

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO



Trichoderma (Hypocreaceae: Hypocreales) Aislado de Zonas Tropicales y su Efecto *in vitro* sobre *Colletotrichum acutatum* (Glomerellales: Glomerellaceae) SGO Asociado a Antracnosis en el Cultivo de Limón Persa (*Citrus x latifolia*) en Veracruz, México

Por:

DAYSÍ GIOVANNA MEJÍA AVILÉZ

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Saltillo, Coahuila, México

Febrero 2025

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA
DEPARTAMENTO DE FITOMEJORAMIENTO

Trichoderma (Hypocreaceae: Hypocreales) Aislado de Zonas Tropicales y su Efecto
in vitro sobre *Colletotrichum acutatum* (Glomerellaceae: Glomerellales) SGO Asociado
a Antracnosis en el Cultivo de Limón Persa (*Citrus x latifolia*) en Veracruz, México

Por:

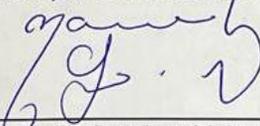
DAYSI GIOVANNA MEJÍA AVILÉZ

TESIS

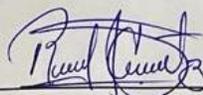
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

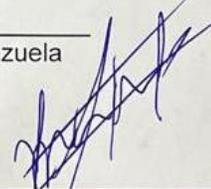
Aprobada por el Comité de Asesoría:



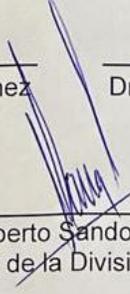
Dra. Nadia Landero Valenzuela
Asesor Principal



Dra. Rosalinda Cervantes Martínez
Coasesor



Dr. Francisco Alfonso Gordillo Melgoza
Coasesor



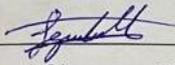
Dr. Alberto Sandoval Rangel
Coordinador de la División de Agronomía

Saltillo, Coahuila, México

Febrero de 2025

Declaración de no plagio

El autor principal quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir verdad que no se incurrió en plagio o conducta académica incorrecta en los siguientes aspectos: Reproducción de fragmentos o textos sin citar la fuente o autor original (corta y pega); reproducir un texto propio publicado anteriormente sin hacer referencia al documento original (auto plagio); comprar, robar o pedir prestados los datos o la tesis para presentarla como propia; omitir referencias bibliográficas o citar textualmente sin usar comillas; utilizar ideas o razonamientos de un autor sin citarlo; utilizar material digital como imágenes, videos, ilustraciones, graficas, mapas o datos sin citar al autor original y/o fuente, así mismo tengo conocimiento de que cualquier uso distinto de estos materiales como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por las autoridades correspondientes. Por lo anterior me responsabilizo de las consecuencias de cualquier tipo de plagio en caso de existir y declaro que este trabajo es original.



Daysi Giovanna Mejía Aviléz

AGRADECIMIENTOS

Agradezco a **Dios**, quien ha sido mi guía constante en este camino lleno de retos y aprendizajes. Este logro, tan anhelado, es el fruto de un esfuerzo incansable, pero también de su infinita gracia, que me ha sostenido en los momentos de mayor dificultad. A él agradezco por darme la fuerza cuando sentía desfallecer, por iluminar mi mente en los momentos de duda y por regalarme la esperanza necesaria para no rendirme nunca. Este triunfo es testimonio de su amor incondicional y de la fe que me ha permitido avanzar con determinación.

A mi amada madre, **Cristina Aviléz Ramírez**, quien me dio la vida y ha entregado todo de sí para que yo pueda cumplir mis sueños. No existirían palabras suficientes ni el tiempo sería suficiente para expresar cuánto te amo y cuán afortunada me siento de tenerte a mi lado. Cada abrazo tuyo, cada palabra de aliento, incluso en la distancia, han sido el pilar que me ha sostenido en los momentos más difíciles y la luz que ha guiado mi camino. Gracias, mamá, por darme la oportunidad de explorar nuevos horizontes, por enseñarme a volar con la certeza de que siempre estarás ahí para mí. Eres el amor más grande de mi vida, mi refugio y mi mayor inspiración. Te llevo conmigo en cada paso, en cada logro y en cada sueño cumplido.

A mi querido padre, **Ramón Mejía García**, gracias por cada sacrificio que hiciste para que hoy pueda estar aquí, cumpliendo mis sueños. Gracias por enseñarme el valor de la lucha, por demostrarme con tu ejemplo que nunca debo rendirme ante los desafíos y que cada meta es alcanzable con esfuerzo y perseverancia. Tu apoyo incondicional y tus palabras de aliento han sido la fuerza que me impulsa a seguir adelante, siempre buscando mi bienestar y el de quienes amo. Pero, sobre todo, te agradezco por haberme dado la oportunidad de vivir una vida distinta, con más posibilidades, con más caminos abiertos gracias a tu entrega y dedicación. No tengo duda de que siempre has sido y seguirás siendo una pieza clave en cada uno de mis logros. Todo lo que soy y todo lo que alcanzaré lleva impreso tu amor, tu esfuerzo y tu inquebrantable fe en mí.

A mi querida hermana **Elizabeth Magali**, mi compañera de vida y el ejemplo más puro de fortaleza que conozco. Gracias por amarme incondicionalmente, por cuidar de mí en cada paso del camino, por compartir mis alegrías y secar mis lágrimas cuando ha sido necesario.

Fuiste el alma de mi infancia, llenándola de risas, complicidad y amor, y aún hoy sigues dándome motivos para seguir adelante. No importa la distancia ni el tiempo, porque te llevo conmigo siempre, en cada recuerdo, en cada logro y en cada sueño que persigo. Tenerte como hermana es uno de los regalos más valiosos que la vida me ha dado.

A mi hermanito **Kevin**, el niño de mis ojos, la luz que llegó a llenar nuestro hogar de una alegría inmensa. Tus risas y travesuras tienen el poder de borrar cualquier preocupación, de iluminar incluso los días más difíciles. Estar lejos de casa estos años me ha hecho comprender aún más la felicidad que encuentro a tu lado y lo mucho que duele no verte cada día. Sin embargo, cada esfuerzo, cada paso que doy, lo hago pensando en ti y en el futuro que deseo para ti. Quiero que veas hasta dónde se puede llegar con determinación y sueños firmes, que descubras el mundo con asombro y sin límites. Más que nada en esta vida, anhelo que la vida te trate con bondad, que cada camino que emprendas esté lleno de oportunidades y felicidad. Te amo infinitamente, con un amor tan grande que no hay distancia ni barrera que lo disminuya. Daría todo por ti, porque eres y siempre serás mi mayor tesoro.

A mis amados **Eduin y Osvaldo**, Ustedes son la luz más brillante en mi vida, la alegría inmensa que ha llenado cada rincón de mi corazón. Aunque aún no comprendan del todo el significado de muchas cosas, quiero que sepan cuánto han transformado mi mundo. En los momentos más oscuros, han sido mi refugio, mi esperanza y mi mayor motivo para seguir adelante. Eduin, con tu risa contagiosa y esos bailes que iluminan cualquier día gris, y Osvaldo, con tu energía inagotable y tus travesuras que llenan de vida cada instante... No tienen idea de cuánto los amo. Mi mayor deseo es poder tenerlos siempre cerca, verlos crecer y acompañarlos en cada paso que den. Para mí, son y siempre serán como mis propios hijos, y aquí estaré, incondicionalmente, cada vez que me necesiten. Con todo mi amor, siempre.

A mis amados abuelos, **Zenón y Enriqueta**, Ustedes han sido el más puro ejemplo de amor incondicional, pero también de resiliencia y sacrificio. A través de los años, he visto en ustedes la fortaleza de quienes han enfrentado dificultades con valentía, sin perder jamás la capacidad de amar con todo el corazón. Lamento profundamente cada obstáculo que la vida les puso en el camino, pero al mismo tiempo, agradezco con el alma que hoy estén a mi lado, brindándome su amor y apoyo inquebrantable. A la

distancia, su cariño ha sido mi refugio y su ejemplo, mi mayor inspiración. Gracias por sostenerme aun cuando estaba lejos de casa, por recordarme con su amor que nunca estoy sola. Este logro que hoy celebro, y todos los que vendrán, los dedico a ustedes, porque sin su luz, su guía y su amor infinito, este camino habría sido mucho más difícil. Con todo mi amor y gratitud, siempre.

A mis amados abuelos **Antonio y Antonia**, Con el corazón lleno de gratitud, quiero agradecerles por haberme enseñado a amar y cultivar la tierra, no solo como un oficio, sino como una conexión profunda con la vida misma. Gracias a ustedes comprendí que trabajar la tierra es un acto de amor, paciencia y entrega, tal como ustedes lo han hecho con tanto esmero a lo largo de los años. Su apoyo incondicional y su cariño han sido un refugio en mi camino. No hay palabras suficientes para expresar cuánto significan para mí, ni manera alguna de pagar todo lo que han hecho por mí. Pero hoy, con orgullo y con el más profundo amor, les dedico cada uno de mis logros, porque en cada paso que he dado, han estado en mi pensamiento y en mi corazón. Gracias por ser mi raíz y mi inspiración.

A **Sandra Escalera Corrales** gracias por llegar en el momento preciso y ayudarme a juntar cada uno de los pedacitos cuando todo se había roto, eres muy especial y gracias por animarme siempre y sacar la mejor versión de mí, te debo tanto y agradezco a Dios por ponerte en mi camino.

Agradezco a la **Dra. Nadia Landeros Valenzuela** por darme su apoyo y asesoramiento en este proyecto, que sin duda alguna su paciencia y profesionalismo fue clave dentro de él. por brindarme sus consejos y escucharme en todo momento demostrando que pese a su increíble trabajo como profesora e investigadora se preocupa por el bienestar de sus alumnos.

Agradezco con todo mi corazón a mis queridos amigos **Sandra Escalera, Daniela Gallardo, Ana Robles, Carla Gallegos, Fernanda León, Alexa Romero, Andrea Montero, Carlos Rodríguez, Eduardo Antonio, Aaron Cárdenas, Jesús Flores, Luis Cárdenas y Cesar Mata**. por formar parte de mi vida universitaria. En los momentos difíciles, ustedes estuvieron ahí, brindándome su apoyo incondicional y recordándome que no estaba sola. Cada risa compartida, cada anécdota vivida y cada instante juntos han dejado una huella imborrable en mi corazón. Este viaje no habría sido igual sin su

compañía, su energía y el lazo único que hemos construido. Gracias por hacer de esta etapa una experiencia inolvidable, llena de momentos irrepetibles que siempre atesoraré. Son parte esencial de este logro, y por ello, siempre estaré agradecida.

A Daniel Prado Palermo (†), estas palabras están llenas de gratitud y amor eterno. Hoy, más que nunca, comprendo el valor de cada enseñanza que me dejaste, de cada consejo que con tanto cariño me diste. Agradezco profundamente a Dios y a la vida por haber cruzado nuestros caminos, porque gracias a ti soy quien soy y estoy aquí, logrando lo que un día soñé. Cómo desearía que estuvieses a mi lado para celebrar juntos este momento, pero sé que, desde donde estás, me acompañas y sigues iluminando mi camino. Gracias por enseñarme a no rendirme, a creer en mí incluso cuando parecía imposible. Has sido y serás siempre una parte fundamental de mi vida, tanto personal como profesional. Hoy, con el corazón lleno de recuerdos y gratitud, envío un beso hasta el cielo, donde sé que me observas con orgullo. Gracias por ser mi guía, mi fuerza y mi inspiración eterna.

