo que no son esenciales para su crecimiento, desarrollo y reproducción. Sin embargo, bajo condiciones específicas, juegan papeles importantes en los procesos de señalización, desarrollo y en el establecimiento de interacciones con otros organismos; en este sentido, se ha comprobado que *Trichoderma* spp. secreta una gran cantidad de compuestos volátiles y no volátiles con actividad antifúngica los cuales pueden actuar mediante contacto directo con los agentes patógenos o inhibir su crecimiento o reproducción sin establecer contacto físico (Companioni *et al.*, 2019; Gupta *et al.*, 2014; Martínez *et al.*, 2013).

Está comprobado que *Trichoderma* spp. produce una gran cantidad de compuestos no polares de bajo peso molecular catalogados como metabolitos secundarios entre los que se incluyen: pironas, terpenoides, esteroides y policétidos; también producen sideróforos y un gran número de peptaibióticos conocidos como peptaiboles (Gupta *et al.*, 2014).

Alonso (2020), reportó que la cepa SS2 de *T. barbatum*, mediante la producción de metabolitos volátiles inhibió 48.3 % del crecimiento micelial de *R. necatrix*, 46.8% de *V. dahliae* y 58.3% de *B. cinerea*, mientras que, por metabolitos difusibles inhibió 13.4% del crecimiento micelial de *R. necatrix*, 52.1 % del crecimiento de *V. dahliae*; en cuanto a *B. cinerea*, el efecto inhibitorio fue de 25.9%. Por otra parte, López (2023), reporta que en pruebas de metabolitos volátiles y difusibles la cepa Cut-B de *T. asperellum* presentó una efectividad de 34.4 % y 2.24 %, respectivamente, frente a *R. necatrix*, mientras que frente a *V. dahliae* la efectividad biológica por metabolitos volátiles fue de 31.6 % y 10.48 % por difusibles, y finalmente frente a *B. cinerea* la efectividad biológica por metabolitos volátiles fue de 55.19 %, mientras que por metabolitos difusibles fue de 28.27 %.

2.11.4.4 Inducción de resistencia sistémica

Los sistemas por los cuales las plantas detectan a microorganismo benéficos y patógenos involucran un conjunto de procesos altamente coordinados. A través de mecanismos celulares se determina o distingue la relación entre la planta y el microorganismo, la cual puede ser parasitismo, mutualismo, simbiosis, entre otros. Cuando las plantas son atacadas por un microorganismo activan una amplia gama de defensas bioquímicas y moleculares, entre las que destacan la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), la muerte celular programada durante la respuesta hipersensible (HR), la síntesis de metabolitos secundarios con actividad antimicrobiana (fitoalexinas), el engrosamiento de la pared celular por depósito de lignina y la activación de proteínas relacionadas con la patogénesis. La activación de la resistencia sistémica en las plantas no es exclusiva de los patógenos, también puede inducirse por otros microorganismos. En diferentes estudios se ha demostrado en varias plantas la resistencia sistémica inducida (ISR) desencadenada por rizobacterias y hongos benéficos como *Trichoderma* spp., lo cual se manifiesta en su eficacia contra diversos fitopatógenos (Gupta *et al.*, 2014).

Especies del género *Trichoderma* liberan compuestos relacionados con la inducción de resistencia sistémica en plantas, entre las que se encuentran proteínas con actividad enzimática o de otro tipo. En este sentido, se menciona que algunas de las proteínas secretadas al parecer pueden inducir solo respuestas locales y necrosis, mientras que otras activan mecanismos de defensa en plantas como los productos de los genes de avirulencia. De igual forma se mencionan otra clase de elicitores de defensa en las plantas, entre los que se incluye oligosacáridos y compuestos de bajo peso molecular liberados por la acción de enzimas de *Trichoderma* spp., este tipo de resistencia es mediada por las fitohormonas ácido jasmónico y etileno. También induce la expresión de genes relacionados con la patogénesis (PR) cuya respuesta está mediada por el ácido salicílico (SA). Esta respuesta se conoce como resistencia sistémica adquirida (SAR), que también es desencadenada por patógenos biotróficos y hemibiotróficos (Gupta *et al.*, 2014; Martínez *et al.*, 2013).

El uso de *Trichoderma* spp. como agente inductor de resistencia sistémica ha sido estudiada ampliamente ante una gran cantidad de enfermedades, en el caso específico de royas se ha demostrado su efectividad, ejemplo de esto es lo reportado por Cruz *et al.* (2018), que registraron que el tratamiento con *T. asperellum* en plantas de frijol redujo la incidencia y severidad de la roya *Uromyces appendiculatus* y al mismo tiempo observaron una disminución ante la enfermedad causada por *Fusarium solani*. Por su parte Enríquez (2020), reporta el incremento en la producción de ácido jasmónico (JA), por la inoculación de tres cepas distintas de *Trichoderma* spp. tanto en la inoculación de semillas, como en plántulas enfermas por la roya del café causada por *H. vastatrix*, por lo cual *Trichoderma* spp. se considera como una alternativa para generar plántulas tolerantes a la roya a bajo costo, esto debido al aumento en la concentración de JA (Laredo *et al.*, 2017).

En la búsqueda de alternativas para el control de enfermedades fungosas, se pretende demostrar la efectividad de agentes de control biológico nativos con el potencial de inducir resistencia sistémica, en este sentido Stocco, (2014) obtuvo 240 aislamientos de *Trichoderma* spp. nativos de la región triguera argentina, de los cuales 37 presentaron antagonismo frente a *Mycosphaerella graminicola* en trigo, mismos que mostraron la capacidad de reducir mínimo en un 50 % tanto la superficie necrosada como la cobertura picnidial generada por esta enfermedad. Por su parte, Martínez (2020) con el uso de cepas nativas, obtuvo como resultado una disminución del índice de severidad de la roya del crisantemo causada *P. horiana*, al realizar tres aplicaciones de manera independiente en tres momentos: 1) al momento del trasplante; 2) 15 días después del trasplante; y 3) 30 días después del trasplante a una concentración de 10^7 conidios por planta, obteniendo una disminución del 80 % con la especie *T. barbatum* cepa SS2 y 75 % con *T. asperellum* cepa Cut-B.

2.11.4.5 Estimulación de crecimiento vegetal

Recientemente se ha promovido mucho el uso de *Trichoderma* spp. como promotor de crecimiento en plantas, este mecanismo se relaciona con la amplia variedad de

metabolitos que produce; los cuales, además de inhibir el crecimiento y acción de los patógenos, también son capaces de mejorar el crecimiento de las plantas (Vinale *et al.*, 2012).

Además de la producción de metabolitos, Gupta *et al.* (2014), mencionan que otros de los mecanismos relacionados con la estimulación de crecimiento son la competencia en la rizosfera y actividad endofítica, solubilización de minerales y absorción mejorada de nutrientes, incremento en la producción de clorofila, atenuante del estrés abiótico y producción de hormonas vegetales. Martínez *et al.* (2013), mencionan que entre los minerales solubilizados por *Trichoderma* spp. está el magnesio, el cual puede ser solubilizado constantemente sin importar la disponibilidad ni las condiciones del medio como es el pH; este microelemento es importante para las funciones fisiológicas de las plantas, como fotosíntesis, metabolismo del nitrógeno, síntesis de los compuestos aromáticos y, además, para precursores de aminoácidos y hormonas, fenoles y lignina, los cuales forman parte fundamental en el crecimiento y la resistencia a enfermedades en las plantas. Otros de los mecanismos para estimular el crecimiento es la producción de sideróforos, que favorecen la asimilación de calcio, fierro, manganeso, zinc y cobre (Altomare, 1999).

El efecto estimulante de crecimiento por parte de *Trichoderma* spp. se ha probado en cultivos bajo invernadero de tomate, en los cuales se han evaluado distintas variables como altura, número de hojas, longitud de raíz, peso fresco y seco de planta y raíz, clorofila en las hojas, así como variables de rendimiento y calidad de frutos. En todas estas variables se han encontrado resultados positivos de estimulación aplicando de manera individual y en confrontación con hongos patógenos, tanto en cepas nativas, así como comerciales de *Trichoderma* spp. (Rodríguez y Vargas, 2022; Ruíz *et al.*, 2018).

Candellero *et al.* (2015), reportaron la efectividad de 13 cepas de *Trichoderma* spp. y una de *T. harzianum* en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq.; en las variables de altura reportan incremento del 125 %, en peso seco 88 %, en longitud de raíz 41

%, en volumen radical 550 % y en biomasa de raíz 166 %. Por su parte Brenes-Madriz *et al.* (2019), reportan que los efectos obtenidos con la aplicación de *T. asperellum* sobre la estimulación del crecimiento en plantas de chile dulce *C. annuum* var Nathalie tienen un impacto mayor en la etapa de almácigo promoviendo un incremento en la biomasa de la raíz y el área foliar. En el caso de ornamentales pertenecientes a la familia Asteraceae, se ha evaluado la estimulación de crecimiento por *Trichoderma* spp.; en el cultivo de crisantemo, Chávez (2006) reporta un incremento en el crecimiento de las plantas, así como en su peso mediante el uso de dos cepas, una de ellas nativa y otra de un laboratorio de investigación, además también se reportó efecto preventivo y protector frente a hongos fitopatógenos.

2.12 Generalidades de *Bacillus* spp.

Las especies del género *Bacillus* se encuentran ampliamente distribuidas en diversos hábitats que incluyen ecosistemas de agua dulce, marinos, en el suelo y muchas veces están asociadas con plantas. En este último caso, se ha demostrado su potencial como promotoras de crecimiento vegetal a través de la producción de antibióticos, enzimas, la solubilización de fosfatos y la fijación biológica del nitrógeno. Además, gran diversidad de especies tienen actividad antagónica contra microorganismos fitopatógenos de cultivos agrícolas, tales como maíz, arroz, frutales, entre otros (Villarreal *et al.*, 2018; Tejera *et al.*, 2011).

Su ciclo de vida se divide en dos fases: crecimiento vegetativo y esporulación. Durante el primer estado, la bacteria crece de forma exponencial mientras se encuentre en un medio donde las condiciones son favorables; cuando los nutrientes comienzan a escasear la bacteria produce endosporas, las cuales pueden volver a su forma vegetativa. Estas endosporas, permiten la sobrevivencia bajo condiciones extremas de temperatura, desecación, pH, entre otros (Villarreal *et al.*, 2018; Tejera *et al.*, 2011).

A través de diversos estudios se ha demostrado el efecto de *Bacillus* spp. frente a gran cantidad de fitopatógenos, siendo *B. subtilis* la especie más estudiada y que

ha presentado mejores resultados (Méndez *et al.*, 2017; Astorga-Quirós *et al.*, 2013).

2.12.1 Clasificación taxonómica de *Bacillus subtilis*

De acuerdo con Orrell (2019), *B. subtilis* se ubica en la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Bacteria

Filo: Firmicutes

Clase: Bacilli

Orden: Bacillales

Familia: Bacillaceae

Género: *Bacillus*

Especie: *B. subtilis* Ehrenberg

2.12.2 Condiciones óptimas de desarrollo

El género *Bacillus* se caracteriza por su crecimiento aerobio y anaerobio facultativo. Villarreal *et al.* (2018) mencionan que el pH óptimo es neutro y con un amplio intervalo de temperatura que va desde 30 a 45 °C. Entre los estudios realizados para determinar las condiciones óptimas de desarrollo de *B. subtilis* se encuentra el realizado por Kokab *et al.* (2003), en el que se encontró que la temperatura óptima para obtener una mayor producción de α -amilasa es de 35 °C y un pH óptimo de 7. Por su parte Jiménez *et al.* (2018) mencionan que para la cepa de *B. subtilis* BEB-8 las condiciones óptimas de desarrollo incluyen temperaturas de 15 a 37 °C y de pH de 5 a 8. Aunado a esto, se reporta que algunas especies pueden llegar a crecer a temperaturas que van desde los 4 °C hasta 56 °C; además, tienen la capacidad de crecer a pH de 4 (Ridgeway, 2013; Calvo y Zúñiga, 2010).

2.12.3 Características morfológicas y bioquímicas

Las especies del género *Bacillus* no son fáciles de distinguir debido a que están estrechamente relacionadas. Entre las características morfológicas de *B. subtilis* se

reporta que sus células miden menos de 1 μm de ancho y las esporas son elipsoidales. En general, la diferenciación entre especies se basa en características morfológicas y pruebas bioquímicas, entre las que se encuentra la tinción de Gram, producción de proteínas y de enzimas como amilasas, proteasas y sacarosas; además del análisis de respuestas que incluyen la inducción de motilidad y quimiotaxis, la producción de hidrolasas (proteasa y carbohidrasas) y antibióticos (Espinoza, 2014; Astorga-Quirós *et al.*, 2013; Fritze, 2004).

Respecto a las características de las colonias en medio de cultivo Astorga *et al.* (2013) las describen con borde aserrado, centro elevado en forma de anillo con consistencia cremosa y pegajosa. Por su parte Realpe *et al.* (2002) lo describen como colonias de 2 a 4 mm de diámetro, beta hemolíticas con hemólisis completa, con aspecto liso, mucoso o rugoso; bordes ondulados o extendidos en el medio y ocasionalmente con la apariencia de cultivos mixtos. En adición, Méndez *et al.* (2017), reportan la formación de endosporas en la parte central de las colonias.