Con el corazón rebosante de gratitud, agradezco a mi **Alma Terra Mater**, mi lugar de aprendizaje y crecimiento, por haberme brindado un hogar donde los sueños se transformaron en metas y las metas, en logros. En sus pasillos y aulas encontré no solo conocimiento, sino también un refugio lleno de alegrías, desafíos y momentos que moldearon mi ser. Pertenecer a esta gran institución ha sido una aventura grandiosa, una experiencia que me ha retado a superar mis límites, a soñar más alto y a valorar cada enseñanza. Hoy, al mirar hacia atrás, solo puedo sentir un profundo orgullo y agradecimiento por haber sido parte de este viaje único.

A quienes han participado en este proyecto,
¡Muchas gracias!

DEDICATORIAS

Creo firmemente que en esta vida todos tenemos el derecho de soñar y, aún más, de hacer realidad esos sueños. Sin embargo, los sueños y las metas no se cumplen por sí solos; se construyen día a día, con pasos pequeños pero firmes. Hoy, al alcanzar mi mayor sueño, mi meta más grande, miro atrás y veo que cada sacrificio, cada esfuerzo, cada lágrima y cada noche en vela han valido la pena. Nada de esto hubiera sido posible sin el apoyo incondicional de mis padres, quienes creyeron en mí desde el primer momento y me impulsaron a estudiar en una de las mejores universidades de agronomía del país. Fue su esfuerzo el que me sostuvo cuando pensé que todo estaba perdido. Fue su amor el que me dio fuerzas cuando la distancia de mi hogar dolía más de lo que podía soportar. Fueron sus palabras las que me recordaron que sí estaba hecha para esto, incluso cuando yo misma lo dudé. Cada desvelo, cada desafío superado, cada momento de incertidumbre ha forjado a la mujer que soy hoy, una mujer de la que me siento profundamente orgullosa. Y a esa versión más joven de mí misma, a la que tomó la valiente decisión de seguir este camino y jamás se rindió a pesar de los tropiezos, le agradezco con todo mi corazón.

Hoy, la mujer en la que me he convertido agradece **a Dios** por ponerme siempre en el lugar correcto, **a mis hermanos** por su amor incondicional y, sobre todo, **a mis padres**, Ramón y Cristina, por darme las oportunidades que ellos no tuvieron. Este logro no es solo mío, es de ustedes, porque sin su apoyo y sacrificio nada de esto habría sido posible. Hoy, la vida y Dios nos regalan esta alegría, esta recompensa tan merecida. Celebren y disfruten, porque este título, con todo mi amor y gratitud, es para ustedes.

Índice de contenido

Índice de Cuadros	i
Índice de Figuras	ii
Índice de Gráficas.....	iii
Resumen.....	iv
Abstrac.....	v
1 Introducción.....	15
2 Objetivos	17
3 Hipótesis	17
4 Revisión de Literatura	17
4.1 Generalidades del cultivo.....	17
4.1.1 Origen.....	18
4.1.2 Morfología.....	18
4.1.3 Clasificación Taxonómica.....	19
4.1.4 Usos e Importancia	20
4.1.5 Producción en México.....	20
4.1.6 Contenido Nutritivo	22
4.1.7 Manejo Agronómico	23
4.1.8 Etapas De Desarrollo.....	24
4.1.9 Condiciones Edáficas	25
4.1.10 Plagas y Enfermedades.....	26
4.2 <i>Colletotrichum acutatum</i>	30
4.2.1 Clasificación Taxonómica.....	30
4.2.2 Características Morfológicas.....	30
4.2.3 Importancia De <i>Colletotrichum acutatum</i> en la agricultura.....	31
4.2.4 Importancia de <i>Colletotrichum acutatum</i> en Cítricos	31

4.2.5Ciclo de Vida	31
4.2.6Síntomas y Daños	32
4.2.7 Control.....	33
4.3 <i>Trichoderma</i>	35
4.3.1 Clasificación Taxonómica.....	35
4.3.2Importancia de <i>Trichoderma</i> en la Agricultura	36
4.3.3Mecanismos De Acción	36
5 Materiales y Métodos	39
5.1Descripción del área de estudio	39
5.2Material vegetal	40
5.3Material Fúngico	40
5.3.1Aislamiento e identificación de <i>Colletotrichum acutatum</i>	40
5.3.2Aislamiento e identificación de las cepas de <i>Trichoderma</i>	40
5.4 Bioensayo <i>in vitro</i>	41
5.4.1Mecanismos de acción de <i>Trichoderma</i>	41
6 Resultados y Discusiones	43
6.1Actividad antagónica por parasitismo <i>in vitro</i> de cepas de <i>Trichoderma</i> aisladas de zonas tropicales en contra de <i>Colletotrichum acutatum</i>	43
6.1.1Colonización	43
6.1.2Inhibición de crecimiento de <i>Colletotrichum</i>	46
6.2 Actividad antagónica por antibiosis (metabolitos volátiles y no volátiles)49	
6.2.1Crecimiento de <i>Colletotrichum</i> por metabolitos no volátiles	49
6.2.2Crecimiento radial de <i>Colletotrichum</i> por metabolitos volátiles.....	51
7 Conclusión	55
8 Literatura Citada.....	56
9 Anexos	60

Índice de Cuadros

Cuadro 1 Taxonomía de Limón Persa por Jardín Botánico de Missouri, EE. UU.	19
Cuadro 2 Volumen de producción de limón Persa en las principales entidades de México (SIAP, 2023).	21
Cuadro 3 Valor nutricional de limón Persa (por 100g) (Vanguardia, 2022).	22
Cuadro 4 Dosis de fertilización (Kg/árbol/año) para el cultivo del limón Persa.	24
Cuadro 5 Clasificación taxonómica de <i>Colletotrichum</i>	30
Cuadro 6 Clasificación taxonómica de <i>Trichoderma</i>	35
Cuadro 7 diseño experimental	41
Cuadro 8 Medidas de colonización de <i>Trichoderma</i> spp sobre <i>Colletotrichum acutatum</i> SGO aislado de flores de limón Persa.	43
Cuadro 9 Área bajo la curva de colonización de <i>Trichoderma</i> spp sobre <i>Collectotrichum acutatum</i> aislado de tejido de flores de limón Persa.	45
Cuadro 10 Inhibición de <i>Trichoderma</i> spp sobre <i>C. acutatum</i> SGO aislado de flores de limón Persa.	46
Cuadro 11 Área bajo la curva de inhibición <i>Trichoderma</i> sobre <i>Colletotrichum acutatum</i> aislado de flores de limón Persa.	48
Cuadro 12 Medias de crecimiento micelial de <i>C. acutatum</i> bajo tratamientos a base de metabolitos no volátiles de cepas de <i>Trichoderma</i> de zonas tropicales.	49
Cuadro 13 Área bajo la curva del crecimiento de diferentes cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Colletotrichum acutatum</i> aislado de tejido de flores de limón Persa.	51
Cuadro 14 Medidas de crecimiento micelial de <i>C. acutatum</i> bajo tratamientos a base de metabolitos volátiles de <i>Trichoderma</i> spp.	52
Cuadro 15 Área bajo la curva del crecimiento de diferentes cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>C. acutatum</i> aislado de tejido de flores de limón Persa.	54

Índice de Figuras

Figura 1 Principales Estados productores de limón Persa en México.....	21
Figura 2 Ubicación geográfica del área de estudio en Saltillo, Coahuila, México.	39

Índice de Gráficas

Gráfica 1 Colonización de diferentes cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Collectotrichum acutatum</i> por lectura tomada.....	44
Gráfica 2 Colonización de diferentes cepas de <i>Trichoderma</i> sobre <i>Colletotrichum acutatum</i> por lectura tomada.....	47
Gráfica 3 Representación gráfica de los resultados por lectura del crecimiento micelial de <i>C. acutatum</i> bajo tratamientos a base de metabolitos no volátiles de diferentes cepas de <i>Trichoderma</i> aisladas de zonas tropicales.	50
Gráfica 4 Representación gráfica de resultados de lectura del crecimiento micelial de <i>C. acutatum</i> bajo tratamientos a base de metabolitos volátiles de diferentes especies de <i>Trichoderma</i> aislado de zonas tropicales.	53

Resumen

La antracnosis es una enfermedad de gran relevancia en la producción citrícola, ya que puede generar pérdidas de hasta un 70 %, constituyéndose como el principal problema fitosanitario en el cultivo de limón. Actualmente, su control se basa en el uso de fungicidas químicos, cuyo empleo ha generado preocupación debido a los posibles efectos negativos en el ecosistema y en la salud humana. En este contexto, la presente investigación se enfoca en el aislamiento y evaluación de cepas de *Trichoderma* provenientes de zonas tropicales, con el objetivo de analizar su efecto *in vitro* sobre *Colletotrichum acutatum*, hongo responsable de la antracnosis en el limón persa. Para ello, el patógeno fue aislado a partir de flores con síntomas característicos de la enfermedad, se implementaron cinco tratamientos, incluido un testigo absoluto, cada uno con cuatro repeticiones. Las variables evaluadas incluyeron la capacidad de colonización de *Trichoderma* sobre el patógeno, así como la producción de metabolitos volátiles y no volátiles. Los resultados obtenidos señalan que algunas cepas de *Trichoderma* presentaron un alto potencial para reducir el crecimiento de *C. acutatum*. En particular, *Trichoderma harzianum* destacó por su alta capacidad de colonización sobre *Colletotrichum* (69.75%), mientras que *Trichoderma longibrachiatum* mostró resultados favorables en la inhibición del patógeno (71.04 %) y la producción de metabolitos volátiles y no volátiles inhibiendo el patógeno durante los primeros días, Estos hallazgos sugieren que estas cepas de *Trichoderma* podrían representar una alternativa viable para el control biológico de la antracnosis, reduciendo la dependencia del uso de agroquímicos.

Palabras clave: *Trichoderma*, antracnosis, limón Persa, *Colletotrichum acutatum*

Abstrac

Anthraco­nose is a highly relevant disease in citrus production, as it can cause losses of up to 70%, constituting the main phytosanitary problem in lemon cultivation. Currently, its control is based on the use of chemical fungicides, the use of which has generated concern due to the possible negative effects on the ecosystem and human health. In this context, the present research focuses on the isolation and evaluation of *Trichoderma* strains from tropical areas, with the aim of analyzing their *in vitro* effect on *Colletotrichum acutatum*, the fungus responsible for anthracnose in Persian lemon. To do this, the pathogen was isolated from flowers with characteristic symptoms of the disease, five treatments were implemented, including an absolute control, each with four repetitions. The variables evaluated included the colonization capacity of *Trichoderma* on the pathogen, as well as the production of volatile and non-volatile metabolites. The results obtained indicate that some *Trichoderma* strains had a high potential to reduce the growth of *C. acutatum*. In particular, *Trichoderma harzianum* stood out for its high colonization capacity on *Colletotrichum* (69.75%), while *Trichoderma longibrachiatum* showed favorable results in the inhibition of the pathogen (71.04%) and the production of volatile metabolites, and non-volatile ones inhibiting the pathogen during the first days. These findings suggest that these *Trichoderma* strains could represent a viable alternative for the biological control of anthracnose, reducing the dependence on the use of agrochemicals.