2.12.4 Mecanismos de acción

Diversas especies del género *Bacillus* pertenecen al grupo de bacterias promotoras de crecimiento vegetal. En este sentido, Tejera *et al.* (2011) reportan que tal estimulación puede ocurrir de forma directa o indirecta. Entre los efectos directos se encuentran la capacidad de llevar a cabo la fijación biológica del nitrógeno atmosférico, la solubilización de minerales como el fósforo y la producción de hormonas reguladoras del crecimiento vegetal. Por su parte, la forma indirecta de promoción del crecimiento vegetal está relacionada con la producción de sustancias que actúan como antagonistas de patógenos o induciendo resistencia sistémica en las plantas. De manera particular, los mecanismos de acción de *B. subtilis* en plantas son: reguladores del crecimiento vegetal, solubilización de fosfato, fijación biológica del nitrógeno, producción de antibióticos, producción de enzimas líticas y producción de sideróforos.

2.12.4.1 Producción de reguladores de crecimiento

Las bacterias que se encuentran en la rizósfera pueden intervenir en el crecimiento vegetal mediante la producción de fitohormonas, como auxinas, giberelinas, citoquininas, ácido abscísico, etileno y jasmonatos; *B. subtilis* destaca por la producción de citoquininas y auxinas. La adición exógena de citoquininas por parte de este microorganismo aumenta el proceso de crecimiento, favoreciendo las funciones de las citoquininas como son la inducción de la actividad amilasa y proteasa y la síntesis de auxinas (Bonilla *et al.*, 2021; Anguiano *et al.*, 2019).

La hormona vegetal más estudiada producida por *B. subtilis* es el ácido 3-indolacético (IAA), que es una auxina reportada como inductora del crecimiento vegetal que facilita la formación de raíces, la división, diferenciación y elongación celular, además de la formación de órganos y dominio apical (Bonilla *et al.*, 2021; Anguiano *et al.*, 2019). Algunos de los cultivos en los que se ha reportado una producción de auxinas y por ende una inducción de crecimiento han sido tomate, plátano, frijol, entre otros. Además, se han reportado beneficios en cultivos ornamentales, tales como especies de los géneros *Chrysanthemum*, *Lilium* y *Tagetes* (Higuera *et al.*, 2019; Moreno *et al.*, 2018; Cuéllar, 2014; Arriaga *et al.*, 2012, Cárdenas *et al.*, 2005).

2.12.4.2 Solubilización de fosfato

El fósforo es fundamental en el crecimiento de las plantas al tener influencia en la captación, almacenamiento y transferencia de energía, además de formar parte de macromoléculas como ácidos nucleicos y fosfolípidos presentes en la membrana citoplasmática (Cuéllar, 2014; Tejera *et al.*, 2011). Sin embargo, su aprovechamiento es limitado, ya que a pesar de que los suelos contienen fósforo, la mayoría no está disponible para las plantas, las cuales solo pueden absorberlo en sus formas monobásica (H_2PO_4^-) y dibásica (HPO_4^{2-}) (Bonilla *et al.*, 2021).

Diversos géneros bacterianos han sido estudiados por su capacidad de solubilizar fósforo orgánico e inorgánico, entre los que se encuentran *Azospirillum* spp.,

Azotobacter spp., *Bacillus* spp., *Burkholderia* spp., *Pseudomonas* spp., *Rhizobium* spp., entre otros. En particular *B. subtilis* tiene la capacidad de solubilizar el fósforo por dos vías: en primer lugar, puede darse por acción de enzimas fosfatasas y fitasas generadas por la bacteria, las mismas que alcalinizan el suelo; y en segundo lugar, puede darse por la producción de ácidos orgánicos, los cuales tienen una acción directa en la acidificación del medio, la quelación, la precipitación y las reacciones de oxidación-reducción en la rizosfera (Chávez *et al.*, 2021; Bonilla *et al.*, 2021).

En diversos cultivos de importancia económica se han reportado los beneficios de *B. subtilis* como café y frijol, en los cuales se presentó un incremento de la disponibilidad de fósforo en el suelo (Santos *et al.*, 2020; Cisneros *et al.*, 2017). Además, se ha reportado que se puede lograr la reducción hasta del 50 % en la aplicación de fertilizantes con P, mediante el uso de esta especie y otros microorganismos sin afectar el rendimiento (Moreno *et al.*, 2018).

2.12.4.3 Fijación biológica de nitrógeno

La fijación biológica de nitrógeno es aquella en que algunas bacterias convierten el N_2 en moléculas de amonio (NH^+4), este proceso es catalizado por la enzima nitrogenasa; sin embargo, su mecanismo de acción no está bien definido. Entre las bacterias y cianobacterias que han sido reportadas por su efectividad como fijadoras de N_2 se encuentran: *Rhizobium*, *Allorhizobium*, *Azorhizobium*, *Bradyrhizobium*, *Mesorhizobium*, *Sinorhizobium*, *Azospirillum*, *Azotobacter*, *Enterobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Burkholderia* y *Bacillus* (Corrales *et al.*, 2017; Pérez, 2015).

A partir de la capacidad de fijar N_2 en algunos cultivos y en ambientes naturales, se ha estimado que el 60 % del nitrógeno aprovechado por las plantas proviene de la fijación biológica (Tejera *et al.*, 2011). En un estudio realizado por Pérez (2016) se encontraron 10 cepas con alto crecimiento en el medio NFb (por sus siglas en inglés Nitrogen free broth) el cual no tiene nitrógeno, lo que sugiere la fijación de nitrógeno por parte de las especies *B. pumilus* Meyer & Gottheil, *B. amyloliquefaciens* (ex

Fukumoto, 1943) y *B. subtilis*; esta última también ha sido reportada con una mayor efectividad en combinaciones dobles y triples con *Rhizobium* sp., y *B. megaterium* de Bary en el cultivo de garbanzo, donde contribuyen en la disminución de los costos de fertilizantes a base de fósforo y nitrógeno (Elcoka *et al.*, 2007).

2.12.4.4 Producción de antibióticos

La producción de compuestos antimicrobianos es común entre las bacterias y hongos, estos compuestos de bajo peso molecular, como son los antibióticos, desempeñan un papel fundamental en la supresión de enfermedades. Las especies de *Bacillus* spp. son conocidas por su capacidad de producir una gran variedad de antibióticos, entre estas especies se encuentra *B. cereus* Frankland & Frankland, con capacidad de producir zwitermicina A, un antibiótico que suprime el crecimiento de hongos fitopatógenos además tiene la capacidad de potenciar la acción insecticida de las toxinas proteicas producidas por *B. thuringiensis*.

Por su parte, *B. subtilis* produce distintos antibióticos como: fenazinas, 2,4-diacetilfloroglucinol, lipopéptidos cíclicos tales como iturinas, fengicinas y surfactina (Valenzuela *et al.*, 2020; Villarreal *et al.*, 2018; Tejera *et al.*, 2011). Respecto a la surfactina, Ragazzo *et al.* (2011), han comprobado la inhibición del hongo *Colletotrichum* sp. en el cultivo de mango en sinergia con iturina A, otro antibiótico producido por *B. subtilis* que tiene propiedades antibióticas y moderada actividad surfactante (Roongsawang *et al.*, 2002).

2.12.4.5 Producción de enzimas líticas

Actualmente existen diversos estudios científicos que reportan el papel de *B. subtilis* en la producción de estas enzimas en la actividad antifúngica, un claro ejemplo fueron las observaciones bajo microscopio realizadas por Ashwini y Srividya (2014), quienes encontraron lisis de las hifas y degradación de la pared celular de *C. gloeosporioides*, además de inhibir hasta un 100 % el crecimiento de este hongo en cultivos líquidos duales. Adicionalmente, comprobaron la producción de quitinasa,

glucanasa y celulasa, las cuales mostraron sus propiedades antifúngicas mediante la inactivación por calor (70-100 °C).

2.12.4.6 Producción de sideróforos

El hierro es esencial para el crecimiento de microorganismos. En la naturaleza se encuentra fundamentalmente en la forma Fe^{3+} formando parte de sales e hidróxidos poco solubles, los cuales imposibilitan su uso por algunos seres vivos. Para superar esta limitación, muchos microorganismos han desarrollado la capacidad de secretar compuestos quelantes de hierro, también llamados sideróforos que se unen al hierro para formar un complejo sideróforo-hierro. Estos compuestos actúan de manera específica para secuestrar hierro en presencia de otros metales y reducirlo a Fe^{2+} , que es una forma más soluble y aprovechable (Aguado *et al.*, 2012; Tejera *et al.*, 2011; Fgaier y Eberl, 2011).

Este mecanismo se da mediante el secuestro del hierro al formar un complejo Fe^{3+} -sideróforo, a través de un receptor específico localizado en la membrana bacteriana, lo cual ocasiona que este metal no se encuentre disponible para otros microorganismos que carezcan del sistema de asimilación específico para reconocer dicho complejo; por lo cual, al utilizar todo o la mayoría del hierro disponible en el suelo, se inhibe el crecimiento de otros microorganismos presentes en la rizosfera, ya sea patógenos o incluso benéficos (Aguado *et al.*, 2012). Entre los estudios realizados para comprobar la efectividad de *B. subtilis* como productor de sideróforos está el realizado por Anguiano *et al.* (2019) quienes identificaron tres cepas de *B. subtilis* que fueron capaces de producir sideróforos, lo cual se evidenció por los halos presentes en medio agar cromo azurol sulfanato (CAS).

2.12.4.7 Inducción de resistencia sistémica

Las plantas han evolucionado sus mecanismos de defensa contra patógenos, estos van desde el desarrollo de barreras físicas hasta reacciones bioquímicas, que mediante una alteración celular producen sustancias tóxicas que inhiben o eliminan la colonización por parte de las plantas. Existen dos tipos de resistencia, la

resistencia sistémica adquirida (SAR) y la resistencia sistémica inducida (ISR). La SAR puede ser inducida por agentes bióticos y abióticos asociados al incremento de la concentración de ácido salicílico y a la producción de proteínas relacionadas con patogénesis. La ISR es estimulada por rizobacterias promotoras del crecimiento y se asocia a la mayor sensibilidad a las fitohormonas etileno y JA sin producción de proteínas relacionadas con patogénesis (Villarreal *et al.*, 2018; Pieterse *et al.*, 2014; Maldonado *et al.*, 2008).

El género *Bacillus* produce gran diversidad de moléculas elicitoras que inducen respuesta sistémica en plantas, incluyendo a lipopéptidos, fitohormonas y compuestos volátiles, las cuales han sido probadas para el control de varias enfermedades en distintos cultivos (Villareal *et al.*, 2018). Un ejemplo de esto es el estudio realizado por Maldonado *et al.* (2008) quienes reportan que plantas de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) en las que se inoculó *B. subtilis* tanto en suelo como en el follaje, tuvieron una concentración viral de CMV (por sus siglas en inglés Cucumber Mosaic Virus) significativamente menor, comparadas con el testigo. También se ha reportado una disminución de la incidencia y severidad por efecto de *B. subtilis* frente a algunas royas como *H. vastatrix* en el cultivo de café y *P. sorghi* Schwerin en maíz (Díaz, 2018; Bttiol y Varzea, 1992).

2.12.4.8 Estimulación de crecimiento vegetal

La importancia de los microorganismos y su relación con el ambiente se ha enfocado en la necesidad de aprovechar la versatilidad benéfica de ciertos agentes biológicos a la agricultura, un claro ejemplo son las rizobacterias promotoras de crecimiento de plantas (por sus siglas en inglés PGPR) que, como su nombre lo indica, son capaces de estimular el crecimiento de plantas a través de los mecanismos directos e indirectos mencionados anteriormente (Anguiano *et al.*, 2020; Corrales *et al.*, 2017; Rojas *et al.*, 2013).

Entre los estudios donde se han evaluado las distintas formas de estimulación de crecimiento está el realizado por Delgado *et al.* (2022) quienes reportan incremento en número de hojas y altura en plantas de café por acción de *B. subtilis*; en este

estudio atribuyen parte de este incremento en el crecimiento a la acción solubilizadora de nitrógeno por parte de este microorganismo, debido a que el nitrógeno en la parcela disminuyó de 0.24 % a 0.21 % en el suelo, contrastando un aumento de 3.52 % a 3.78 % en el análisis foliar.

3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de solidago es de importancia en la región florícola del sur del Estado de México, donde las condiciones climáticas son favorables para su producción durante todo el año. En los últimos años, la productividad del cultivo se ha visto mermada por las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos, entre estos *Coleosporium asterum*, agente causal de la roya. La enfermedad se manifiesta como pústulas anaranjadas que afectan la estética de la planta y reduce significativamente la productividad. En la actualidad su manejo se basa en el uso de fungicidas químicos, los cuales en su mayoría tienen el mismo modo de acción, lo cual contribuye al desarrollo resistencia, además de todas las repercusiones negativas causadas al ambiente y a la salud de las personas que están en contacto con estas moléculas químicas.

Atendiendo los factores antes mencionados, se plantea estudiar diferentes agentes de control biológico, los cuales representan una alternativa eficiente e inocua, tal es el caso de *Trichoderma* spp. y *B. subtilis*, que han demostrado su efectividad en el manejo de diversas enfermedades.

4. HIPÓTESIS

Con base en los estudios que demuestran la efectividad de *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis* como inductores de resistencia y promotores de crecimiento vegetal, en la presente investigación estos microorganismos contribuirán a reducir la incidencia y severidad de la roya del solidago y además estimularán el crecimiento de plantas de solidago.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Determinar la incidencia y severidad de la roya del solidago, así como la respuesta en el crecimiento vegetal por efecto de *Trichoderma* spp. y *Bacillus subtilis*.

5.2 Objetivos específicos

Determinar la efectividad de *Trichoderma* spp. y *B. subtilis* en la reducción de la incidencia y severidad de la roya en solidago.

Determinar el efecto de *Trichoderma* spp. y *B. subtilis* en la estimulación de crecimiento de plantas de solidago.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

6.1 Ubicación de la investigación

El presente trabajo de investigación se llevó a cabo en el Laboratorio de Fitopatología del Centro Universitario UAEM Tenancingo, ubicado en la carretera Tenancingo-Villa Guerrero Km. 1.5, C. P. 52400, Tenancingo, Estado de México.

6.2. Efecto de *Trichoderma* spp. y *B. subtilis* en la incidencia y severidad de la roya y en el crecimiento vegetal

6.2.1. Material vegetal

Se utilizaron esquejes de solidago de 12 cm tomados de plantas en etapa de desarrollo vegetativo de un cultivo comercial de la localidad de San Juan Tetitlán, Tenancingo, Estado de México. Estos fueron enraizados colocando enraizador (Radix 1500®) en la base (alrededor de 1 a 2 cm) y se plantaron en charolas de plástico en un sustrato musgo de turba (Peat Moss) + perlita grado hortícola (agrolita), en relación 2:1, previamente esterilizado en una autoclave (Felisa®) a temperatura de 121 °C durante una hora, dos veces consecutivas.

Una vez que los esquejes enraizaron, fueron trasplantados a vasos de unicel de 8 onzas (236.5 mL) con un sustrato esterilizado de musgo de turba (Peat Moss) + perlita grado hortícola (agrolita) en relación 2:1.

6.2.2 Cepas nativas de *Trichoderma* spp.

Se utilizaron las cepas nativas Cut-B y SS2, cuyas especies corresponden a *T. asperellum* y *T. barbatum*, respectivamente. Cabe señalar que ambas fueron aisladas por Alonso-Bahena *et al.* (2018) y han sido objeto de estudio en diversas investigaciones en el Laboratorio de Fitopatología del Centro Universitario UAEM Tenancingo.

Las cepas se cultivaron en medio de cultivo papa, dextrosa y agar (PDA, marca Bioxon®), el cual fue preparado de acuerdo con la siguiente metodología: se utilizaron 39 g de medio de cultivo y se disolvió en 1 L de agua destilada; posteriormente se esterilizó en autoclave (Felisa®) durante 15 minutos a 121 °C, con presión de 20 psi. Una vez estéril, bajo condiciones de asepsia fue vaciado a cajas de Petri de cristal de 9 cm de diámetro, previamente esterilizadas (Kimax®).

Una vez solidificado el medio de cultivo, se realizó la siembra de *Trichoderma* spp.; para esto se utilizó una aguja de disección con la que se realizaron pequeños cortes circulares al medio de cultivo con crecimiento del hongo y fueron colocados en las cajas de Petri con el medio PDA. Al finalizar, las cajas se sellaron con plástico auto adherente y se incubaron bajo condiciones de laboratorio a temperatura de 20 ± 2 °C.

La preparación del inóculo de las cepas nativas se realizó a partir de colonias crecidas en medio de cultivo PDA de entre 10 a 15 días de edad, a partir de las cuales se preparó una suspensión de conidios de la siguiente manera: en primer lugar se agregaron 10 mL de agua destilada estéril en la caja de Petri de la respectiva cepa y con una asa de siembra Drigalsky de acero inoxidable se raspó suavemente la superficie de la colonia para liberar los conidios; enseguida con una pipeta serológica se recuperó la suspensión y se colocó en un vaso de precipitado de 500 mL, esto teniendo la precaución de evitar tomar trozos del medio PDA. El proceso se repitió con otras cajas con crecimiento de *Trichoderma* spp., hasta obtener la mayor cantidad de suspensión de conidios. La suspensión se mantuvo en una parrilla de agitación (Cimarec®) durante 20 minutos. Posteriormente, con una cámara de Neubauer (Marienfeld®) se determinó la concentración de conidios mL⁻¹.

6.2.3 Cepa comercial de *Trichoderma*

Se utilizó el producto comercial Triatum-P® de la empresa Koppert®, cuyo ingrediente activo es *T. harzianum* T22, el cual fue conservado en refrigeración hasta su uso. Bajo condiciones de asepsia, el inóculo se preparó considerando la

dosis recomendada por el fabricante del producto, para lo cual se mezclaron 6.6 g de producto en 1000 mL de agua destilada estéril.

6.2.4 Cepa comercial de *B. subtilis*

Se utilizó el producto comercial Serenade® ASO, formulado con *B. subtilis*, cepa QST 7132, el cual fue conservado a temperatura ambiente. El inóculo se preparó con la dosis recomendada por el fabricante; para esto, bajo condiciones de asepsia se mezclaron 33 mL de producto en 1000 mL de agua destilada estéril.

6.2.5 Inoculación de plantas de solidago

Las suspensiones con la fuente de inóculo de los microorganismos se mantuvieron en una parrilla de agitación (Cimarec®) durante 10 minutos previos a la inoculación. En cada uno de los tratamientos se realizaron cuatro inoculaciones directamente sobre el sustrato; la primera se realizó al momento del trasplante y posteriormente cada 15 días de acuerdo con las siguientes dosis: en lo que respecta a las cepas nativas Cut-B y SS2 se inocularon 1×10^7 conidios por planta; el producto comercial Triatum-P® se adicionaron 15 mL por planta. Finalmente, para Serenade® ASO, se adicionaron 11 mL de la suspensión por planta. El testigo consistió en plantas sin inocular, a las que se les aplicó 15 mL de agua destilada estéril.

6.2.6 Incorporación de fuente de inóculo de roya

Quince días después del trasplante y posterior a la segunda inoculación de los antagonistas, en cada uno de los tratamientos se incorporaron de manera equidistante cinco plantas de solidago con síntomas de roya, las cuales se infectaron previamente de manera natural; esto bajo la consideración de que la roya es un fitoparásito biótrofo. Con esta técnica se tuvo una fuente permanente de inóculo para el desarrollo de la infección (Martínez, 2020).

6.2.7 Manejo de las plantas

Las plantas de solidago se incubaron en una cámara de crecimiento de plantas (Thermo Scientific®) en donde se mantuvieron a temperatura de 21 °C ± 2 °C, humedad relativa entre 70 - 90 % y fotoperiodo de 14 horas luz y 10 horas oscuridad, manteniendo riegos cada tercer día. A los 10 días después del trasplante se realizó una fertilización adicionando al sustrato de cada planta 0.5 g de la fórmula 15-15-15 de manera granular.

6.2.8 Variables evaluadas

El experimento se dio por terminado 45 días después de su establecimiento. La efectividad de las cepas nativas y comerciales como inductoras de resistencia frente a la roya del solidago se determinó por medio del registro de la incidencia de la enfermedad y del índice de severidad. La estimulación de crecimiento vegetal se determinó considerando la altura de las plantas, el número de hojas, el diámetro de tallo, el peso fresco y seco del follaje.

Considerando el total de repeticiones por tratamiento, cada variable se evaluó de la siguiente manera:

1. Incidencia: al final del experimento se revisaron todas las hojas de las plantas y se registró el número de plantas infectadas y no infectadas.

1. Índice de severidad: se revisaron 10 hojas por planta, tomadas en forma ascendente partiendo de la base del tallo. De cada una de estas se determinó la severidad con el apoyo de una escala diagramática que consistió en siete clases, donde 0= hoja sana y 6= hoja con severidad de entre 26.1-50% (Anexo 1). Los datos obtenidos se transformaron a índice de severidad por medio de la fórmula:

$$IS = \frac{\sum_{i=1}^k X_{ki} * N_{ki}}{N_j}$$

Donde:

IS = Índice de severidad

XKi = Nivel de daño en el momento i (0-6)

Nki = Número de plantas con daño en el momento i

Nj= Número total de plantas evaluadas

2. Altura de las plantas: se determinó con una regla midiendo a partir de la corona de la planta hasta el ápice.
3. Número de hojas: se obtuvo contabilizando el total de hojas, considerando aquellas con tamaño mayor a 2 cm.
4. Diámetro de tallo: se determinó con un vernier digital (Mitutoyo®), tomando la medida en la base del tallo.
5. Peso fresco del follaje: para esto se cortó la parte aérea de la planta a partir de la corona y se determinó el peso con una balanza analítica (BOECO®).
6. Peso seco del follaje: posterior al registro del peso fresco, las plantas se colocaron en un horno de secado (Felisa®) a 70 °C. Diariamente se pesaron tres plantas por tratamiento y en el momento que el peso fue constante se determinó el peso con una balanza analítica.

6.2.9 Diseño experimental y análisis estadístico

Se estableció un diseño experimental completamente al azar con cinco tratamientos (*T. asperellum* cepa Cut-B, *T. barbatum* cepa SS2, Triatum-P® formulado con *T. harzianum* T22, Serenade® ASO formulado a base de *B. subtilis* cepa QST 7132 y un testigo al que se le aplicó agua destilada estéril) y 16 repeticiones, siendo la unidad experimental una planta. Por separado, los datos de índice de severidad, altura de las plantas, número de hojas, diámetro del tallo, peso fresco y seco del

follaje, fueron sometidos a un análisis de varianza de una vía y comparación de medias Tukey ($P < 0.05$).

De manera complementaria, se determinó la correlación entre variables a través del coeficiente de correlación Pearson ($P < 0.05$); los datos de las variables correlacionadas se estandarizaron a través de la fórmula:

$$Z_i = \frac{X_i - \bar{x}}{\sigma}$$

Donde:

Z= Valor estandarizado

X= Valor original

\bar{x} = Promedio

σ = Desviación estándar

Posteriormente se realizó un análisis de componentes principales (ACP), considerando los dos componentes principales (CP) que contribuyeron a explicar la mayor proporción de la varianza; y a partir de esto se realizó un análisis de conglomerados, a través del método Ward y distancia Euclídea. Todos los análisis se realizaron haciendo uso el programa InfoStat, versión estudiantil (Di Rienzo *et al.*, 2017).

7 RESULTADOS

7.1 Síntomas de la enfermedad

Los síntomas de roya se presentaron en el envés de las hojas, inicialmente con la aparición de pequeñas pústulas de color anaranjado (Figura 3A y C), las cuales conforme maduraron se manifestaron como manchas amarillentas y marrones en el haz de las hojas (Figura 3B). Conforme el avance de la enfermedad, las pústulas aumentaron su tamaño y coalescieron; además, algunas de las pústulas se tornaron blanquecinas y con aspecto polvoriento (Figura 3D).

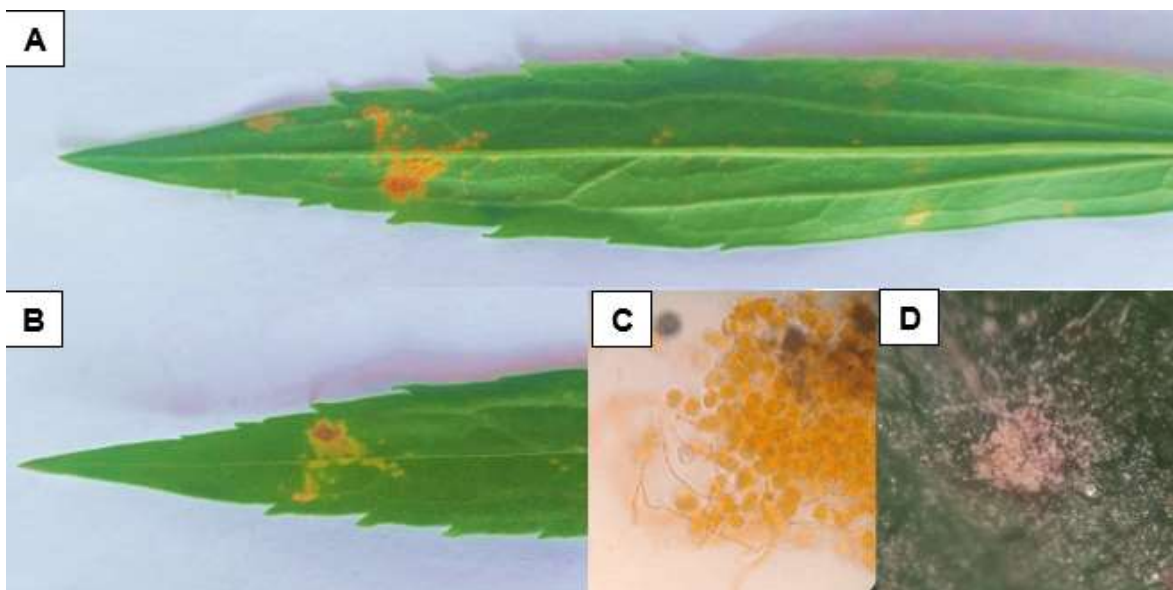


Figura 3. Síntomas y signos de roya en hojas de solidago. A) Pústulas de color anaranjado en el envés de la hoja; B) manchas amarillas y marrones en el haz de la hoja; C) urediniosporas observadas bajo microscopio compuesto; D) pústulas maduras de color blanquecino.

7.2 Incidencia de la enfermedad

Los resultados de la incidencia presentados en el cuadro 3 corresponden al corte del experimento (día 30 después de la incorporación de la fuente de inóculo). Como

se observa, en todos los tratamientos se registraron plantas enfermas, aunque la incidencia fue variable. De acuerdo con los registros, la mayor cantidad de plantas enfermas se presentó en los tratamientos correspondientes a la cepa nativa *T. asperellum* Cut-B y SERENADE® ASO, en los cuales el 94 % de las plantas manifestaron síntomas, siendo este valor mayor que el testigo en el que se presentó una incidencia del 88 %. Las plantas con la menor incidencia fueron las inoculadas con Trianum-P®, seguido de la cepa nativa *T. barbatum* SS2, con 56 % y 75 %, respectivamente (Cuadro 3).