Keywords: *Trichoderma*, anthracnose, Persian lemon, *Colletotrichum acutatum*

1 Introducción

El cultivo de limón es uno de los más relevantes en el ámbito agrícola a nivel mundial debido a su alta demanda en mercados internacionales. México, reconocido como uno de los principales productores y exportadores de esta fruta, desempeña un papel fundamental en el suministro global, de tal manera que en el año 2023 se estimó una producción de 1,634,224.97 toneladas, Permitiendo así ganancias valoradas en 12,536,410.58 millones de pesos (SIAP, 2023). El limón es el segundo cítrico más importante en nuestro país, tanto por su consumo en fresco como por su uso industrial (SAGARPA, 2016). Sin embargo, la producción de limón enfrenta diversos desafíos que pueden comprometer su rentabilidad, entre estos factores destacan las plagas y enfermedades, que no solo disminuyen la calidad y cantidad del producto, sino que también incrementan significativamente los costos de producción

La antracnosis en México es una de las enfermedades más importantes que atacan especies de cítricos, es causada por un hongo del género *Colletotrichum* que afecta hojas, rama, flor y fruto por el hongo *Colletotrichum*, el cual se presenta durante la época de lluvias (INIFAP, 2018) (Guarnaccia et al., 2017). El cual es un modelo biológico de interés por sus características de fácil aislamiento, rápida multiplicación, y cortos periodos de incubación (Santos, 2004). Su impacto directo en la producción, en los últimos años ha cobrado gran importancia, llegando a ocasionar pérdidas hasta de un 70% (Bayer, 2018). Donde representa miles de pesos anuales en perjuicios, particularmente son un problema serio en regiones con características de clima tropical y subtropical (Bayer, 2018). Las condiciones climáticas y geográficas propician el desarrollo y propagación de este patógeno, exacerbando el problema, pese a que se usan diferentes tácticas para su manejo (Agrios, 2005). El uso de agroquímicos durante todo el ciclo del cultivo se hace manera exhaustiva. El método más utilizado para controlar esta y otras enfermedades es el químico, con resultados efectivos, pero con efectos residuales por la acumulación de sustancias tóxicas en cuerpos de agua, suelo, plantas y animales (Miller & Johnson, 2000).

El desarrollo e implementación de soluciones como el manejo biológico con organismos benéficos, el uso de extractos vegetales, y la aplicación de prácticas culturales adecuadas constituyen un enfoque integral para controlar la enfermedad de manera

eficiente. Estas medidas, no solo favorecen la productividad agrícola, sino que también contribuyen a la sostenibilidad del cultivo en regiones como Veracruz, donde las condiciones locales representan un desafío constante para los agricultores (INIFAP, 2018).

La enfermedad antracnosis es causada por hongos del género *Colletotrichum* spp., es el principal problema fitosanitario que afecta los tejidos jóvenes de árboles de limón. La presencia representa un factor clave que reduce la productividad de esta especie cítrica en áreas donde las lluvias constantes coinciden con el surgimiento de brotes vegetativos, la floración y las etapas iniciales del desarrollo de los frutos (Bayer, 2018).

En la agricultura orgánica se utilizan alternativas como los extractos vegetales porque garantizan el equilibrio de los ecosistemas y la inocuidad de los productos alimenticios (Orozco et al., 2010). Aunque en los últimos años aumentó el uso de hongos biocontroladores como *Trichoderma*, esto debido a su éxito en el control de fitopatógenos, como hongos y nematodos (Martínez-Canto, 2022). Por otra parte, el uso de esta solución natural no es solo un acto de respeto con el entorno, sino también una de las acciones más efectivas contra otros hongos fitopatógenos (Koppert, 2018). El éxito de las cepas de *Trichoderma* como agentes de control biológico se debe a su alta capacidad reproductiva, habilidad para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables (INTAGRI, 2017). Las distintas especies de *Trichoderma* emplean diversos mecanismos de control, entre los que se incluyen la competencia directa por espacio y nutrientes, la generación de metabolitos con actividad antibiótica y la inhibición de las enzimas producidas por los agentes patógenos, cabe señalar que, al reemplazar agroquímicos sintéticos por microorganismos benéficos, el productor ahorra en sus costos de producción (Chiriboga, 2015).

2 Objetivos

2.1 Objetivo general

Evaluar *in vitro* el efecto de cepas de *Trichoderma* aisladas de zonas tropicales en el desarrollo de la enfermedad causada por *Colletotrichum acutatum* SGO en un cultivo de limón Persa, en Veracruz, México.

2.2 Objetivo específico

1. Aislamiento e identificación a nivel de género de *Trichoderma* aislado de zonas tropicales con potencial para el manejo de *Colletotrichum acutatum* asociado a antracnosis en Limón Persa.
2. Evaluar la actividad antagónica por parasitismo *in vitro* de cepas aisladas de zonas tropicales, para el control de *Colletotrichum acutatum* asociado a antracnosis en Limón Persa.
3. Evaluar la actividad antagónica *in vitro* por antibiosis (metabolitos volátiles y no volátiles) de cepas de *Trichoderma* aisladas de zonas tropicales, para el control de *Colletotrichum acutatum* asociado a antracnosis en Limón Persa.

3 Hipótesis

La presencia de los mecanismos de acción de alguna de las cepas de *Trichoderma* aisladas de zona tropicales evaluadas en bioensayos *in vitro* tendrán un efecto en contra del desarrollo de *Colletotrichum acutatum* causante de antracnosis en flores en el cultivo de limón Persa en Veracruz, México.

4 Revisión de Literatura

4.1 Generalidades del cultivo

El limón persa (*Citrus latifolia* Tanaka), también conocido como limón Tahití, limón pérsico o limón sin semilla, es una fruta que presenta colores que varían entre verde, verde oscuro, verde alimonado y amarillo, dependiendo de su grado de maduración. Su forma es ovalada o globosa y contiene una pulpa jugosa, ácida y fragante, dividida en 9 a 12 gajos, con una cobertura delgada. Las dimensiones del limón persa oscilan entre 5.5 y 7 cm de largo, y entre 4.7 y 6.3 cm de diámetro, lo que lo hace ligeramente más grande que el limón mexicano. La adaptación de este cultivo a las condiciones climáticas de

México, en particular en las zonas citrícolas, ha propiciado su preferencia debido a su característica de no contener semillas. Su alto contenido de vitaminas C y B, así como sus propiedades antibacterianas y antivirales, lo convierten en un fruto de gran importancia y atractivo para la población mexicana.

4.1.1 Origen

El origen del limón persa (*Citrus latifolia*) se remonta a un cruce híbrido entre el limón verdadero (*Citrus lemon*) y la lima (*Citrus aurantiifolia*). Se cree que el limón Persa fue desarrollado en el Sureste Asiático y luego introducido en otras regiones, donde su cultivo se expandió gracias a su resistencia, tamaño y sabor (Gobierno de Mexico, 2018).

El limón Persa fue introducido a México a finales del siglo XIX. Aunque no hay una fecha exacta documentada para su llegada, se estima que su cultivo se comenzó a establecer en el país alrededor de 1880. México adoptó este cultivo a gran escala, especialmente en estados como Veracruz, Michoacán y Oaxaca, convirtiéndose en uno de los principales productores y exportadores de limón persa en el mundo (Gobierno de Mexico, 2018).

4.1.2 Morfología

El limón persa es un árbol de tamaño relativamente pequeño su copa es redonda, densa y simétrica, y pueden crecer hasta una altura de 6 a 7 metros (Martínez, 2020), aunque para facilitar su mantenimiento y cosecha, se recomienda mantenerlo en un rango de 3 a 4 metros en plantaciones comerciales (INIFAP, 2018).

El sistema radicular es profundo y extenso, las raíces tienen un color blanco, con una gran cantidad de pelos radiculares, que alcanzan zonas profundas (Martínez, 2020). Se ha documentado que el 80 % de las raíces de las plantas de lima ácida Tahití de diferentes portainjertos se encuentran en los primeros 60 cm de profundidad (Vanegas, 2002). Por lo que es ideal para absorber agua y nutrientes en suelos bien drenados.

El tronco del limón Persa es recto y robusto, con una corteza rugosa de color marrón grisáceo, con copa de tipo ovoide (la forma de la copa está influenciada por el portainjerto) (Martínez, 2020). Las ramas, aunque pueden ser espinosas, tienden a crecer de manera dispersa, lo cual facilita una buena circulación de aire y luz en el interior.

Las hojas son perennes, unifoliadas, enteras, elípticas, pecioladas, alternas, y separadas por entrenudos de 8,2 a 26,8 mm de largo y en ángulo axilar de 40 a 50 grados (Martínez, 2020). Con bordes ligeramente dentados. Son de un color verde intenso y presentan una textura coriácea. En su superficie, contienen glándulas que liberan aceites esenciales, responsables del característico aroma cítrico (Martínez, 2020).

Las flores, conocidas como "azahares," son blancas, fragantes, y tienen cinco pétalos y numerosos estambres, es hermafrodita y posee una conformación que facilita la polinización, incluso sin la acción de agentes polinizadores (Martínez, 2020). Suelen aparecer en primavera, desempeñando un papel fundamental en la polinización y el desarrollo del fruto.

El fruto del limón Persa puede tener forma ovalada, oblonga o levemente elíptica, con un ápice ligeramente deprimido, y están coronados por una cicatriz estilar corta en forma de pezón, tersa y con numerosas glándulas hundidas (Vanegas, 2002). Las dimensiones de este limón oscilan entre 5.5 y 7 cm de largo, y entre 4.7 y 6.3 cm de diámetro, su peso promedio oscila entre 70 y 90 g, pero pueden llegar a obtenerse frutos de más de 100 g (Martínez, 2020), La cáscara del limón Tahití es de color verde intenso hasta que madura y se torna a amarillo pálido, mientras que la pulpa tiene un color amarillo verdoso cuando madura, usualmente no tiene semilla (INTAGRI, 2018), lo que la hace ideal para diversos usos comerciales y gastronómicos.

4.1.3 Clasificación Taxonómica

La siguiente información taxonómica proviene del banco de datos de plantas del Jardín Botánico de Missouri, EE. UU. (Missouri Botanical Garden, 2019).

Cuadro 1 Taxonomía de Limón Persa por Jardín Botánico de Missouri, EE. UU.

Taxonomía	
Reino:	Plantae
Clase:	Equisetopsida
Subclase:	Magnoliidae
Superorden:	Rosanae

Orden:	Sapindales
Familia:	Rutaceae
Género:	<i>Citrus</i>
Especie:	<i>Citrus x latifolia</i> Tanaka

4.1.4 Usos e Importancia

El limón persa se posiciona como el segundo cítrico más importante en nuestro país (Gobierno de Mexico, 2018). Su amplia variedad de aplicaciones en el consumo ha permitido su integración en la gastronomía e industria mexicana. Se utiliza no solo en su forma fresca para la preparación y cocción de alimentos, sino también como elemento decorativo en la presentación de los platillos. En el ámbito industrial, su uso se centra en la extracción de zumo para la elaboración de jugos, jaleas, bebidas, salsas y dulces. Asimismo, se emplea en la obtención de aceites esenciales y aromas cítricos para diversas aplicaciones. Por su fuerte poder antigripal y antiviral, el limón es un producto importante para la salud humana (SIAP, 2023).

4.1.5 Producción en México

En México, la producción de limón persa en el año 2023 se estimó en 1,634,224.97 toneladas, alcanzando un rendimiento promedio de 15.27 unidades por hectárea. Este volumen de producción generó ganancias valoradas en 12,536,410.58 millones de pesos, según datos del Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP, 2023). De acuerdo con la estacionalidad de la producción de limón en el país, los meses de mayor producción son de agosto a octubre, durante los cuales se genera el 35% de la producción total, (Canela, 2020). Veracruz se destaca como el principal productor de limón persa en México. En 2021, contaba con aproximadamente 51,902 hectáreas dedicadas a este cultivo, lo que representaba una parte significativa de la producción nacional (Agroproductores, 2022).



Figura 1 Principales Estados productores de limón Persa en México.

México se posiciona como uno de los principales exportadores de limón persa a nivel global, destacándose en mercados internacionales como Estados Unidos, Canadá, Europa y Asia.

Cuadro 2 Volumen de producción de limón Persa en las principales entidades de México (SIAP, 2023).

Rank	Entidad Federativa	Producción (Toneladas)	Rendimiento (udm/ha)
	Total, Nacional	1,634,224.97	15.27
1	Veracruz	866,888.50	16.53
2	Oaxaca	211,126.10	13.34
3	Yucatán	107,553.29	22.02
4	Jalisco	94,774.91	18.04
5	Tabasco	90,380.60	12.51
6	Puebla	43,416.62	15.12
7	Quintana Roo	42,141.44	11.06
8	Michoacán	34,651.09	11.06

9	Nayarit	32,914.75	12.28
10	Sinaloa	22,040.77	16.45
	Resto	88,336.90	16.18

Actualmente se satisface 100% de los requerimientos nacionales con producción interna; asimismo, las importaciones mundiales han aumentado 54.76% en la última década. Lo que ha generado un aumento en las exportaciones mexicanas principales con destino a Estados Unidos, países bajos y reino unido (SAGARPA, 2016).

Se estima que para el año 2030 habrá un aumento del 24% en la demanda mundial de limón, mientras que México podría incrementar su capacidad de producción en un 23.37%. En este contexto, Estados Unidos, Alemania y Francia se perfilan como algunos de los principales mercados para exportación, esto según datos de (SAGARPA, 2016).

4.1.6 Contenido Nutritivo

El limón persa es una variedad que comparte muchas de las propiedades nutricionales de otros cítricos y se destaca por su elevado contenido antioxidantes y bajo aporte calórico. Su perfil nutricional lo convierte en un alimento ideal para fortalecer la salud y mejorar la digestión. Este fruto es reconocido como uno de los alimentos curativos por excelencia, por su alto contenido en vitamina C y flavonoides, ayudan a reforzar el sistema inmunológico aumentando las defensas de tu organismo (Vanguardia, 2022), con un contenido de jugo de 45-55% por volumen (S. E. Malo, 2019). Por otra parte, su consumo ayuda a reducir el riesgo de enfermedades cardiovasculares y promover la salud de la piel.

Cuadro 3 Valor nutricional de limón Persa (por 100g) (Vanguardia, 2022).

Componente	Valor	Componente	Valor	Componente	Valor	Componente	Valor
Calorías	22	Grasas	0.2 g	Sodio	1 mg	Potasio	103 mg
Hidratos De Carbono	7 g	Fibra	0.3 g	Azúcares	2.5 g	Proteínas	0.4 g

Vitamina C	38.7 mg	Calcio	6 mg	Magnesio	6 mg	Ácidos	6%
------------	------------	--------	------	----------	------	--------	----

4.1.7 Manejo Agronómico

La gestión agronómica eficiente es clave para asegurar tanto la productividad como la sostenibilidad del cultivo. Este enfoque se basa en la implementación de prácticas integrales que mejoran las condiciones del cultivo, reducen la incidencia de enfermedades y potencian tanto el rendimiento como la calidad de los frutos.

Poda. Para el cultivo de limón Persa se manejan 4 tipos de poda básicos que se llevan a cabo en base a la etapa en la que se encuentre.

1. Poda de Formación. Se lleva a cabo en los primeros 2 o 3 años de la plantación (INTAGRI, 2016). Se efectúa para darle forma y resistencia mecánica al árbol. Esta poda consiste en despuntar la planta a unos 10 centímetros, para estimular la brotación lateral de las yemas; (Vanegas, 2002)
2. Poda de Desarrollo. Es fundamental realizar esta poda de manera oportuna para prevenir un crecimiento excesivo del follaje y evitar el retraso en la fructificación. Se limita a eliminar los “chupones” o hijos del patrón (Vanegas, 2002).
3. Poda de Fructificación. Cuando la plantación es adulta, se persigue mejorar la sanidad de la copa y principalmente, recuperar el follaje perdido, lo cual está relacionado con la cantidad y tamaño del fruto. También mejora la penetración de luz, mejorando la calidad del fruto por su color (Vanegas, 2002). El momento oportuno para esta poda es después del periodo invernal y cosecha, pero antes de la floración y cuajado de frutos (INTAGRI, 2016).
4. Poda de Limpieza. Se efectúa después de la cosecha y sirve para eliminar las ramas secas, rotas (Vanegas, 2002). Por otra parte, este tipo de poda persigue un aspecto fitosanitario al eliminar ramas secas, quebradas, enfermas o infestadas por alguna plaga. Es realizada manualmente, teniendo como propósito evitar la incidencia de plagas y enfermedades (INTAGRI, 2016).
5. Poda de Renovación. restaura la capacidad productiva eliminando ramas viejas y se estimula el crecimiento de nuevos brotes dando más vida útil al cultivo y aumentando

la producción, se utiliza solo en árboles viejos que han tenido una reducción progresiva en su productividad (INIFAP, 2016).

Fertilización. El establecimiento de una estrategia de fertilización adecuada es fundamental para garantizar el crecimiento y desarrollo óptimo. Esta estrategia debe basarse en análisis detallados de suelo y agua, lo que permite identificar y equilibrar los nutrientes necesarios según las necesidades específicas del cultivo.

De acuerdo con datos de (INIFAP, 2018) la dosis recomendada de fertilizante (Kg/árbol/año) para arboles de limón mexicano en producción considerando la edad y densidad de plantación se presentaría de la siguiente manera.

Cuadro 4 Dosis de fertilización (Kg/árbol/año) para el cultivo del limón Persa.

Árboles por hectárea	Edad de árboles (años)								
	2 a 4			5 a 8			9 o mas		
	N	P2O4	K2O	N	P2O4	K2O	N	P2O4	K2O
100	0.9	0.55	0.45	1.40	0.60	0.60	1.50	0.65	0.65
120-190	0,8	0.40	0.45	1.15	0.54	0.54	1.30	0.60	0.60
200-300	0.7	0.30	0.3	0.80	0.40	0.40	0.90	0.45	0.45
Mas de 300	0,6	0.28	0.28	0.38	0.38	0.38	0.70	0.35	0.35

Los programas de fertilización varían según el sistema de producción utilizado, como los sistemas tradicionales, de riego por goteo o intensivos. Estas estrategias deben adaptarse a las condiciones específicas del manejo del cultivo, optimizando el uso de los recursos para maximizar la productividad y la sostenibilidad (INIFAP, 2016)

4.1.8 Etapas De Desarrollo

El desarrollo del limonero, al igual que el de otros árboles frutales, se compone de varias etapas que abarcan desde la floración hasta la recolección de los frutos, tenerlas en cuenta ayuda a incrementar la producción de este cítrico (Agroproductores, 2022).

Brotación en el cultivo de limón está estrechamente vinculada con las distintas estaciones del año. Sin embargo, en las zonas tropicales, se ha observado que este

proceso puede ocurrir varias veces a lo largo del año (Agricultura, 2024). Durante la brotación, el árbol desarrolla nuevas hojas y brotes, lo que contribuye a mejorar la eficiencia de la fotosíntesis. En esta etapa, el cultivo requiere un suministro elevado de nutrientes, indispensables para la formación y desarrollo de los nuevos tejidos.

Desarrollo vegetativo Después de la brotación, el árbol de limón entra en la fase de desarrollo, durante esta etapa, la planta desarrolla su estructura foliar y ramas (Agricultura, 2024). Por lo tanto, el árbol requiere un suministro constante de agua y nutrientes, ya que se prepara para la próxima fase reproductiva.

Floración representa una etapa fundamental para la fructificación, las flores deben protegerse de condiciones adversas, así como el ataque de plagas y enfermedades es esencial una buena polinización para asegurar la formación de frutos (Agricultura, 2024). Durante este periodo, la demanda de agua y nutrientes incrementa significativamente para asegurar un desarrollo óptimo y una floración abundante.

Maduración Es importante monitorear y controlar plagas y enfermedades, así como mantener un riego adecuado para el desarrollo óptimo (Agricultura, 2024), una vez alcanzado el tamaño óptimo del fruto se llega finalmente a la cosecha para colectarse tomando en cuenta parámetros como color, tamaño y acidez necesaria para los diferentes mercados de distribución.

4.1.9 Condiciones Edáficas

Clima. El cultivo de limón se desarrolla óptimamente en climas cálidos y húmedos, requiriendo temperaturas diurnas que oscilen entre los 23 °C y 30 °C, mientras que durante la noche deben mantenerse cerca de los 15 °C, La temperatura influye en el desarrollo del cultivo a tal grado que varía el tiempo de la floración hasta la maduración del fruto según la condición de temperaturas de cada región, mientras que en climas cálidos el tiempo se acorta, en climas más frescos se alarga (INTAGRI, 2018).

Suelo. Constituye un factor crucial en el establecimiento de cultivos, el limón se desarrolla de manera óptima en suelos con textura franco-arenosa o franco-arcillosa, al igual que la mayoría de los cítricos, se favorece su desarrollo en suelos con un pH que oscile entre 6.0 y 7.5, rango que asegura condiciones óptimas para el crecimiento y la calidad del cultivo, en suelos calcáreos con pH elevado pueden provocar severas deficiencias de micronutrientes en los árboles, principalmente deficiencias de

manganeso (Mn) y zinc (Zn) (INTAGRI, 2018), se recomienda establecer el cultivo en suelos con una profundidad mínima de 60 cm, lo que favorece un anclaje sólido y una eficiente absorción de nutrientes.

Luz. Una actividad vital para el cultivo que va dependiendo de la etapa en la que se encuentre, así como la cantidad de fruta que se esté produciendo; sin embargo, la cantidad de luz que recibe la planta es importante para la formación de yemas florales (INTAGRI, 2018).

Riego. Las precipitaciones que se necesitan al establecer limón persa son de alta demanda para poder llevar a cabo todas las funciones fisiológicas y metabólicas necesarias, donde regiones con precipitaciones del orden de los 400 a 1,200 mm anuales son óptimos para el limón persa. (INTAGRI, 2018). El estrés hídrico sin tratamiento puede inhibir la floración y, de manera indirecta, adelantar la maduración de los frutos, lo que da como resultado frutos de menor tamaño y contenido interno. Si el cultivo se establece en zonas con baja precipitación, es recomendable implementar sistemas de riego para suplir adecuadamente la demanda hídrica.