Cuadro 3. Incidencia de la roya en solidago, 30 días posteriores a la incorporación de la fuente de inóculo.

| Tratamiento | Incidencia (%) |
|---------------|----------------|
| Trianum-P® | 56 |
| SS2 | 75 |
| Testigo | 88 |
| Cut-B | 94 |
| Serenade® ASO | 94 |

7.3 Severidad de la roya sobre plantas de solidago

De acuerdo con el análisis estadístico se presentaron diferencias ($P < 0.05$) en la severidad entre tratamientos. En las plantas inoculadas con Serenade® ASO se presentó el mayor índice de severidad con un promedio de 0.26. En el caso de las cepas SS2 y Cut-B el índice de severidad fue de 0.21 y 0.24, lo cual no representa una diferencia estadística respecto al resto de los tratamientos, incluido el testigo. En las plantas inoculadas con Trianum-P® se presentó el menor índice de severidad con una media de 0.09, lo cual representa una disminución del 52.6 % respecto al testigo y de 65.4 % respecto a Serenade® ASO (Figura 4).

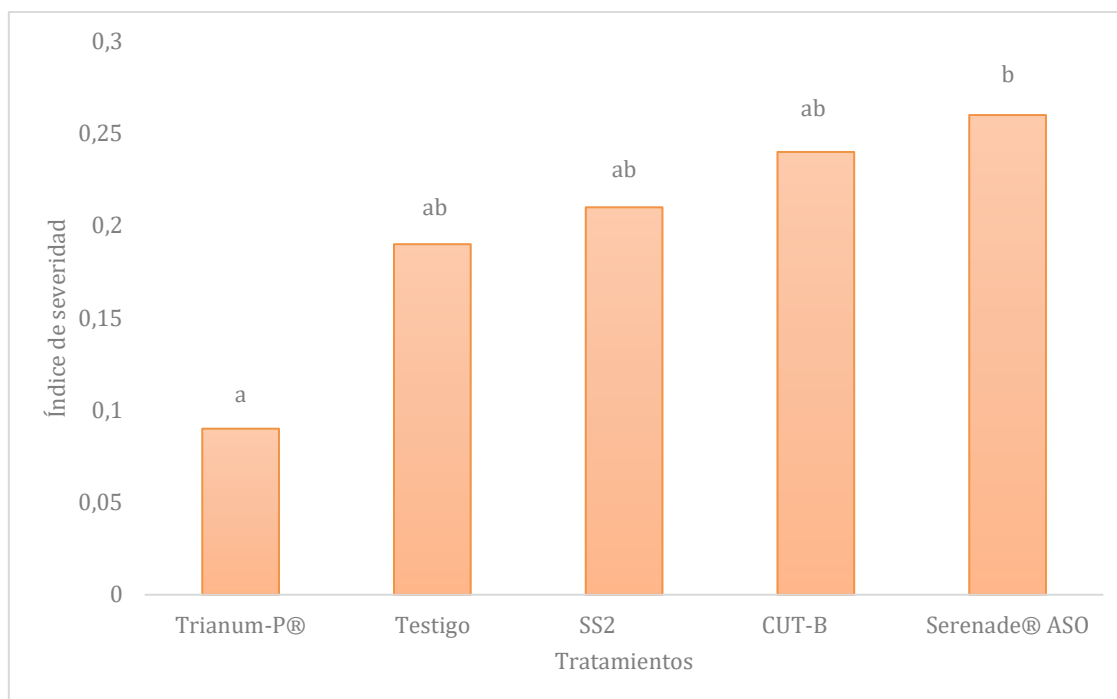


Figura 4. Índice de severidad de la roya en plantas de solidago inoculadas con Trianum-P®, Serenade® ASO, SS2, Cut-B y Testigo. Cifras con diferente literal indican diferencias estadísticas significativas. Comparación de medias Tukey ($P < 0.05$).

7.4 Estimulación de crecimiento

En lo relativo a las variables de estimulación de crecimiento vegetal, los resultados del análisis estadístico muestran que en el caso de altura y número de hojas no hubo diferencias significativas ($P < 0.05$) entre tratamientos; mientras que en las variables de grosor del tallo, peso fresco y peso seco sí las hubo. De manera general el mejor tratamiento fue Trianum-P® y Serenade® ASO, ya que en estos se registraron los mayores valores en todas las variables (Cuadro 4).

Por otro lado, los menores valores se obtuvieron en las plantas inoculadas con la cepa Cut-B, incluso menor que el testigo; dicho efecto se manifestó en todas las variables, a excepción del grosor de tallo. Cabe señalar que en el caso de la cepa SS2 no presentó diferencias estadísticas con el testigo ($P < 0.05$) (Cuadro 4).

Cuadro 4. Altura, número de hojas, diámetro de tallo (cm), peso fresco (g) y peso seco (g) en plantas de solidago.

| Tratamiento | Altura (cm) | No. de hojas | Grosor de tallo (mm) | Peso fresco (g) | Peso seco (g) |
|------------------|--------------------|--------------------|----------------------|--------------------|--------------------|
| Testigo | 14.95 ^a | 24.94 ^a | 3.57 ^{ab} | 2.18 ^{ab} | 0.46 ^{ab} |
| Cut-B | 14.15 ^a | 24.50 ^a | 3.42 ^a | 1.85 ^a | 0.38 ^a |
| SS2 | 15.44 ^a | 25.31 ^a | 3.40 ^a | 2.23 ^{ab} | 0.46 ^{ab} |
| Serenade® ASO | 16.31 ^a | 26.25 ^a | 3.49 ^{ab} | 2.28 ^b | 0.46 ^{ab} |
| Trianium-P® | 16.78 ^a | 25.94 ^a | 3.94 ^b | 2.31 ^b | 0.48 ^b |

Cifras con diferente literal indican diferencias estadísticas significativas. Comparación de medias Tukey ($P < 0.05$).

7.4.1. Altura

A pesar de que no se presentaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) entre los cinco tratamientos de la variable altura de las plantas, se observaron diferencias numéricas entre estos. Las plantas inoculadas con la cepa Cut-B y el testigo fueron los tratamientos en los que se manifestó la menor altura, siendo de 14.15 y 14.95 cm, respectivamente; seguidos por el tratamiento con la cepa SS2, cuyas plantas en promedio midieron 15.44 cm. Por otro lado, las plantas con la mayor altura fueron las inoculadas con los productos comerciales Trianium-P® y Serenade® ASO, las cuales en promedio midieron 16.78 cm y 16.31 cm, respectivamente, tratamientos que, en contraste con el testigo, presentaron un incremento del 12.2 y 9.1 %, respectivamente (Cuadro 4; Figura 5).



Figura 5. Altura de las plantas de solidago inoculadas con: A) testigo; B) cepa Cut-; C) Ceba SS2; D) Triatum-P®; y E) Serenade® ASO.



Figura 6. Follaje de las plantas de solidago inoculadas con: A) testigo; B) cepa Cut-B; C) Cepa SS2; D) Triatum-P®; y E) Serenade® ASO.

7.4.2. Número de hojas

En lo que respecta al número de hojas no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos ($P>0.05$); no obstante, la diferencia numérica muestra que las plantas inoculadas con la cepa Cut-B presentaron la menor cantidad de hojas con un promedio de 24.5. Por el contrario, las plantas que presentaron la mayor cantidad fueron las inoculadas con Serenade® ASO con 26.25 hojas, seguido de las inoculadas por Trianum-P® con 25.94 hojas (Cuadro 4; Figura 6).

7.4.3. Grosor del tallo

En lo respectivo al grosor del tallo, el mejor tratamiento correspondió a las plantas inoculadas con Trianum-P® en el cual se registró que en promedio el tallo de las plantas midió 3.94 mm, lo que representó un incremento del 10.4 % en contraste con el testigo; cabe señalar que se presentaron diferencias estadísticas entre las plantas inoculadas con este producto comercial y las cepas nativas Cut-B y SS2 ($P<0.05$). En el caso de los tratamientos en los que se inocularon las cepas nativas y Serenade® ASO los resultados fueron menores que en el testigo (Cuadro 4).

7.4.4. Peso fresco

Se obtuvieron diferencias estadísticas significativas ($P<0.05$) en el peso fresco de las plantas inoculadas con Trianum-P® y con la cepa Cut-B, siendo estos tratamientos en los que registró el mayor y menor peso fresco con 2.31 y 1.85 g, respectivamente. Por otro lado, no se presentaron diferencias estadísticas entre Trianum-P® y los demás tratamientos; no obstante, en contraste con el testigo, se manifestó un aumento del 6 % y en el caso de Serenade® ASO del 4.6 % (Cuadro 4).

7.4.5. Peso seco

En el caso del peso seco se presentó diferencia estadística significativa ($P<0.05$) entre las plantas inoculadas con la cepa Cut-B y Trianum-P®. En las plantas inoculadas con la cepa Cut-B, en promedio se obtuvo 0.38 g, lo cual representa una

disminución de 17.4 % respecto al testigo. Mientras que en las plantas inoculadas con Trianum-P® se registró un incremento del 4.34 % del peso seco en comparación con el testigo. En el caso de los tratamientos inoculados con la cepa SS2, Serenade® ASO y el testigo coincidieron en los valores, con un promedio de 0.46 g (Cuadro 4).

7.4.6. Análisis multivariado

De acuerdo con el análisis, estuvieron correlacionadas las variables de altura, número de hojas, peso seco y peso fresco ($P < 0.01$) (Cuadro 6). Con base en el ACP, los dos primeros CP explicaron el 84 % de la varianza de las variables (CP1= 67.3 %; CP2= 16.7 %), (Cuadro 6, Figura 7).

En el dendrograma (Figura 8) se observa que los tratamientos formaron tres grupos: el primero integrado por el testigo y la cepa de *T. barbatum* SS2; el segundo se conformó por las cepas comerciales Trianum-P® y Serenade® ASO; mientras que la cepa de *T. asperellum* Cut-B, al no haberse agrupado con ninguno de los demás tratamientos, se considera un caso atípico. Este análisis permitió visualizar de manera integral los resultados de las variables por efecto de los microorganismos evaluados; en este sentido, los tratamientos con los valores más altos correspondieron a las cepas comerciales, lo que evidencia su efectividad a las concentraciones estudiadas; mientras que, bajo las condiciones utilizadas en la presente investigación, las cepas SS2 y la Cut-B no manifestaron los resultados esperados.

Cuadro 5. Coeficientes de correlación Pearson entre las variables de altura (cm), número de hojas, peso seco (g) y peso fresco (g).

| Variable 1 | Variable 2 | Coefficiente de correlación | Probabilidad |
|-----------------|-------------|-----------------------------|--------------|
| Altura | Peso fresco | 0.54 | <0.0001 |
| Altura | Peso seco | 0.50 | <0.0001 |
| Número de hojas | Peso fresco | 0.52 | <0.0001 |

| | | | |
|--------------------|-----------|------|---------|
| Peso fresco | Peso seco | 0.93 | <0.0001 |
|--------------------|-----------|------|---------|

Cuadro 6. Correlaciones con las variables originales de altura (cm), número de hojas, peso fresco (g) y peso seco (g).

| Variables | CP 1 | CP 2 |
|------------------|-------------|-------------|
| Altura (cm) | 0.73 | 0.20 |
| Número de hojas | 0.69 | 0.65 |
| Peso fresco (g) | 0.94 | -0.26 |
| Peso seco (g) | 0.90 | -0.38 |

Correlación cofenética= 0.951

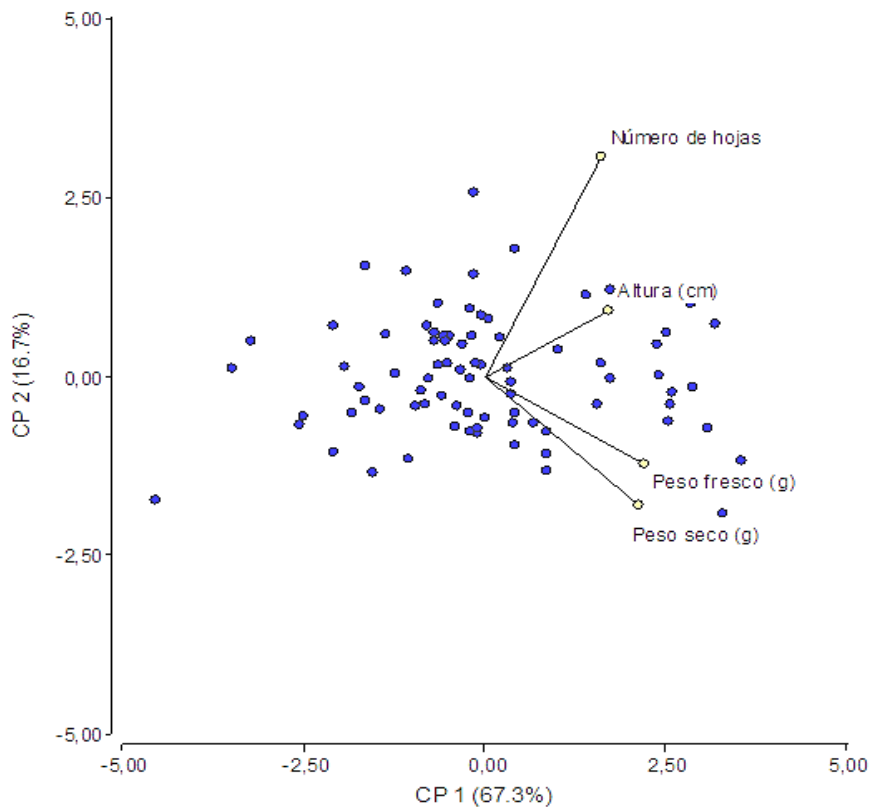


Figura 7. Análisis de componentes principales de las variables de altura (cm), número de hojas, peso fresco (g) y peso seco (g).