Viento. se recomienda establecer huertas de limón en donde la velocidad del viento es mayor a 20 km/h, ya que puede provocar caída de hojas y flores, así como roce de frutos con ramas, afectando la calidad de los frutos y su aceptación en el mercado. En áreas donde los vientos son fuertes deben establecerse cortinas rompevientos para contrarrestar el efecto adverso de este fenómeno natural. (INTAGRI, 2018).

4.1.10 Plagas y Enfermedades

Plagas

El cultivo del limón Persa (*Citrus latifolia*) es vulnerable a múltiples plagas que pueden comprometer su desarrollo, reducir su rendimiento y deteriorar la calidad de sus frutos. Estas plagas no solo ocasionan daños directos en el árbol y la producción, sino que también pueden favorecer la proliferación de enfermedades secundarias. A continuación, se describen algunas de las principales plagas que afectan este cultivo.

Araña roja (*Tetranychus urticae*), esta plaga ataca principalmente el follaje y frutos, es de importancia en los estados de Colima, Michoacán, Oaxaca, Guerrero y Jalisco, se encuentra presente en épocas secas que puede ocasionar daños al follaje y frutos de los árboles afectando la producción y calidad de los frutos, en las hojas se presentan

pequeñas áreas de tejido decolorado y una fina telaraña. Los daños severos en las hojas se caracterizan por la presencia de tejido deforme y defoliación del árbol, asimismo, el fruto puede dañarse presentando áreas de color gris claro a plateado. (Gobierno de Mexico, 2021)

Minador de hoja (*Phyllocnistis citrella*), plaga de importancia económica baja a media, presente en el cultivo de limón, su daño es significativo en plantaciones jóvenes y en los viveros. Su estado inmaduro se alimenta de las hojas tiernas y forma canales o galerías hasta cubrir toda la hoja (Gobierno de Mexico, 2021).

Trips (*Frankliniella occidentalis*) este se encuentra en las flores mientras que el *Scirtothrips dorsalis*, también conocido como trips del chile, es especialmente problemático, ya que puede causar daños importantes en los cultivos de lima persa al alimentarse de las hojas jóvenes y los frutos. (Koppert, 2024), puede llegar a afectar la calidad de la fruta y causar un lento crecimiento y una mala distorsión de hojas.

Cochinillas y escamas: Estos diminutos insectos están cubiertos de una sustancia cerosa, parecida al algodón, que les proporciona protección y dificulta su control (Koppert, 2024), succionan la savia permaneciendo fijos en su mayoría sobre las hojas, tallos y ocasionalmente en las raíces. Retardan el crecimiento y la formación de las plantas jóvenes, reducen la producción, las ramitas afectadas pueden quebrarse con el peso de los frutos. Pueden ocasionar la muerte de la rama e incluso de la planta (Vanegas, 2002), además, segregan líquidos azucarados lo cual atrae a otros insectos.

Pulgones (*Aphis gossypii*, *Toxoptera citricida*, *Aphis spiraecola*) Estos áfidos pueden transmitir organismos patógenos, particularmente virus como el de la tristeza de los cítricos (CTV) que ocasiona pérdidas en la producción y en cepas agresivas puede causar la muerte de los árboles de la lima persa. (Koppert, 2024), se alimentan al succionar la savia del envés de las hojas, causando la reducción en el proceso de fotosíntesis.

Psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*), es un insecto que se alimenta preferentemente de tallos y hojas tiernas secretando grandes cantidades de mielecilla y una sustancia cerosa de color blanco. (Gobierno de Mexico, 2021). Sin embargo, la mayor preocupación asociada al psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*) es su

papel como vector de una enfermedad llamada *Huanglongbing* (HLB), también conocida como enverdecimiento de los cítricos (Koppert, 2024).

Mosca prieta (*Aleurocanthus woglumi*), plaga secundaria presente en los estados de Oaxaca, Morelos, Chiapas, Quintana Roo, Yucatán y Baja California Sur. Los daños que provoca se deben a la succión de los nutrientes de la hoja, lo cual debilita las plantas, además, la excreción de la mosca propicia el desarrollo del hongo fumagina, lo cual ocasiona daños a los brotes por lo que los frutos no alcanzan el tamaño normal (Gobierno de Mexico, 2021).

Hormigas Existen ciertos tipos de hormigas que pueden llegar a convertirse en una plaga para el cultivo de limón ya que son atraídas por la melaza dulce que segregan los insectos que se alimentan del árbol. Esta relación mutualista entre hormigas e insectos que se alimentan de savia puede provocar mayores infestaciones y daños en la lima persa. Además, las hormigas pueden construir nidos cerca de los árboles, perturbando potencialmente el sistema radicular y afectando a la salud general de la lima persa. (Koppert, 2024).

Enfermedades

El cultivo de limón es vulnerable a diversas enfermedades vegetales que, si no son tratadas oportunamente, pueden afectar significativamente tanto la producción como la calidad del fruto. La presencia de patógenos fitosanitarios puede comprometer el desarrollo del árbol, reduciendo su rendimiento y generando pérdidas económicas en el sector agrícola.

Gomosis o pudrición del pie es causada por el patógeno *Phytophthora* spp, afecta la raíz, tronco y ramas, puede llegar a causar muerte en algunos árboles si no se trata a tiempo. El desarrollo del hongo produce goma de color ámbar, la que brota en las rajaduras, cuando el tronco es anillado, se impide la traslocación de nutrientes y en ese momento muere la planta. (Vanegas, 2002).

Huanglongbing (HLB) es una enfermedad que está asociada a una bacteria (*Candidatus Liberibacter* spp.) y es transmitida por el psílido asiático de los cítricos (INIFAP, 2018). En árboles con síntomas del total de su copa se reduce hasta en un 40

a 60% el rendimiento de fruta. No se han observado síntomas de HLB en frutos que comprometan su comercialización (INIFAP, 2018). Causa amarillamiento asimétrico en sus hojas, frutos deformes de tamaño pequeño y con maduración desigual, actualmente está presente en 24 estados del país, y es actualmente reconocida como la enfermedad más devastadora a nivel mundial que representa un problema fitosanitario grave en la citricultura (Gobierno de Mexico, 2021), así mismo, su transmisión se apoya mediante un vector, el psílido asiático de los cítricos (*Diaphorina citri*) y mediante injertos con yemas infectadas y/o movilización de material vegetativo, por lo que existe riesgo constante de dispersión (Gobierno de Mexico, 2021). En definitiva, es una de las enfermedades más importantes en cultivo de limón Persa.

Antracnosis es un hongo del género *Colletotrichum* que afecta hojas, rama, flor y fruto, existen muchas especies de este hongo (Guarnaccia et al., 2017). se considera un serio problema en regiones con clima tropical y subtropical (Jeffries et al., 1990). Es causada por el hongo *Colletotrichum*, el cual se presenta durante la época de lluvias y su efecto en rendimiento está muy relacionado con la producción de los meses de invierno (diciembre a marzo). Puede ocasionar pérdidas de un 40 a 60% de la producción invernal en huertos sin control químico (INIFAP, 2018). Presenta una sintomatología de manchas oscuras en hojas, flores y frutos provocando la caída prematura de flores y frutos jóvenes, en ocasiones de exceso de humedad puede provocar pudriciones en frutos.

Se presentan manchas necróticas pardas rojizas en los pétalos. Los frutos dañados se amarillan en su base poco antes de desprenderse. La tachuela (conjunto de disco basal, cáliz y pedúnculo) adherida es un síntoma típico de la enfermedad y puede permanecer por uno o varios años en el árbol (Vanegas, 2002).

Virus de la tristeza de los cítricos es transmitido por pulgones, presentando una sintomatología de amarillamiento y defoliación de ramas, agrietamiento del tronco que reduce drásticamente en la producción, se encuentra presente en el estado de Veracruz, causa una de las enfermedades más dañinas de este cultivo, la cual se transmite de forma natural y semipersistente por el insecto vector *Toxoptera citricida* (Gobierno de Mexico, 2021),

4.2 *Colletotrichum acutatum*

4.2.1 Clasificación Taxonómica

Colletotrichum se encuentra en la siguiente clasificación taxonómica de acuerdo con (Augusto, 2019).

Cuadro 5 Clasificación taxonómica de *Colletotrichum*

Taxonomía	
Reino	Fungi
División	Eumycota
Phyllum	<i>Ascomycota</i>
Subdivisión	Deuteromycotina
Clase	<i>Hypocreomycetidae</i>
Familia	<i>Glomerellaceae</i>
Género	<i>Colletotrichum</i>

4.2.2 Características Morfológicas

Es una especie común dentro del género *Colletotrichum* que puede parasitar muchas plantas y causar antracnosis. Inicialmente, este hongo fue aislado por investigadores de tejidos enfermos de papaya y chiles en Australia (Baroncelli et al., 2015).

La morfología colonial está conformada por: colonias de color blanco, gris o naranja pálido, con pigmentos rosáceos o morados (EPPO, 2003)., mientras que la morfometría de estructuras: contiene conidióforos poco desarrollados. Setas escasas, especialmente en medio de cultivo. Células conidiogénicas cilíndricas, ligeramente agrupadas, produciendo conidios sucesivamente a partir de un locus. Formación de conidios secundarios. (Simons, 2020). *C. acutatum* también produce conidios hialinos, unicelulares que miden de 12 a 20 μm de largo por 4 a 6 μm de ancho y una elevada proporción con un lado redondeado y otro fusiforme con relación a conidios con ambos lados redondeados. Estas esporas se producen en estructuras llamadas acérvulos (Timmer 2000b).

4.2.3 Importancia De *Colletotrichum acutatum* en la agricultura

Este género de hongos es el causante de un grupo de enfermedades conocidas como antracnosis, las cuales pueden manifestarse tanto en precosecha como en postcosecha (Londoño, 2007). A nivel mundial se reporta la antracnosis en frutas, hortalizas, cereales, plantas herbáceas, maderables y ornamentales, entre otras; sobre todo en zonas templadas y tropicales (Udayanga et al., 2013). Donde *Colletotrichum* incluye más de 100 especies responsables de antracnosis en casi todos los cultivos destinados a la producción de alimentos, fibras y forrajes a nivel mundial (Indira Rojo-Báez, 2017). En México, se han reportado 46 especies de las cuales 28 se identificaron a nivel morfológico y 18 a nivel molecular (Indira Rojo-Báez, 2017).

4.2.4 Importancia de *Colletotrichum acutatum* en Cítricos

El género *Colletotrichum* está formado por hongos filamentosos causantes de la “*antracnosis*”, una infección propia de vegetales que afecta principalmente al género *Citrus* en países de clima templado (national library of medicine , s.f.). La alta transmisibilidad e infectividad de *C. acutatum* lo convierten en una amenaza importante para el crecimiento y el rendimiento de muchos árboles frutales y cultivos, lo que provoca una disminución de la producción agrícola. En ataques severos puede reducir el rendimiento hasta un 49%, en México, en los últimos años ha cobrado gran importancia, llegando a ocasionar pérdidas hasta de un 70% (Bayer, 2018). La antracnosis en cítricos puede afectar diferentes órganos de la planta, incluyendo hojas, flores y frutos. Esta enfermedad se manifiesta con lesiones necróticas en la superficie de los frutos, lo que reduce su valor comercial y favorece la entrada de otros patógenos. Además, en condiciones de alta humedad, *Colletotrichum* puede provocar la caída prematura de frutos y flores, disminuyendo el rendimiento del cultivo (Timudo-Torrevilla et al., 2019).