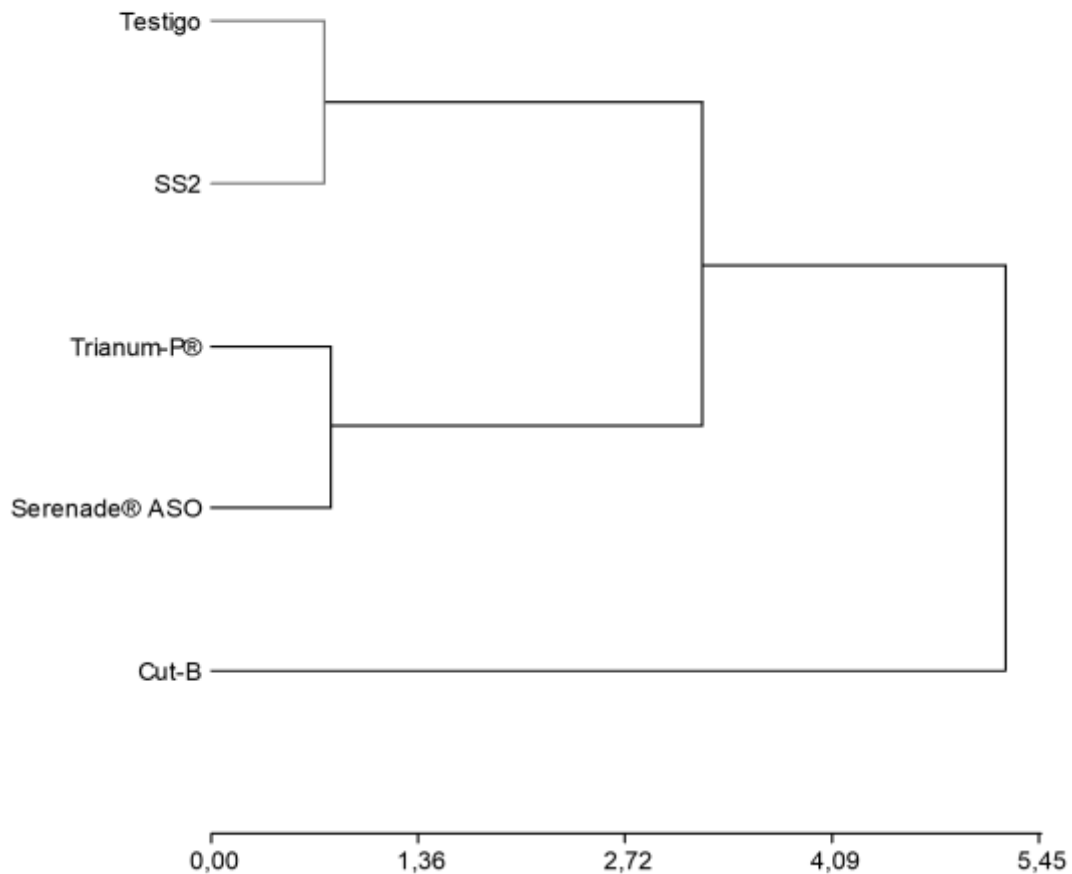


Figura 8. Dendrograma de las variables de altura (cm), número de hojas, peso seco (g) y peso fresco (g) asociadas a los tratamientos testigo, cepa SS2, Trianum-P®, Serenade® ASO y cepa Cut-B. Método Ward, distancia Euclídea, correlación cofenética: 0.89.

8. DISCUSIÓN

En términos generales los síntomas ocasionados por *C. asterum* sobre las plantas del solidago coincidieron con lo reportado por Heather (2020), al presentarse manchas amarillentas en el haz de las hojas que conforme el paso del tiempo tendió a necrosarse y en el envés se presentaron pústulas de color anaranjado o amarillo brillante. La infección fue leve ya que las pústulas fueron pequeñas y no llegaron a cubrir por completo las hojas por lo que no se presentó deformación, enrollamiento y defoliación; no obstante, al final del experimento se observó que algunas pústulas cambiaron de color anaranjado a blanco (Figura 3), lo cual coincide con lo reportado por Salazar-Yepes (2021), quien menciona que el uredinio de *C. asterum* es de color amarillo en su estado inmaduros y blanquecinos al madurar.

Ferguson en el 2018, reportó que la temperatura óptima para la germinación de aeciosporas y urediosporas de *C. solidaginis* es de aproximadamente 20 °C, siendo la máxima que tolera de 30-35 °C y una mínima por debajo de 6 °C; por lo que al incubar el experimento a temperatura constante de 21 °C se buscó favorecer el desarrollo de la enfermedad, debido a que bajo estas condiciones el tiempo mínimo requerido para la formación de tubos germinativos es de 16 horas, fuera de este intervalo la formación del tubo germinativo puede ser afectada (Ferguson, 2018).

Por otra parte, durante el periodo de evaluación la humedad relativa se mantuvo en un intervalo de 70-90 %, con lo que se pretendió brindar las condiciones óptimas para favorecer la infección. Para esto se tomaron como referencia otras royas como *H. vastatrix* agente causal de la roya del café, que se ve favorecida por altos niveles de humedad relativa provocados por la precipitación, lo que aumenta la incidencia y severidad (Parada *et al.*, 2021). En el caso de otras royas como *P. horiana* la humedad relativa alrededor del 95 % favorece la germinación de teliosporas y basidiosporas; sin embargo, las basidiosporas son muy sensibles a la desecación y humedad relativa por debajo del 90 % (Vences-Contreras *et al.*, 2018).

En las plantas inoculadas con la cepa nativa Cut-B no se presentaron resultados favorables en cuanto a la reducción de la incidencia y severidad de la roya, ya que

se presentó un incremento del 6 y 26 %, respectivamente, con respecto al testigo. En el caso de la cepa SS2, si bien en contraste con el testigo se registró reducción de la incidencia del 14.8 %, la severidad fue 10 % mayor (Cuadro 3, Figura 4). Tales resultados contrastan con los reportes de Martínez (2020), quien realizó un estudio inoculando dichas cepas en plantas de crisantemo var. Delano, con el objetivo de evaluar su efecto sobre la incidencia y severidad de la roya blanca, obteniendo reducción del 48 % de la incidencia con ambas especies; en cuanto a la severidad, con la cepa Cut-B obtuvo reducción del 75 % y con la cepa SS2 el 80 %, respecto al testigo.

Ante el escenario anterior es recomendable hacer la evaluación de estas cepas con distintas dosis a las estudiadas, debido a que la efectividad en cuanto a la inducción de resistencia por parte de *Trichoderma* spp. ha sido probada varios cultivos para el control de distintas enfermedades. Un claro ejemplo son los resultados de Cruz *et al.* (2018) quienes observaron que a partir de la inoculación del producto comercial SevetriC® formulado a base de *T. asperellum* en plantas de frijol se redujo la incidencia en 50 % y la severidad hasta en 98 % de la roya del frijol causada por *Uromyces appendiculatus* (Pers.) Steud, cuya infección es similar a la causada por *C. asterum* en solidago, tanto en los signos que se manifiestan como en las condiciones requeridas para la infección, ya que la humedad relativa y la temperatura son similares. Cabe mencionar que en dicho estudio al mismo tiempo observaron disminución de la enfermedad causada por *Fusarium solani* (Mart.) Sacc., lo que muestra un panorama en que en futuras investigaciones al mismo tiempo de evaluar la inducción de resistencia a la roya en plantas de solidago, pueda ser evaluado su efecto frente a otras enfermedades que afectan al cultivo, tales como *Sclerotinia* spp.; patógeno en el que de acuerdo con otros estudios *Trichoderma* spp. puede ser efectivo. Un ejemplo son los resultados obtenidos por Ibarra (2010) que encontró que siete cepas nativas de *Trichoderma* spp. tuvieron la capacidad de parasitar y degradar esclerocios de *S. sclerotiorum* y *S. minor*.

En el caso del producto comercial Trianum-P®, se obtuvo incidencia de 56 % (Cuadro 3) al final del experimento, lo que representa una disminución del 36.4 %

en contraste con el testigo; por su parte, el índice de severidad con este mismo tratamiento fue de 0.09, lo cual representa una disminución del 52.7 % respecto al testigo. Por lo tanto, es factible evaluar este producto *in situ* ya que en ciertas investigaciones se ha comprobado su efectividad frente a algunas enfermedades; un ejemplo de esto es lo reportado por Vitti *et al.* (2016) quienes demostraron que induce resistencia sistémica en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. cerasiforme cv. Cherry) infectadas por el virus del mosaico del pepino (CMV) al incrementar los niveles de JA, etileno y ácido salicílico tanto en hojas como en la raíz. Por su parte Harman *et al.* (2004), reportaron que a partir de semillas de maíz tratadas con la cepa T22, las plantas manifestaron reducción de síntomas de antracnosis luego de la inoculación de las hojas con *Colletotrichum graminicola* (Ces.) G.W. Wilson, lo que indica que la colonización de las raíces induce resistencia sistémica.

En cuanto a la estimulación de crecimiento vegetal por parte de las cepas nativas de *Trichoderma* spp., no se presentó un incremento con diferencia estadística ($P < 0.05$) en el caso de las plantas inoculadas con las cepas Cut-B y SS2 en ninguna de las variables (Cuadro 4); en el caso particular de las plantas inoculadas con la cepa SS2 se obtuvieron incrementos numéricos en cuanto a altura, número de hojas y peso fresco, con valores 3.2 % 1.4 % y 2.2 % respectivamente, en contraste con el testigo. Sin embargo, estos porcentajes no representan un beneficio significativo; tales resultados fueron similares a los obtenidos por Martínez (2020) quien observó que en plantas de crisantemo únicamente se presentó incremento en el número de hojas con respecto al testigo de 10.3 % y 12.8 %, por efecto de aplicaciones de las cepas nativas SS2 y Cut-B, respectivamente.

En el caso de las plantas inoculadas con la cepa Cut-B se presentaron resultados contrarios a lo que se esperaba, ya que en comparación con el testigo se presentó una disminución en todas las variables evaluadas (Cuadro 4), por ejemplo: disminución del 6 % en altura, 1.9 % en número de hojas, 4.1 % en grosor de tallo, 15.2 % en peso fresco y 17.4 % en peso seco; tales resultados son similares a los reportados por Rares *et al.* (2014) quienes encontraron una disminución del número

de hojas y altura al inocular una cepa comercial de *Trichoderma* sp. en plantas de crisantemo, debido a que el testigo registró 10.8 % más hojas y 9.7 % más altura; estos resultados se podrían deber a una baja concentración de conidios durante las aplicaciones, debido a que en estudios como el realizado por Rodríguez y Vargas (2022) se aplicaron 20 mL de una suspensión de 12×10^9 conidios mL⁻¹ (es decir 240,000,000,000 conidios por planta) en plantas de tomate, y como resultados obtuvieron un incremento significativo en las variables de número de hojas, longitud de raíz, altura y biomasa. Ante este escenario, es clara la diferencia adimensional sobre la concentración de inoculo utilizado, hipotetizando el motivo de la respuesta reportada. No obstante, estos datos generan mayores interrogantes que resolver, si la concentración del inoculo es el que determina la respuesta de la planta.

En las plantas inoculadas con Trianum-P® se presentaron diferencias estadísticas ($P < 0.05$) respecto al testigo, en las variables de grosor de tallo con un 10.3 %, en peso fresco 5.9 % y en peso seco 4.3 %, además de un incremento numérico, en la altura y número de hojas, en cuanto a altura se tuvo un incremento del 12.24 %, el número de hojas fue mayor en un 3.8 %, mientras que en el grosor de tallo el aumento fue del 10 %. Al analizar estos resultados se observa que la estimulación de crecimiento fue mínima en contraste con los obtenidos en otros estudios en plantas de maíz y cereza con la misma cepa comercial; Harman *et al.* (2004), reporta que la cepa T22 generó un incremento en brotes y raíces en plantas de maíz, y aumentó los niveles de proteína y las actividades de beta-1,3 glucanasa, exoquitinasa y endoquitinasa tanto en raíces como en brotes. Por su parte Sofo *et al.* (2012), reportan que después de la inoculación con T22, el ácido indol-3-acético (IAA) en hojas y raíces de cereza aumentó significativamente en 148 y 122 %, lo cual en parte explica las bases bioquímicas de la actividad promotora de crecimiento

Al comparar el efecto de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. con el producto comercial Trianum-P®, tanto en estimulación de crecimiento, así como en inducción de resistencia se obtuvieron mejores resultados con el uso de Trianum-P®. Es importante destacar que la concentración de UFC fue diferente, debido a que de Trianum-P® se aplicaron 4.9×10^8 por planta, mientras que de las cepas Cut-B y

SS2 se aplicaron 1×10^7 conidios por planta, lo que representa cerca de 50 veces más UFC de acuerdo con la concentración de Triatum-P®, por lo que es recomendable profundizar en las investigaciones con el uso de estas especies evaluando una mayor concentración.

En el caso de Serenade® ASO, los resultados muestran que no hubo un efecto en la reducción de la incidencia y severidad, al obtener valores de 94 % y 0.26, respectivamente al final del experimento, siendo estos los más altos, incluso mayores que en el testigo que presentó valores de 88 % de incidencia (Cuadro 3) y 0.19 de severidad (Figura 4). Esto se puede deber a una dosis inadecuada, debido a que la concentración aplicada fue 3.3×10^7 UFC mL⁻¹, ya que en el caso de biofungicidas basados en bacterias, se han reportado como efectiva concentración de bacterias en el intervalo de $1 - 4 \times 10^8$ UFC (Hernández *et al.*, 2021). En este sentido Bettiol y Varzea (1992) reportan una completa inhibición de uredinosporas de cinco razas *H. vastatrix*, con el uso de dos cepas nativas de *B. subtilis* a una concentración de 5×10^7 UFCmL⁻¹. En otro estudio realizado por Daivasikamani y Rajanaika (2009), obtuvieron resultados similares al evaluar a nivel *in vitro* e *in vivo* el efecto de *B. subtilis* y *Pseudomonas fluorescens* aisladas de suelos de la rizosfera del café contra *H. vastatrix*. Como resultados obtuvieron que *in vitro*, *B. subtilis* inhibió el crecimiento de urediosporas hasta en 68.20 % con una dosis de 1×10^9 UFC mL⁻¹, mientras que *P. fluorescens* presentó una reducción de 64.50 % con la misma dosis de prueba. Por otra parte, la combinación de *P. fluorescens* y *B. subtilis* a 1×10^8 UFC mL⁻¹ inhibió el crecimiento de urediosporas del patógeno en un 61.46 %.

En las pruebas *in vivo* del estudio referenciado en el párrafo anterior, se aplicaron por aspersión foliar los tratamientos donde *B. subtilis* registró una reducción máxima de la enfermedad de 42.98 % con una dosis de prueba de 1×10^9 UFC mL⁻¹, seguido del 33.65 % con *P. fluorescens* a la misma dosis de prueba; además, *P. fluorescens* y *B. subtilis* en combinación a 1×10^8 UFC mL⁻¹ redujeron la incidencia de la enfermedad en un 26.45 % (Daivasikamani y Rajanaika, 2009).

Estos datos confirman que la concentración usada de Serenade® ASO fue baja en comparación con otras investigaciones. Además, al analizar los tratamientos es evidente la falta de al menos un tratamiento evaluando la aplicación foliar de *B. subtilis*, ya que de esta manera se conocería el efecto de esta especie a través de sus distintos mecanismos de acción reportados por su fabricante como: la producción de lipopéptidos que se encargan de perforar la membrana celular de los hongos, producción de antibióticos naturales, además de provocar resistencia sistémica inducida del cultivo que lo ayuda a defenderse mejor de las enfermedades y condiciones ambientales adversas, promoviendo su óptimo desarrollo (Bayer, 2022).

Respecto a la estimulación de crecimiento, al aplicar Serenade® ASO, se observó un ligero incremento en tres de las cinco variables evaluadas (altura, número de hojas y peso fresco) (Cuadro 4); sin embargo, no hubo diferencia estadística ($P < 0.05$). En cuanto la altura y número de hojas, el incremento fue de 9.09 % y 5.2 %, respectivamente; tales resultados son bajos al compararlos con otros estudios, un ejemplo son los obtenidos por Gutiérrez *et al.* (2022) quienes reportan incremento de hasta el 20 % en el grosor de tallo en plantas de maíz; y en el peso fresco total de las plantas un incremento de hasta 72 % al aplicar 1×10^7 UFC mL⁻¹ y 1×10^8 UFC mL⁻¹ de dos cepas de *B. subtilis* bajo investigación.

En cuanto a la estimulación de crecimiento vegetal, tanto la dosis como el momento de aplicación cobran relevancia, ya que los resultados obtenidos en este experimento en donde en algunas variables evaluadas se vieron favorecidas, mientras que otras se vieron disminuidas, también han sido reportadas por otros autores; en este sentido, Anguiano *et al.* (2019) obtuvieron un incremento en el largo del tallo en un 45 %, 33 % y 17 %, con tres diferentes cepas de *B. subtilis* en plántulas de *S. lycopersicum*; sin embargo, en otras variables evaluadas como largo de raíz, peso fresco, peso seco y porcentaje de humedad no presentaron un incremento; por lo que concluyeron que las concentraciones de los metabolitos promotores de crecimiento, así como su interacción con otros metabolitos (con efecto antagónico o sinérgico) influyen en el crecimiento de las plantas. Además,

los autores mencionan que bacterias que producen las concentraciones correctas de metabolitos promueven el crecimiento, mientras que las que producen metabolitos en cantidades deficientes o excesivas inhiben el crecimiento de plantas. Por su parte, Cuéllar (2014) al aplicar *B. subtilis* cepa EA-CB0575 en plantas de plátano, reportó incremento en las variables de longitud aérea del 31 %, diámetro del pseudotallo en 17 %, número de hojas en 38 %, peso seco aéreo en 85 % y peso seco total en 59 % durante el desarrollo vegetativo; sin embargo, también reportó que las plantas inoculadas en la etapa reproductiva, no presentaron diferencias significativas ($P > 0.05$) entre los tratamientos, por lo que al seleccionar una cepa se debe definir el parámetro y etapa en la que se quiere promover el crecimiento.

9. CONCLUSIONES

Los resultados obtenidos, bajo las condiciones y cantidad de conidios inoculados por planta (1×10^7) de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. SS2 y Cut-B, sobre la roya del solidago, mostraron una efectividad biológica menor a la obtenida por los productos comerciales utilizados como comparativos.

El producto comercial Trianum-P® formulado a base de *T. harzianum* T22 fue el más efectivo para la reducción de la incidencia y severidad, en contraste con el testigo y los demás tratamientos.

En cuanto a la estimulación de crecimiento vegetal, se obtuvo mayor grosor de tallo, peso fresco y peso seco en las plantas que recibieron el tratamiento del producto comercial Trianum-P®, apenas igualado en la variable de peso seco en el tratamiento con Serenade® ASO.

10. RECOMENDACIONES

Para trabajos posteriores y siguiendo la línea de investigación se recomienda aumentar el número de inoculaciones de los tratamientos, con la finalidad de determinar si tienen efecto positivo en el crecimiento de plantas de solidago.

Realizar aplicaciones de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. Cut-B y SS2, Serenade® ASO (*B. subtilis* QST 7132) y Triatum-P® (*T. harzianum* T22) en el follaje de plantas de solidago, para determinar su efecto sobre la incidencia y severidad de la roya del solidago.

Incrementar la concentración de conidios por planta y/o volumen de la suspensión de las cepas nativas de *Trichoderma* spp. SS2 y Cut-B para valorar su efecto sobre la incidencia y severidad de la roya del solidago.

Utilizar un diseño experimental en el cual se incluyan tratamientos con aplicaciones al suelo y al follaje combinando cepas de *Trichoderma* spp. y *B. subtilis*.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Agrios, G. N. (2016). Fitopatología (2ª ed). México. Limusa.

Aguado, G., Moreno, B., Jiménez, F., García, E. y Preciado, R. (2012). Impacto de los sideróforos microbianos y fitosidóforos en la asimilación de hierro por las plantas: una síntesis. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 35(1), 9-21. Recuperado de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-73802012000100004

Alonso, B. A. (2020). Actividad antagónica *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a *Rosellinia necatrix*, *Verticillium dahliae* y *Botrytis cinerea*, patógenos del cultivo de rosa. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. México. <http://hdl.handle.net/20.500.11799/105592>

Alonso-Bahena, A., López-Fuentes, H., Domínguez-Arizmendi, G., y García-Velasco, R. (2018). Actividad antagónica de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre *Rosellinia necatrix* y *Verticillium dahliae*. *Sociedad Mexicana de Fitopatología*, 36(1), S27-S28. <https://www.rmf.smf.org.mx/suplemento/Suplemento362018.html>

Altomare, C., Norvell, W., Bjorkman, T., and Harman, G. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant growth-promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai 1295-22. *Applied and Environmental Microbiology*, 65, 2926-2933. DOI: 10.1128/AEM.65.7.2926-2933.1999

Anguiano, J., Flores, A., Olalde, V., Arredondo, R., y Laredo, E. (2019). Evaluación de cepas de *Bacillus subtilis* como promotoras de crecimiento vegetal. *Revista Bio Ciencias*, 6(e418). doi.org/10.15741/revbio.06.e418

Arias, T. J., y Jerez, R. A. (2008). Elaboración de un atlas para la descripción macroscópica y microscópica de hongos fitopatógenos de interés en especies de flores de corte cultivadas en la sabana de Bogotá. Tesis de

- licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá. Recuperado de: <https://repository.javeriana.edu.co/bitstream/handle/10554/8230/tesis223.pdf?sequence=1>
- Arias, L., Tautiva, L., Piedrahíta, W., y Chaves, B. (2007). Evaluación de tres métodos de control del Moho blanco (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) en lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Agronomía Colombiana*, 25(1), 131-141. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0120-99652007000100015&lng=en&tling=es.
- Arriaga, M., González, A., Olalde, V., Reyes, B., Castillo, A., Pérez, D., y Aguilera, L. (2012). Contribución de fósforo al mejoramiento de calidad en *Lilium* y la relación con *Glomus fasciculatum* y *Bacillus subtilis*. *Revista Mexicana de Ciencias Sgrícolas* 3(1), 125-139. Recuperado de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2007-09342012000100009
- Ashwini, N., and Srividya, S. (2014). Potentiality of *Bacillus subtilis* as biocontrol agent for management of anthracnose disease of chilli caused by *Colletotrichum gloeosporioides* OGC1. *Biotech.* 4(2), 127-136. DOI: 10.1007/s13205-013-0134-4
- Astorga-Quirós, K., Meneses-Montero, K., Zúñiga-Vega, C., Brenes-Madriz, J., y Rivera-Méndez, W. (2013). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Tecnología en Marcha* 27(2), 82-91. <https://doi.org/10.18845/tm.v27i2.1929>
- Back, C.G., Nam, G.Y., Lee, S.Y., and Jung, H.Y. (2014). Outbreak of rust caused by *Coleosporium asterum* on *Solidago virgaurea* var. gigantea in Ulleung-do. *Mycobiology* 42, 79-81. doi: 10.5941/MYCO.2014.42.1.79
- Bailey, BA., and Lumsden, R.D. (1998). Direct effects of *Trichoderma* and *Gliocladium* on plant growth and resistance to

- pathogens. In: Harman GE, Kubicek CP (eds). *Trichoderma and Gliocladium*, pp. 185-204. Taylor and Francis Inc, London.
- Bayer. (2022). Ficha técnica de Serenade Max. Recuperado de: https://www.micultivo.bayer.com.mx/esmx/productos/productdetails.html/fungicidas/serenade_aso.html
- Beneduzi, A., Ambrosini, A., and Passaglia, L.M.P. (2012). Plant growth-promoting rhizobacteria (PGPR): Their potential as antagonists and biocontrol agents. *Genetics and Molecular Biology*, 35 (4 suppl 1),1044-1051. doi: 10.1590/s1415-47572012000600020.
- Bernal, R. (2007). Oidios en diferentes cultivos hortícolas en las zonas de Salto y Bella Unión. *INIA*, 11(1), 26-28. Recuperado de: <http://inia.uy/en/Publicaciones/Documentos%20compartidos/18429270508144900.pdf>
- Bettiol, W., y Varzea, V. (1992). Controle biológico da ferrugem (*Hemileia vastatrix*) do cafeeiro com *Bacillus subtilis* em condições controladas *Fitopatologia brasileira*, 17, 91-95. Recuperado de: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/152995/1/1992SP012-Bettiol-Controle-1393.PDF>
- Bettiol, W., Rivera, M., Mondino, P., Montealegre, J., y Colmenares, Y. (2014). Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. Facultad de Agronomía, Universidad de la Republica. Uruguay. pp. 265-272. Recuperado de: <https://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/bitstream/doc/1012615/1/2014LV01.pdf>
- Bonilla, R., González, L., y Osvaldo, R. (2021). Bacterias promotoras de crecimiento vegetal en sistemas de agricultura sostenible. Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria (agrosavia). Colombia. Recuperado de: <https://doi.org/10.21930/agrosavia.analisis.7405019>

- Brenes-Madriz, J., Zúñiga-Vega, C., Villalobos-Araya, M., Zúñiga-Poveda, C., y Rivera-Méndez, W. (2019). Efectos de *Trichoderma asperellum* en la estimulación del crecimiento en chile dulce (*Capsicum annum*) variedad Nathalie en ambientes protegidos. *Revista Tecnología en Marcha* 32(3), 79-86. <http://dx.doi.org/10.18845/tm.v32i2.4481>
- Busilacchi, H. B., Coronel, C., Bueno, S., González, P., Müller, D., Quiroga, M. y Severin, C. (2019). Incidencia de las condiciones de clima en el desarrollo y producción de semillas de *Salvia hispánica* L. *Acta Agronómica*, 68(3), 244-250. doi.org/10.15446/acag.v68n3.68759
- Calvo, P., y Zúñiga, D. (2010). Caracterización fisiológica de cepas de *Bacillus* spp. aisladas de la rizósfera de papa (*Solanum tuberosum*). *Ecología Aplicada*. 9(1), 31-39. Recuperado de: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1726-22162010000100004
- Cárdenas, A., Estrada, A., and Olalde, V. (2005). Yield and quality enhancement of marigold flowers by inoculation with *Bacillus subtilis* and *Glomus fasciculatum*. *Sustainable Agriculture* 31(1), 21-31. doi.org/10.1300/J064v31n01_04
- Carmona, M., y Sautua, F. (2017). La problemática de la resistencia de hongos a fungicidas. Causas y efectos en cultivos extensivos. *Agronomía & Ambiente*, 37(1), 1-19. https://www.researchgate.net/publication/322087525_LA_PROBLEMA_TICA_DE_LA_RESISTENCIA_DE_HONGOS_A_FUNGICIDAS_CAUSAS_Y_EFECTOS_EN_CULTIVOS_EXTENSIVOS
- Candelero, D. J., Cristóbal, A. J., Reyes, R. A., Tun, S. J. M., Gamboa, A. M. M. y Ruíz, S. E. (2015). *Trichoderma* spp. promotoras del crecimiento en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq. y antagonicas contra *Meloidogyne incognita*. *FYTON*. 84, 113-119. Recuperado de: https://cicy.repositorioinstitucional.mx/jspui/bitstream/1003/519/1/2015_AI_id37069_Marcela_Gamboa.pdf