4.2.5 Ciclo de Vida

Es un hongo hemibiotrófico, que inicialmente vive como un parásito y, posteriormente, como un saprofito en tejido muerto. Produce conidios (esporas asexuales) en estructuras llamadas acérvulos, los cuales se dispersan por el viento, el agua y el contacto mecánico. Las infecciones son favorecidas por condiciones de altas temperaturas (25-30 °C) y una humedad relativa superior al 90%, al igual que los períodos prolongados de lluvia o riego

excesivo. Las etapas de desarrollo de las especies de *Colletotrichum* pueden separarse en: 1) deposición en las superficies del hospedante, 2) fijación de la conidia en la superficie, 3) germinación de la conidia, 4) producción del apresorio, 5) penetración de la epidermis de la planta, 6) crecimiento y colonización del tejido del hospedante y 7) producción de acérvulos y esporulación (Rodríguez et al., 2013).

4.2.6 Síntomas y Daños

Los síntomas de la antracnosis pueden manifestarse en distintos órganos de la planta, incluyendo hojas, flores, ramas y frutos. Los signos más comunes son los siguientes:

En hojas. Se observan manchas necróticas irregulares de color marrón oscuro, las cuales pueden extenderse y provocar la defoliación prematura en condiciones de alta humedad (Timudo-Torrevilla et al., 2019).

En flores. Se produce un secado y oscurecimiento de los pétalos, lo que puede resultar en la caída prematura de las flores y, por lo tanto, en una reducción en la formación de frutos.

En frutos. Se presentan lesiones hundidas de color marrón oscuro a negro, con apariencia seca y bordes irregulares. En condiciones de alta humedad, estas lesiones pueden cubrirse con esporulación rosada o anaranjada del hongo. La infección puede ocurrir en cualquier etapa del desarrollo del fruto, pero es más frecuente en frutos maduros o en postcosecha (Peres et al., 2020).

En ramas y brotes jóvenes. Se pueden observar lesiones necróticas que debilitan la estructura de la planta, favoreciendo la entrada de otros patógenos y afectando el crecimiento del árbol.

Los daños derivados de la antracnosis en el cultivo de limón pueden ser significativos, afectando tanto la producción como la calidad del fruto: reducción en el rendimiento del cultivo, pérdidas en postcosecha, deterioro en la calidad comercial y mayor susceptibilidad a otros patógenos. La antracnosis en limón representa una amenaza importante para la citricultura, especialmente en regiones con alta humedad y temperaturas moderadas. La implementación de estrategias de manejo integrado, como el uso de fungicidas, prácticas culturales adecuadas y la selección de variedades resistentes, es fundamental para minimizar los efectos de esta enfermedad y garantizar la sostenibilidad del cultivo (Timudo-Torrevilla et al., 2019).

4.2.7 Control

La antracnosis es una enfermedad complicada de manejar debido a su breve periodo de incubación y a la constante aparición de brotes vegetativos y flores a lo largo del año. Esto genera una presencia casi continua de tejidos tiernos vulnerables al patógeno, lo que obliga a realizar múltiples aplicaciones de fungicidas para su control. El control de la antracnosis en limón persa requiere un enfoque integral que combine prácticas culturales, aplicación de fungicidas selectivos y estrategias biológicas. La implementación de estas medidas de manera preventiva y en momentos críticos del desarrollo del cultivo es clave para minimizar las pérdidas y garantizar la calidad del fruto en el mercado nacional e internacional. El manejo fitosanitario de la antracnosis se dificulta en zonas que suelen tener abundantes lluvias, en épocas de floración. Se recomienda realizar monitoreos periódicos en el huerto, para identificar los flujos vegetativos y florales. (INIFAP, 2016), por otra parte, Klein et al. (2013) indican que la antracnosis en cítricos se controla con la utilización de microorganismos como *Bacillus subtilis*, *Trichoderma* spp y con productos químicos.

Físico

Poda sanitaria: Eliminar ramas y frutos infectados para reducir la fuente de inóculo del hongo. Es recomendable realizar la poda en periodos secos para evitar la dispersión de esporas (Timudo-Torrevilla et al., 2019).

Cultural Entre las medidas esenciales se destacan: Plantar los árboles con una distancia adecuada y evitar el exceso de follaje para mejorar la circulación de aire y reducir la humedad, condición clave para el desarrollo del hongo, Evitar riegos por aspersion, ya que favorecen la dispersión del hongo. Se recomienda el uso de riego por goteo.

Químico Las aplicaciones de agroquímicos se deben realizar a partir de junio o julio y sobre todo en septiembre y octubre para proteger la floración que se presenta en estas fechas, que corresponde a cosecha de invierno (INIFAP, 2016). Se recomiendan principalmente fungicidas a base de cobre: Como el oxiclورو de cobre y el sulfato de cobre, efectivos en la reducción del inóculo en aplicaciones preventivas, por otra parte, los fungicidas sistémicos: Como los inhibidores de la biosíntesis de ergosterol (IBE) (triazoles: propiconazol, tebuconazol) y los inhibidores de la quinona externa (QoI) como azoxistrobina y piraclastrobina, que ofrecen protección tanto preventiva como curativa

(Peres et al., 2020). No sin antes mencionar que la aplicación en momentos clave es fundamental aplicar fungicidas en periodos de alta humedad y en estados fenológicos críticos, como floración y formación inicial del fruto. Por otra parte hay que resaltar que el uso indiscriminado de fungicidas sintéticos tiene efectos negativos en el ambiente, estos efectos incluyen la contaminación del suelo y el agua, la aparición de resistencia en patógenos, la afectación de organismos benéficos y riesgos toxicológicos para los consumidores y trabajadores agrícolas (González-Rodríguez et al., 2021), de igual manera el uso frecuente y sin rotación de fungicidas con el mismo mecanismo de acción favorece la selección de cepas de hongos resistentes. Esto reduce la efectividad de los tratamientos y obliga a incrementar las dosis o buscar nuevos compuestos, lo que encarece la producción agrícola y limita las opciones de control químico a largo plazo (Fernández-Ortuño et al., 2018). Los fungicidas no solo eliminan hongos patógenos, sino que también pueden afectar microorganismos benéficos del suelo, como *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp., que desempeñan un papel clave en la supresión de enfermedades y la promoción del crecimiento vegetal. Asimismo, algunos fungicidas pueden ser tóxicos para insectos polinizadores, como las abejas, reduciendo su población y afectando la producción de cultivos que dependen de la polinización (Siviter et al., 2021). Para minimizar estos riesgos, es fundamental implementar estrategias de Manejo Integrado de Plagas (MIP), que incluyan el uso racional de fungicidas, prácticas culturales adecuadas, control biológico y la selección de variedades resistentes. Un enfoque sostenible no solo mejora la eficiencia del control de enfermedades, sino que también contribuye a la conservación de los recursos naturales y la salud pública.

Biológico

El control biológico de *Colletotrichum* spp., agente causal de la antracnosis en diversos cultivos, es una alternativa sostenible al uso de fungicidas químicos. Esta estrategia se basa en la utilización de microorganismos benéficos que inhiben el crecimiento del patógeno mediante mecanismos como el antagonismo, la competencia por espacio y nutrientes, y la inducción de resistencia en la planta (Jiménez-Gómez et al., 2021).

Aplicaciones de *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma viride* han mostrado eficacia en la reducción de la incidencia de antracnosis en cítricos, mango y fresa (González-Rodríguez et al., 2020).

El uso de *Bacillus subtilis* y *Bacillus amyloliquefaciens* producen antibióticos naturales como surfactina, iturina y fengicina, que inhiben el crecimiento de *Colletotrichum*. Así como también inducen resistencia sistémica en las plantas, fortaleciendo sus mecanismos de defensa (López-Valencia et al., 2019). El uso de extractos de plantas con propiedades antifúngicas (por ejemplo, neem o ajo) en aplicaciones, es una opción más para contrarrestar los efectos de la enfermedad de antracnosis. En definitiva, las ventajas de la implementación de productos biológicos en el cultivo de limón como en muchos otros es mayor ya que se reduce la cantidad de fungicidas sintéticos, así como se favorece la salud del suelo y la planta consiguiendo un desarrollo óptimo y conservando la biodiversidad microbiana, minimizando la aparición de cepas resistentes de *Collectotrichum* y evitando la contaminación ambiental con residuos tóxicos.

El control de la antracnosis en limón persa requiere un enfoque integral que combine prácticas culturales, aplicación de fungicidas selectivos y estrategias biológicas. La implementación de estas medidas de manera preventiva y en momentos críticos del desarrollo del cultivo es clave para minimizar las pérdidas y garantizar la calidad del fruto en el mercado nacional e internacional.

4.3 *Trichoderma*

Las diversas especies del género *Trichoderma* se caracterizan por su capacidad de adaptarse a distintos tipos de suelos, independientemente de la cantidad de materia orgánica presente. Asimismo, estas especies pueden desarrollarse en condiciones de alta humedad relativa y en un rango de temperatura amplio, factores que influyen directamente en su grado de efectividad, permitiendo así que las especies de *Trichoderma* se encuentren presentes en todas las latitudes, desde las zonas polares hasta la ecuatorial (Danay Infante, 2009).

4.3.1 Clasificación Taxonómica

Trichoderma se ubica taxonómicamente de acuerdo con (Villegas, 2005) en:

Cuadro 6 Clasificación taxonómica de *Trichoderma*.

Taxonomía

Reino	Fungi.
División	Mycota
Subdivisión	Eumycota
Clase	Hyphomycetes.
Orden	Moniliales.
Familia	Moniliaceae.
Género	<i>Trichoderma</i> .

4.3.2 Importancia de *Trichoderma* en la Agricultura

El éxito de las cepas de *Trichoderma* como agentes de control biológico se debe a su alta capacidad reproductiva, habilidad para sobrevivir bajo condiciones ambientales desfavorables, eficiencia en la utilización de nutrientes, capacidad para modificar la rizosfera, fuerte agresividad contra hongos fitopatógenos y eficiencia en promoción del crecimiento en plantas e inducción de mecanismos de defensa. (INTAGRI, *Trichoderma*, 2017). Actúa contra un amplio rango de hongos fitopatógenos transmitidos por suelo y aire. Ha sido usado contra pudriciones en un amplio rango de especies, causadas por *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Pythium*; y patógenos formadores de esclerocios como *Sclerotinia* y *Sclerotium* (IPTA, 2015). Las especies de *Trichoderma* spp han sido evaluadas durante más de 70 años como antagonistas de hongos fitopatógenos (Icidca, 2017). Descubriendo que tiene la capacidad de tomar los nutrientes de los hongos patógenos; compite con ellos o los degrada (IPTA, 2015). Su efectividad radica en diversos mecanismos de acción, incluyendo el micoparasitismo, la competencia por nutrientes y espacio, y la producción de compuestos antifúngicos. Además, *Trichoderma* promueve el crecimiento vegetal y fortalece la resistencia sistémica de las plantas contra enfermedades (González-Rodríguez et al., 2021).

4.3.3 Mecanismos De Acción

Las especies de este género son de gran interés agrícola debido a las características antagónicas que presentan frente a hongos fitopatógenos; para ello ejecutan tres

mecanismos de biocontrol: competencia por nutrientes o espacio, antibiosis y micoparasitismo (Icidca, 2017).

en la actualidad se investigan cepas de *Trichoderma* spp. con diferentes mecanismos de acción directa (competencia por sustrato o espacio, antibiosis y el micoparasitismo), que pueden incorporarse al manejo de este fitopatógeno (Osorio et al. 2019).

Las diferentes especies de *Trichoderma* ejercen mecanismos de control mediante: competencia directa (por espacio y nutrientes), producción de metabolitos antibióticos, la inactivación de enzimas del agente patógeno, modificación de las condiciones ambientales, producción de sustancias promotoras del crecimiento vegetal y por micoparasitismo (INTAGRI, *Trichoderma*, 2017). La integración de *Trichoderma* spp. como una herramienta en el manejo de la antracnosis es una alternativa efectiva y amigable con el medio ambiente, que contribuye a mantener la productividad del cultivo de limón de manera sostenible.

Micoparasitismo es un mecanismo directo Los mecanismos directos e indirectos pueden actuar coordinadamente y su efectividad en los procesos de biocontrol dependerá de la cepa de *Trichoderma* utilizada, del hongo antagonista a controlar y de las condiciones ambientales (pH, temperatura, agua libre, concentración de hierro, etc.) (M.P. Santamarina, 2005). *Trichoderma* puede colonizar y degradar las estructuras de hongos fitopatógenos mediante la producción de enzimas hidrolíticas, como quitinasas y glucanasas. Estas enzimas descomponen la pared celular de hongos como *Colletotrichum* spp., *Fusarium* spp. y *Botrytis cinerea*, impidiendo su desarrollo (Harman et al., 2019).

Competencia por espacio y nutrientes es parte de los mecanismos indirectos que comprenden la modificación de las condiciones ambientales, la biofertilización, la antibiosis, la promoción del crecimiento y la activación de los mecanismos de defensa de las plantas. (M.P. Santamarina, 2005). En este sentido el hongo tiene un crecimiento rápido y una alta capacidad de colonización en la rizósfera, lo que le permite ocupar los nichos ecológicos antes que los patógenos. Además, *Trichoderma* consume nutrientes esenciales para el desarrollo de hongos fitopatógenos, reduciendo su capacidad de proliferación (Mukherjee et al., 2020).

Metabolitos (volátiles y no volátiles). *Trichoderma* secreta metabolitos secundarios con propiedades antifúngicas, como antibióticos y compuestos volátiles que inhiben el crecimiento de hongos patógenos. Entre estos compuestos destacan la viridimina y la trichodermina, que afectan la integridad celular de los patógenos (Contreras-Cornejo et al., 2018). Los metabolitos volátiles (MV) son compuestos orgánicos de bajo peso molecular que se dispersan en el aire y afectan el crecimiento de microorganismos a distancia. Estos compuestos pueden actuar como inhibidores del crecimiento de patógenos o como inductores de la resistencia sistémica en las plantas, algunos de los metabolitos más importantes registrados son Pirrolnitrina: Tiene actividad antifúngica contra *Fusarium spp.*, *Botrytis cinerea* y *Colletotrichum spp.* al inhibir la síntesis de membranas celulares (Vinale et al., 2020), 6-pentil- α -pirona (6-PAP): Responsable del característico aroma a coco de *Trichoderma*, con actividad antifúngica y promotora del crecimiento vegetal, Ácido isobutírico y ácido 2-metilbutanoico: Inducen resistencia sistémica en plantas, activando la expresión de genes de defensa, Alcoholes y cetonas volátiles (como el 1-octen-3-ol): Inhiben el desarrollo de patógenos al interferir en su metabolismo, Compuestos orgánicos volátiles (COVs): Incluyen sesquiterpenos y otros hidrocarburos que afectan el desarrollo de hongos fitopatógenos y bacterias.

Los metabolitos no volátiles (MNV) son compuestos solubles en agua con actividad antifúngica, antibacteriana y promotora del crecimiento vegetal. Estos compuestos pueden ser excretados al medio o actuar intracelularmente, donde los principales registrados son: Quitinasas y glucanasas: Enzimas hidrolíticas que degradan la pared celular de hongos patógenos. Son esenciales en el micoparasitismo de *Trichoderma* contra *Colletotrichum spp.* y *Fusarium spp.* (Harman et al., 2019), Peptaiboles (trichorzianinas, trichorzin y alameticina): Péptidos antifúngicos que alteran la permeabilidad de las membranas celulares de los patógenos, *Viridimina* y *trichodermina*: Antibióticos naturales con actividad contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotinia sclerotiorum*, Ácido indolacético (AIA): Promueve el crecimiento vegetal al estimular la elongación celular y el desarrollo radicular, Sideróforos: Secuestran hierro del medio, limitando su disponibilidad para fitopatógenos y favoreciendo el crecimiento de la planta, Los metabolitos volátiles y no volátiles de *Trichoderma* desempeñan un papel clave en su acción como agente de biocontrol y bioestimulante. Su capacidad para inhibir el

crecimiento de fitopatógenos, inducir resistencia en plantas y mejorar el desarrollo vegetal lo convierte en una herramienta valiosa en la agricultura sostenible.

Inducción de resistencia en las plantas, este hongo estimula los mecanismos de defensa de las plantas, activando la producción de compuestos fenólicos y enzimas como peroxidasas y quitinasas. Esta respuesta, conocida como resistencia sistémica inducida (RSI), protege a la planta contra infecciones futuras (Monteiro et al., 2021).

5 Materiales y Métodos

5.1 Descripción del área de estudio

El experimento se llevó a cabo dentro de las instalaciones del departamento de Horticultura en la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro (UAAAN), la cual se encuentra en la localidad de Buenavista, Saltillo, Coahuila, con coordenadas: 25° 21' 14.19" Norte -101° 01' 57.75" Oeste (25.353967, -101.032708), a una altura de 1780 msnm, contemplando una precipitación anual cerca de 640 mm, cuenta con temperaturas medias anuales entre 16 y 18°C, lo que lo convierten en un clima templado semiseco.

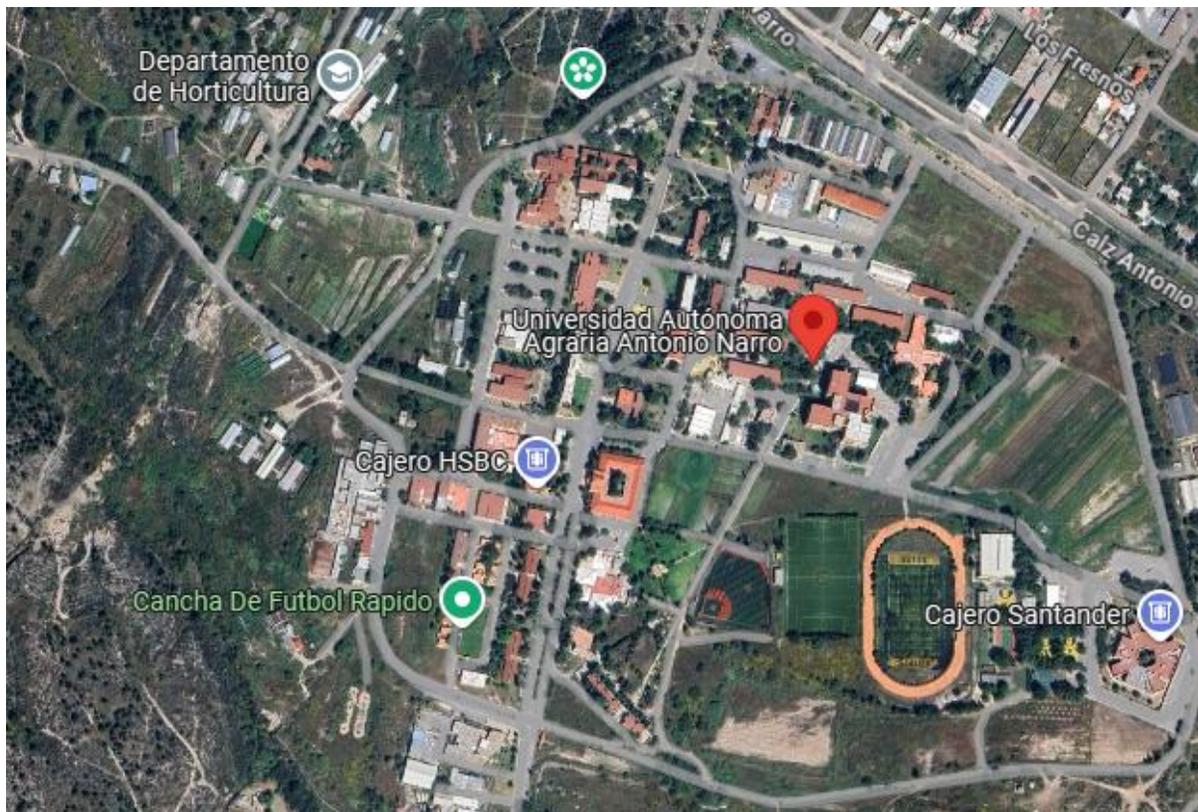


Figura 2. Ubicación geográfica del área de estudio en Saltillo, Coahuila, México.

5.2 Material vegetal

La variedad de limón objeto de estudio fue Persa (sin semilla), sensible al ataque del hongo *Colletotrichum acutatum* SGO. La investigación se llevó a cabo con un cultivo previamente establecido, de una edad de cuatro años, el portainjerto empleado fue limón Volkameriano con injerto Persa. La huerta está ubicada en el municipio de Úrsulo Galván, Veracruz, el cual presenta un clima cálido subhúmedo con lluvias en verano. La temperatura media anual oscila entre 25 y 27°C, mientras que la precipitación anual varía entre 1,200 y 1,500 mm, concentrándose principalmente entre los meses de junio y octubre. Asimismo, la humedad relativa se mantiene en un rango de 75% a 85%, lo que contribuye a las condiciones óptimas para el desarrollo de la vegetación en la región. El control de la antracnosis se realizó a través de fungicidas definidos por el plan de manejo proporcionado por la empresa receptora de frutos de limón en Estados Unidos.

5.3 Material Fúngico

5.3.1 Aislamiento e identificación de *Colletotrichum acutatum*

Se colectaron aleatoriamente muestras de tejido (flores y frutos) de limón Persa con presencia de síntomas de antracnosis. Para el aislamiento del hongo, los fragmentos de tejido fueron desinfectados con hipoclorito de sodio al 2% durante 2 min, lavados 3 veces con agua destilada estéril y secados a temperatura ambiente. Los fragmentos de tejido vegetal fueron depositados en medio Agar Dextrosa y Papa (Bioxon, PDA, 39 g L⁻¹ de agua), con cuatro fragmentos por caja de Petri e incubados a 28 °C (Oliveira et al., 2005). Los aislamientos obtenidos se purificaron mediante cultivos monospóricos en medio PDA.