Chávez, M. (2006). Producción de *Trichoderma* sp. y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). Tesis de licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. Recuperado de: <http://hdl.handle.net/10554/8312>

Chávez, R. MA., y Vásquez-Guzmán, JE. (2021). Efecto de la aplicación de tres dosis de *Bacillus subtilis* en tres variedades de fréjol arbustivo. *Siembra* 1(8), e2657. doi.org/10.29166/siembra.v8i2.2657

Cisneros, C., Franco, J., Realpe, M., y Fuenmayor, J. (2017). Influencia de microorganismos en la disponibilidad de fósforo en plántulas de café (*Coffea arabica*). *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial* 15(1): 19-26. DOI: [http://dx.doi.org/10.18684/BSAA\(15\)19-26](http://dx.doi.org/10.18684/BSAA(15)19-26)

Collaguazo, L. N. (2019). Determinación del efecto de los elementos climáticos sobre el crecimiento, desarrollo y producción de *Solidago canadensis* y *Delphinium elatum*. Pichincha. Tesis de licenciatura. Universidad Central de Ecuador. Quito. Recuperado de: https://www.academia.edu/70876333/Determinaci%C3%B3n_del_efecto_de_los_elementos_clim%C3%A1ticos_sobre_el_crecimiento_desarrollo_y_producci%C3%B3n_de_Solidago_canadensis_y_Delphinium_elatum_Pichincha

Companioni, G. B., Domínguez, A. G. y García, V. R. (2019). *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Bioteología Vegetal* 19(4), 237-248. Recuperado de: <http://scielo.sld.cu/pdf/bvg/v19n4/2074-8647-bvg-19-04-237>

Corrales, L., Caycedo, L., Gómez, M., Ramos, S., y Rodríguez, J. (2017). *Bacillus* spp: una alternativa para la promoción vegetal por dos caminos enzimáticos. *Nova*, 15(27), 46-65. Recuperado de: http://www.scielo.org.co/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1794-24702017000100046

- Cruz, A., Rivero, D., Infante, D., Echeverría, A., y Martínez, B. (2018). Manejo de hongos fitopatógenos en *Phaseolus vulgaris* L. con la aplicación de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg. *Protección Vegetal*, 33(3), 1-7 http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522018000300004
- Cuellar, T. (2014). Evaluación de la promoción de crecimiento de *Bacillus subtilis* ea-cb0575 en cultivos de banano, crisantemo y café. Tesis de licenciatura. Universidad EAFIT. Medellín, Colombia. Recuperado de: <https://core.ac.uk/download/pdf/47250418.pdf>
- Cuéllar, T. (2014). Evaluación de la promoción de crecimiento de *Bacillus subtilis* ea-cb0575 en cultivos de banano, crisantemo y café. Tesis de magister en Ingeniería. Universidad EAFIT. Medellín, Colombia. Recuperado de: <https://repository.eafit.edu.co/items/b9cdf92a-b3b4-4d3c-bef059fa68bc94b9>
- Daivasikamani, S., and Rajanaika. (2009). Biological control of coffee leaf rust pathogen, *Hemileia vastatrix* Berkeley and Broome using *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens*. *Journal of Biopesticides*, 2(1), 94-98. Recuperado de: <http://www.jbiopest.com/users/LW8/efiles/94-98.pdf>
- Delgado, N., Chumacero, J., Rodríguez, L., Tuesta, A., y Álvarez, Y. (2022). *Bacillus subtilis* como promotor de crecimiento en el cultivo de café (*Coffea arabica*). *Revista Amazónica de Ciencias Ambientales y Ecológicas* 1(2), e345. doi.org/10.51252/reacae.v1i2.345
- Díaz, F. (2018). Inducción de resistencia a roya común (*Puccinia sorghi*), complejo de mancha de asfalto (*Phyllachora maydis* y otros) y diente de caballo (*Claviceps gigantea*) en maíz (*Zea mays* L.). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo. México. http://colposdigital.colpos.mx:8080/jspui/bitstream/handle/10521/3097/Diaz_Morales_F_MC_Fitopatologia_2018.pdf?sequence=1&isAllowed=y

- Díaz, H., Leyva, S., Villaseñor, H., Hernández, M., Hortelano, R., Valdez, Y., y Martin, E. (2018). Control químico de la roya lineal en diferentes etapas de desarrollo del trigo en Terrenate, Tlaxcala. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9(5), 1067-1074. doi.org/10.29312/remexca.v9i5.1510
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., y Robledo, C.W. (2011). InfoStat, versión 2017 (estudiantil). Grupo InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Elkoca, E., Kantar, F., y Sahin, F. (2007). Influence of nitrogen fixing and phosphorus solubilizing bacteria on the nodulation, plant growth, and yield of chickpea. *Journal of Plant Nutrition* 31(1), 157-171. doi.org/10.1080/01904160701742097
- Enríquez, S. (2020). Efecto de diferentes cepas de *Trichoderma* en la producción de ácido jasmónico en semillas y plántulas de café. Tesis de maestría. Universidad Veracruzana. Ver. México. Recuperado de: <https://cdigital.uv.mx/handle/1944/50517>
- Espinoza, A. (2014). Generación de una cepa de *Bacillus subtilis* como modelo de expresión de ARN de proteínas virales para el control del virus de la mancha blanca. Tesis de Maestría. CICESE, Baja California, México. Recuperado de: 235161 PDF (cicese.repositorioinstitucional.mx)
- Ferguson, CL. (2018). The influence of environment upon germination and longevity of aeciospores and urediospores of *Coleosporium solidaginis*. *Mycologia*, 51(1), 44-48. doi.org/10.1080/00275514.1959.12024794
- Fgaier, H., and Hebert, H. (2011). Antagonistic control of microbial pathogens under iron limitations by siderophore producing bacteria in a chemostat setup. *Journal of Theoretical Biology*, 273(1), 103-114. DOI: 10.1016/j.jtbi.2010.12.034

Fritze, D. (2004). Taxonomy of the genus *Bacillus* and related genera: The aerobic endospore-forming bacteria. *The American Phytopathological Society*, 1(11), 1245-1248. DOI: 10.1094/PHYTO.2004.94.11.1245

Garcés-Fiallos, F., y Forcelini, C. (2011). Control químico de la roya asiática de la soya en el planalto medio, rs., Brasil. *Agronomía Mesoamericana*, 22(2): 387-395. Recuperado de: http://www.scielo.sa.cr/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1659-13212011000200015&lng=en&tlng=es

García-Velasco, R., Zavaleta, E., Rojas, R. I., Leyva, S. G., Simpson, J. K. y Fuentes, D. G. (2005). Antagonismo de *Cladosporium* sp. contra *Puccinia horiana* Henn. causante de la roya blanca del crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23, 79-86. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/612/61223112.pdf>

García, V. R., Zabaleta, M.E., Rojas, M. R.I., y Fuentes, D. G. (2005). Antagonismo de *Cladosporium* sp. contra *Puccinia horiana* Henn. causante de la roya blanca del crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 23: 79-86. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/612/61223112.pdf>

Gómez-De La Cruz, I. Pérez-Portilla, E., Escamilla-Prado, E., Martínez-Bolaños, M., Carrión-Villarnovo., Gloria Luz L., y Hernández-Leal, Tl. (2018). Selection *in vitro* of mycoparasites with potential for biological control on Coffee Leaf Rust (*Hemileia vastatrix*). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 172-183. DOI: <http://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1708-1>

Guerrero, P. V.O., Blanco, P. A., Guigón, L. C., Tamayo, U. C., Molina, C. F., Berlanga, R. D., Carvajal, M.E., y Ávila, Q. G. (2011). Competencia por nutrientes; modo de acción de *Candida oleophila* contra *Penicillium expansum* y *Botrytis cinerea*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 29(2), 90-97. Recuperado de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092011000200001

Gupta, V. Schmoll, M. Herrera, A., Upadhyay, R., Druzhinina, I., and Tuohy, M. (2014). *Biotechnology and biology of Trichoderma*. Elsevier. Netherlands. pp 319-334.

Gutiérrez, A., Gutiérrez, A., Miceli, C., y López, M. (2022). Efectos de *Bacillus subtilis* cepas GBO3 y IN937b en el crecimiento de maíz (*Zea mays* L.). *Polibotánica*, 53(27), <https://doi.org/10.18387/polibotanica.53.14>

Harman, GE., Petzoldt, R., Comis, A., and Chen, J. (2004). Interactions between *Trichoderma harzianum* Strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. *Phytopathology*, 94(2), 147-53. doi: 10.1094/PHYTO.2004.94.2.147. PMID: 18943537

Hassler, M., Roskov, Y., Ower, G., Orrell T., Nicolson, D., Bailly, N., Kirk. P.M., Bourgoin, T., DeWalt, R.E., Decock, W., Nieukerken, E., Zarucchi, J., and Penev. L. (2019). Catalogue of life, Annual Checklist. Recovered from: <http://www.catalogueoflife.org/annualchecklist/2019/details/species/id/be1879ee46bdef5aa98099f7f89b934c>

Heather, J. S. (2020). California pest rating proposal for *Coleosporium solidaginis* (Schwein.) Thüm. 1878 Pine needle rust/Solidago rust. CDFA/PHPPS ECOPERS. Sacramento, CA. EE. UU. Recuperado de: <https://blogs.cdfa.ca.gov/Section3162/wp-content/uploads/2020/12/Coleosporium-solidaginis-PRP-ADA.pdf>

Hernández, C., López, L., y Sánchez, L. (2021). Agentes de control biológico de la roya del café ¿Cómo funcionan y qué tan efectivos son? *BioTecnología*, 25(1). Recuperado de: <https://smbb.mx/wp-content/uploads/2021/05/Hernandez-et-al.-2021.pdf>

Hernández, H. M. (2019). Evaluación *in vitro* de *Metarhizium anisopliae* como control biológico sobre *Hemileia vastatrix* agente causal de la roya del café. Tesis

de licenciatura. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, Méx.
Recuperado de: <https://repositorioinstitucional.buap.mx/items/7a3657ab-b329-4f43-a800-73a8aaa71833>

Hernández, M. D., Ferrera, C. R., y 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. Recuperado de: <https://revistas.udec.cl/index.php/chjaas/article/view/993>

Higueta, A., Restrepo, A., y Posada, L. (2019). Desarrollo de un bioinsumo agrícola con base en un consorcio de *Bacillus subtilis*- *Pseudomonas* sp. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. url: <https://hdl.handle.net/20.500.12371/14731>

Howell, C. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87(1), 4-10. doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.1.4

Ibarra, V., Ferrera, R., Alarcon A., Lara, M., y Valdez, J. (2010). Aislamiento y selección de cepas de *Trichoderma* antagonistas a *Sclerotinia sclerotiorum* y *Sclerotinia minor*. *Revista Mexicana de Microbiología*, 31, 53-63. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/883/88316010008.pdf>

Infante, D., Martínez, B., González, N., y Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14-21. Recuperado de: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002&lng=es&tlng=es

Jiménez, R., Valdés, S., Olalde, V., Abraham, R., y García, J. (2018). Efecto del pH y temperatura sobre el crecimiento y actividad antagónica de *Bacillus subtilis*

sobre *Rhizoctonia solani*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(2), 256-275.

DOI: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1711-3>

Kirk P.M., Roskov, Y., Ower, G., Orrell T., Nicolson, D., Baily, N., Bourgoin, T., DeWalt, R.E., Decock, W., Nieukerken, E., Zarucchi, J., and Penev. L. (2019). Catalogue of life, Annual Checklist. Recovered from: <http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019/search/all>

Kokab, S., Asgar, M., Rehman, K., Asad, M., and Adedyo, O. (2003). Bio-processing of banana peel for α -Amylase production by *Bacillus subtilis*. *International Journal of Agriculture & Biology*. 5(1), 36-39. Recuperado de: https://www.researchgate.net/publication/237753140_BioProcessing_of_Banana_Peel_for_alpha-Amylase_Production_by_Bacillus_subtilis

Laredo, E., Martínez, J., Guillen, L., y Hernández, F. (2017). Aplicación de ácido jasmónico como inductor de resistencia vegetal frente a patógenos. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 8(3), 673-683. DOI: <https://doi.org/10.29312/remexca.v8i3.40>

López, F. H. (2023). Aislamiento de *Trichoderma asperellum* y su efectividad *in vitro* frente a *Rosellinia necatrix*, *Verticillium dahliae* y *Botrytis cinerea*. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. Tenancingo, México. URI: <http://hdl.handle.net/20.500.11799/139362>

Maldonado, E., Ochoa, D. L., y Tlapal, B. (2008). Efecto del ácido acetil salicílico y *Bacillus subtilis* en la infección causada por *Cucumber mosaic virus* en calabacita. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 14(1), 55-59. Recuperado de: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2008000100008&lng=es&tlng=es.

Martínez, B., Infante, D., y Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1-11. Recuperado de: <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>

- Martínez, T. V. (2020). Afectividad de *Trichoderma* spp. sobre *Puccinia horiana* y respuesta en el crecimiento de *Chrysanthemum morifolium* var. Delano. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. Tenancingo. México. URI: <http://hdl.handle.net/20.500.11799/109894>
- McTaggart, A. R., and Aime, M.C. (2018). The species of *Coleosporium* (Pucciniales) on solidago in North America. *Fungal Biology*, 122(8), 800-809. DOI: 10.1016/j.funbio.2018.04.007
- Méndez, J., Flore, M., y Páramo, L. (2017). Aislamiento e identificación de *Bacillus subtilis* y evaluación del antagonismo *in vitro* frente hongos fitopatógenos. *Nexo Revista Científica*, 30(2), 96-11. DOI: <https://doi.org/10.5377/nexo.v30i2.5530>
- Moreno, A., García, V., Reyes, J., Vásquez, J., y Cano, O. (2018). Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal: una alternativa de biofertilización para la agricultura sustentable. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 20(1), 68-83. <https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v20n1.73707>
- Orozco, M., y Mendoza, M. (2003). Competitividad local de la agricultura ornamental en México. *CIENCIA ergo-sum. Revista Científica Multidisciplinaria de Prospectiva*, 10(1), 29-42. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=10410104>
- Orrell, T., Roskov, Y., Ower, G., Orrell T., Nicolson, D., Bailly, N., Kirk. P.M., Bourgoin, T., DeWalt, R.E., Decock, W., Nieukerken, E., Zarucchi, J., and Penev. L. (2019). Catalogue of life, Annual Checklist. [en línea] Disponible en:<<http://www.catalogueoflife.org/annualchecklist/2019/details/species/id/e3fb82544d13334e47536956ca818d7e>>
- Páez, S. (2011). Acumulación de horas luz y su efecto en el desarrollo, crecimiento y floración de aster y solidago, bajo condiciones de cubierta, en MG

- Consultores, Chia-Cundinamarca. Universidad de Ciencias Aplicadas y Ambientales. Disponible en: <https://repository.udca.edu.co/handle/11158/155>
- Parada, P., Cerdán, C., Ortiz, G., Barradas, V., y Cervantes, J. (2021). *Hemileia vastatrix*: una prospección ante el cambio climático. *Ecosistemas y Recursos Agropecuarios*, 17(3), e2507 <https://doi.org/10.19136/era.a7n3.2507>
- Pardo, C. V. (2006). Uredinales de plantas cultivadas de interés floral en Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 59(1), 3335-3353. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179914074016>
- Pérez, D. (2016). Evaluación del efecto de la inoculación de *Bacillus* spp. con potencial fijador de nitrógeno en cultivos de *Chlorella sorokiniana*. Tesis de Ingeniería. Universidad EAFIT, Medellín, Colombia. Recuperado de: <https://repository.eafit.edu.co/items/32dc2f12-45a6-4a3b-a1fe-6fb5a7ddadb>
- Pérez, M. L., Belmonte, V. J., Nuñez, P. H., Guzmán, M. R., y Mendoza, C. B. (2015). Sensibilidad *in vitro* de dos especies de *Sclerotinia* spp. y *Sclerotium cepivorum* a agentes de control biológico y fungicidas. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 33(2), 256-267. Recuperado de: https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092015000200256
- Pieterse, C., Zamioudis, C., Berendsen, R., Weller, D., Van Wees, S., and Bakker, P. (2014). Induced systemic resistance by beneficial microbes. *Annu Rev Phytopathol*, 52, 347-75. DOI: 10.1146/annurev-phyto-082712-102340
- Price, J. S., Bever, J. D., and Clay, K. (2004). Genotype, environment, and genotype by environment interactions determine quantitative resistance to leaf rust (*Coleosporium asterum*) in *Euthamia graminifolia* (Asteraceae). *New Phytologist*, 162, 729-743. <https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.2004.01082.x>
- Ragazzo, J., Robles, A., Lomelí, L., Luna, G., y Calderón, M. (2011). Selección de cepas de *Bacillus* spp. productoras de antibióticos aisladas de frutos

- tropicales. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 17(spe1), 5-11. Recuperado de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1027-152X2011000400002
- Ramírez, J. y Avitia, J. (2015). Floricultura Mexicana en el Siglo XXI: su desempeño en los mercados internacionales. *Revista de Economía*, 34(88), 101-122. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/6740/674070980004.pdf>
- Ramírez, R.R., Castañeda, H. E., Robles, C., Santiago, M. G., Pérez, L. M. y Trejo, S. (2021). Efectividad de biofungicidas para el control de la roya en plántulas de café. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(6), 1403-1412. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i6.2614>
- Rares, A. N., Senewe, E., Manengkey, G. S. J., and Ratulangi, M. M. (2015). Efektivitas mikroorganisme antagonis terhadap penyakit karat putih pada tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) di kota Tomohon. *COCOS Journal*, 6(10), 1-12. Recuperado de: <https://ejournal.unsrat.ac.id/index.php/cocos/article/view/8217/7776>
- Realpe, M., Hernández, C., y Agudelo, C. (2002). Especies del género *Bacillus*: morfología macroscópica y microscópica. *Biomédica*, 22(2), 106-109. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/843/84322204.pdf>
- Ridgeway, B. (2013). Organismos y sus aplicaciones en los indicadores biológicos. *Spore News*, 10(1). Recuperado de: <https://www.tiselab.com/spore%20news/spore%20news%2010.1.pdf>
- Rinzo, S. (1994). Outbreak of alfalfa *Verticillium* wilt in hokkaido. *JARQ.*, 28, 44-51. Recuperado de: https://www.jircas.go.jp/sites/default/files/publication/jarq/28-1-044-051_0.pdf
- Rodríguez, D., y Vargas, J. (2022). Efecto de la inoculación con *Trichoderma* sobre el crecimiento vegetativo del tomate (*Solanum lycopersicum*). *Agronomía Costarricense*, 46(2), 47-60. <http://dx.doi.org/10.15517/rac.v46i2.52045>

- Rojas, D., Contreras, M., y Santoyo, G. (2013). Mecanismos de estimulación del crecimiento vegetal en bacterias del género *Bacillus*. *Biológicas*, 15(2), 36-41. Recuperado de: <http://www.scielo.org.co/pdf/abc/v25n1/0120-548X-abc-25-01-112.pdf>
- Romero, A. O., Huerta, L.M., Damián, H. M., Domínguez, H. F., y Arellano, V. D. (2009). Características de *Trichoderma harzianum*, como agente limitante en el cultivo de hongos comestibles. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 11(2), 143-151. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=77613172015>
- Romero, G. M., y García, R.F. (2001). Introducción al cultivo de solidago. Comunidad Autónoma de la Región de Murcia Consejería de Agricultura, Agua y Medio Ambiente. pp. 3-18
- Roongsawang N., Thaniyavarn J., Thaniyavarn S., Kameyama T., Haruki M., Imanaka T., Morikawa M., and Kanaya, S. (2002). Isolation and characterization of a halotolerant *Bacillus subtilis* BBK-1 which produces three kinds of lipopeptides: bacillomycin L, plipastatin, and surfactin. *Extremophiles*. 6, 499-506. DOI: 10.1007/s00792-002-0287-2
- Ruíz, M., Ornelas, J., Olivas, G., Acosta, C., Sepúlveda, D., Pérez, D., Ríos, C., Salas, M., y Fernández, S. (2018). Efecto de *Trichoderma* spp. y hongos fitopatógenos sobre el crecimiento vegetal y calidad del fruto de jitomate. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(3), 444-456. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1804-5>
- Rzedowski, G. C., y Rzedowski, J. (2010). Flora fanerogámica del Valle de México. 2a ed. Instituto de Ecología y Comisión Nacional para el Conocimiento y Uso de la Biodiversidad. Pátzcuaro, Michoacán, México. pp. 837-839.

Saharan, G.S., and Mehta, N. (2008). Sclerotinia diseases of crop plants: biology, ecology and disease management. Fifth Edition. Springer Science, Business Media B.V. New Delhi, Indian. DOI:10.1007/978-1-4020-8408-9

Salazar, Y. M., y Buriticá, C. P. (2012). Nuevos registros de royas (Pucciniales) en plantas de interés agronómico y ornamental en Colombia. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 65(2), 6691-6696. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=179925831014>

Salazar-Yepes, M. (2021). Pucciniales (Royas) del departamento de Antioquia. Universidad Nacional de Colombia. Facultad de Ciencias. pp. 51-52. Recuperado de: https://ciencias.medellin.unal.edu.co/centros/centro-editorial/images/libros-gratis/PUCCINIALES_compressed.pdf

Santos, A., y Samudio, A. (2020). Evaluación del efecto de la inoculación de *Bacillus subtilis* en el pH, aluminio intercambiable y disponibilidad de fósforo en un ultisol. *Revista Investigaciones Agropecuarias*, 2(2), 15-30. Recuperado de: <http://portal.amelica.org/ameli/jatsRepo/222/2221320002/index.html>

SIACON. (2024). Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. Versión electrónica. SIAP. México.

SIAP [Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera]. (2024). Monografías de productos agroalimentarios mexicanos. Solidago. Recuperado de: <https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/726327/Solidago.pdf>.

Sofo, A., Tataranni, G., Xiloyannis, C., Dichio, B. y Scapa, A. (2012). Efectos directos de *Trichoderma harzianum* cepa T-22 sobre brotes micropropagados de portainjerto GiSeLa6® (*Prunus cerasus* × *Prunus canescens*). *Botánica Ambiental y Experimental*, 76, 33-38. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2011.10.006>

Stocco, M. (2014). Control biológico de *Mycosphaerella graminicola*, patógeno del trigo, con cepas de *Trichoderma harzianum* caracterizadas por su morfología,

fisiología, actividad enzimática y molecular. Tesis de Doctorado. Universidad Nacional de la Plata. Recuperado de: <https://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/42904>

Tejera, B., Rojas, M., y Heydrich, M. (2011). Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de hongos fitopatógenos. *Revista CENIC Ciencias Biológicas*, 42(3), 131-138. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/1812/181222321004.pdf>

Valenzuela, V., Gálvez, G., Villa, E., Parra, F., Santoyo, G., y Santos, S. (2020). Lipopéptidos producidos por agentes de control biológico del género *Bacillus*: revisión de herramientas analíticas utilizadas para su estudio. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 11(2), 419-432 <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i2.2191>

Vences-Contreras, C., y Vázquez-García, L. (2008). Inoculación *in vitro* de la roya blanca (*Puccinia horiana* Hennings) en crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). *Agronomía Mesoamericana*, 19(1), 81-85. URI: <http://hdl.handle.net/20.500.11799/39249>

Villarreal, D. M., Villa, R. E., Cira, C. L., Estrada, A. M., Parra, C.F. y Santos, V. S. (2018). El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 95-130. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1706-5>

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E., Ruocco, M., Woo, S., y Lorito, M. (2012). *Trichoderma* secondary metabolites that affect plant metabolism. *Natural Product Communications*, 7(11), 1545-1550. <https://doi.org/10.1177/1934578X1200701>

Vitti, A., Pellegrini, E., Nali, C., Lovelli, S., Sofo, A., Valerio, M., Scopa, A., and Nazzaci, M. (2016). *Trichoderma harzianum* T-22 induces systemic

resistance in tomato infected by *Cucumber mosaic virus*. *Frontier in Plant Science*, 7, 1-11. DOI: 10.3389/fpls.2016.01520

Zhao, P., Li, Y., Li, Y., Liu, C. Liang, J., Zhou, X., y Cai, L. (2022). Applying early divergent characters in higher rank taxonomy of *Melampsorineae* (Basidiomycota, Pucciniales). *Mycology*, 14(1), 11-36. doi.org/10.1080/21501203.2022.2089262

Zubieta, C. D., Echeverry, P. L., y Zafra, M. C. (2021). Antagonismo *in vitro* por consorcios de *Trichoderma* sp. y *Aspergillus* sp. contra el fitopatógeno *Sclerotinia* sp. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 19(1), 16-31. DOI: [https://doi.org/10.18684/BSAA\(19\)16-31](https://doi.org/10.18684/BSAA(19)16-31)

Zuluaga, C., Buriticá, C. P., y Marín, M. M. (2008). Generalidades de las uredinales (Fungi: basidiomycota) y de sus relaciones filogenéticas. *Acta Biológica Colombiana*, 14(1), 41-5. Recuperado de: <https://www.redalyc.org/pdf/3190/319027882003.pdf>

12 ANEXO. DISEÑO DE UNA ESCALA DIAGRAMÁTICA DE SEVERIDAD

Ante la falta de una escala de severidad para la cuantificación de la roya del solidago, se diseñó una escala diagramática. Para esto, a partir de un cultivo de solidago ubicado en San Juan Tetitlan, Tenancingo, Estado de México, se colectaron hojas con síntomas típicos de la roya, de las cuales se tomaron fotografías y enseguida se determinó el porcentaje de severidad a través del programa Image J (versión 1.43).

Con base en los datos anteriores se generó una escala diagramática conformada por siete clases en las que se representaron diferentes niveles de daño provocados por la roya. Como puede observarse en la siguiente figura, la clase 0 correspondió a hoja sana y la clase 6 a hoja con severidad entre 26.1-50%. Cabe señalar que hojas con daño mayor a esta última clase no permitieron distinguir y separar los colores de las áreas sanas de las enfermas, ya que posterior a este nivel se da la coalescencia de las pústulas, seguido de la necrosis de la hoja y la posterior defoliación.



Escala diagramática para cuantificar la severidad de la roya del solidago, integrada por siete clases: A) Clase 0: hoja sana, de color verde intenso. B) Clase 1: hoja con lesiones primarias de color anaranjado, con severidad entre 0.01-1 %. C) Clase 2: hoja con pústulas de color anaranjado, con severidad entre 1.1-3 %. D) Clase 3: hojas con pústulas que presentan coalescencia y severidad entre 3.1-6 %, además de la aparición de primeras pústulas maduras de color blanquecino. E) Clase 4: Hoja con abundantes pústulas con severidad de 6.1-12 %. F) Clase 5: Hoja con severidad entre 12.1-26 %. G) Clase 6: Hoja con severidad entre 26.1-50%, y pústulas con halos cloróticos.