5.3.2 Aislamiento e identificación de las cepas de *Trichoderma*

Las cepas fueron proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Las cuales fueron aisladas de suelos donde se encuentra establecido cultivo de cacao. Las cepas fueron activadas mediante la siembra en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA® Baker) y fueron incubadas a una temperatura de 28±2 °C durante 7 días, para posteriormente emplearlas en los diferentes bioensayos.

5.4 Bioensayo *in vitro*

El diseño experimental fue completo al azar, se consideraron cuatro repeticiones, cada caja de Petri fue una repetición. El número de tratamientos estuvo sujeto al número de cepas con mayor antagonismo.

Cuadro 7. diseño experimental

No. De Tratamientos	Tratamiento	Repeticiones
T1	Viride C1	4
T2	Viride C2	4
T3	T10	4
T4	T5	4
Testigo	Testigo absoluto	4

Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.

5.4.1 Mecanismos de acción de *Trichoderma*

Competencia por espacio. Para evaluar la capacidad antagónica o antagonismo de aislamientos de zonas tropicales de *Trichoderma* spp., se utilizó la técnica de Cherif y Benhamou (1990), y cada tratamiento se depositó en un extremo de cajas de Petri con PDA, un disco de 5 mm de diámetro con micelio activo de colonias fungosas de 8 días de edad de *Colletotrichum acutatum* se dejó desarrollar durante 3 días por su crecimiento lento. Posteriormente, en el otro extremo de la caja se depositaron discos de 5 mm de *Trichoderma* spp. Luego permanecieron a $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ durante el tiempo necesario de colonización total por parte de alguno de los tratamientos. Se midió cada 24 h el crecimiento radial del micelio de la colonia de los hongos (Landeró, 2023).

Actividad de antibiosis (metabolitos no volátiles). Durante la evaluación de la inhibición de las cepas de hongos fitopatógenos por el efecto de metabolitos solubles producidos por las cepas nativas y no nativas de *Trichoderma*, se utilizó la metodología sugerida por Dennis y Webster (1971). La cual consistió en utilizar celofán como medio filtrante de metabolitos al medio de cultivo (PDA), para ello se colocó celofán estéril (se aplicó luz ultravioleta) sobre el medio de cultivo, en el centro se dispuso un disco de 5 mm de hongo *Trichoderma* con 10 días de incubación, se ingresó a incubadora a 28 °C por un lapso de 2 a 3 días (12 horas luz y 12 horas de oscuridad), pasado el tiempo se retiró el celofán con cuidado, para evitar que las esporas se mezclaran con PDA, una vez que se retiró el celofán se colocó en el centro del medio de cultivo un disco de 5 mm de hongo fitopatógeno, se llevó a incubar a 28 °C, se realizaron mediciones del diámetro de *Trichoderma*. Cada tratamiento tubo 4 repeticiones (Landeró, 2023). Se tomaron medidas cada 24 horas del crecimiento radial de las repeticiones en cada tratamiento, incluyendo al testigo (*Colletotrichum acutatum*).

Actividad de antibiosis (Metabolitos Volátiles). Para evaluar la inhibición de las cepas de hongos fitopatógenos por el efecto de metabolitos volátiles producidos por las cepas nativas y no nativas de *Trichoderma*, se utilizó la metodología sugerida por Dennis & Webster (1971). Para esta técnica se utilizaron dos cajas de Petri con medio de cultivo (sin las tapas) una sobre la otra (medio de cultivo queda al interior), se sella con película plástica para evitar la contaminación. Una de las tapas con medio de cultivo tuvo a *Trichoderma* desarrollado durante 7 días a temperatura de 25°C, mientras que a la otra tapa se le colocó en la parte central un disco de 5 mm del patógeno tomado de una caja de Petri previamente incubada a 28 grados durante 8 días. Se tomaron medidas del patógeno cada 24 horas del crecimiento radial del micelio, de las repeticiones en cada tratamiento, incluyendo al testigo (*Colletotrichum acutatum*).

Análisis Estadísticos

El diseño empleado fue completamente al azar (DCA), con cuatro repeticiones. Donde el análisis estadístico comprobó que los datos fueran normales a través de la prueba de Shapiro Wilk. Todos los datos fueron analizados a través del programa SAS versión 9.0 (SAS, 1987), las medias fueron comprobadas mediante la prueba Tukey ($p < 0.05$); para

el análisis estadístico de datos se realizaron ANOVAS. Se obtuvieron áreas bajo la curva (AUC) a las cuales también se les aplicaron ANOVAS.

6 Resultados y Discusiones

6.1 Actividad antagónica por parasitismo *in vitro* de cepas de *Trichoderma* aisladas de zonas tropicales en contra de *Colletotrichum acutatum*

6.1.1 Colonización

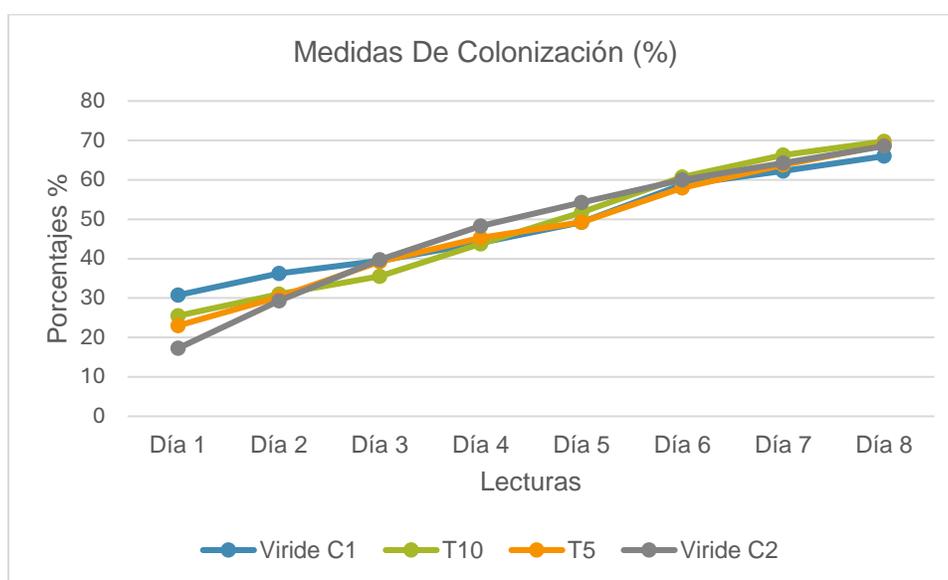
La colonización de *Trichoderma* spp sobre *C. acutatum* a través de las evaluaciones de acuerdo con los días y tratamientos evaluados indicó diferencia estadística sobre todo al principio de la evaluación, posteriormente esta diferencia ya no se presentó notablemente en los días siguientes. Se observa que la cepa T10 (Cuadro 8) tuvo la mayor colonización sobre el patógeno hasta el día de la última lectura, llegando a un 69.75% de colonización, resultados similares se obtuvieron por López-López y colaboradores (2022), en la confrontación de *Trichoderma* spp y *C. gloeosporioides* arrojando un porcentaje del 75% sin mostrar diferencias significativas entre sus diferentes cepas; de igual manera Escobar-Bahena *et al.* (2023) menciona que obtuvo resultados en donde *Trichoderma* presenta porcentajes superiores al 70% en la colonización del patógeno *C. gloeosporioides*, confirmando así que *Trichoderma* en diferentes especies tiene el potencial para utilizarse como control biológico contra *Colletotrichum* spp.

Cuadro 8 Medidas de colonización *in vitro* de *Trichoderma* spp sobre *Colletotrichum acutatum* SGO aislado de flores de limón Persa.

Medidas De Colonización (%)				
Tratamiento	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
Viride C1	30.75 a	36.25 a	39.50 a	44.00 a
T10	25.50 a	31.00 ab	35.50 a	43.75 a
T5	23.00 b	30.25 ab	39.25 a	45.25 a
Viride C2	17.25 b	29.30 b	39.75 a	48.25 a
p.value	0.001185547	0.000728697	0.002576843	0.00002235526

Medidas De Colonización (%)				
Tratamiento	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8
Viride C1	49.25 a	58.75 a	62.25 a	66.00 b
T10	51.75 a	60.70 a	66.25 a	69.75 a
T5	49.25 a	58.00 b	63.75 a	68.75 a
Viride C2	54.25 a	60.00 a	64.25 a	68.55 a
p.value	0.00003844388	0.04844434	0.3197660	0.0713843

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos bajo un p.value de 0.05. Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.



Gráfica 1 Colonización de diferentes cepas de *Trichoderma* sobre *Colletotrichum acutatum* por lectura tomada.

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos bajo un p.value de 0.05. Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC

por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.

Las variaciones estadísticas observadas durante los ocho días evaluados reflejan las diferencias en el potencial de colonización de cada cepa analizada. Todos los tratamientos (cepas de *Trichoderma* aisladas del trópico) demostraron en diversos grados el mecanismo de antagonismo basado en la competencia por espacio, destacando la cepa T10 (cuadro 8) por su rapidez de colonización. Sin embargo, al no haber diferencia estadística los tratamientos tuvieron un comportamiento similar como se puede observar en la Gráfica 1.

El análisis del área bajo la curva indica que la cepa T10 tiende a mostrar una mayor capacidad de colonización sobre el hongo patógeno (Cuadro 8), mientras que la cepa Viride C2 presenta el menor valor de crecimiento sobre este. Aunque durante los ocho días evaluados se observaron diferencias entre las cepas, el valor del área bajo la curva (ABC) no evidencia diferencias significativas desde un punto de vista estadístico, confirmando así que todos los tratamientos fueron colonizados por las diferentes cepas de *Trichoderma* aisladas de una zona tropical.

Cuadro 9 Área bajo la curva de colonización *in vitro* de *Trichoderma* spp sobre *Collectotrichum acutacum* aislado de tejido de flores de limón Persa.

Área Bajo la Curva	
Tratamientos	Valores de área bajo la curva
T10	169.35 a
T5	169.18 a
Viride C1	168.28 a
Viride C2	165.81 a
p.value	0.00000522

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos bajo un p.value de 0.05. Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo

de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.

6.1.2 Inhibición de crecimiento de *Colletotrichum*

La inhibición de *Trichoderma* sobre *C. acutatum* mostrada en las evaluaciones realizadas durante nueve días, indica que la cepa T5 se destaca sobre las demás debido a su capacidad de inhibir el crecimiento del patógeno, alcanzando así en la última lectura un porcentaje de 71.04 % con diferencia estadística entre tratamientos durante toda la evaluación (cuadro 10), de igual manera resultados similares obtenidos por Goñas-Goñas *et al.* (2017) mostraron que cepas de *Trichoderma* alcanzaron porcentajes de inhibición de *Collectotrichum* entre el 61 y 65 %; por otra parte (López-López, 2022), menciona que la capacidad antagónica de cepas de *Trichoderma* contra patógenos como *C. gloeosporioides*, *Diaporthe* sp. y *Phytophthora* dieron como resultado un 90% de inhibición, en este sentido se muestra que *Trichoderma* puede ser potencial de control biológico para *C. acutatum*.

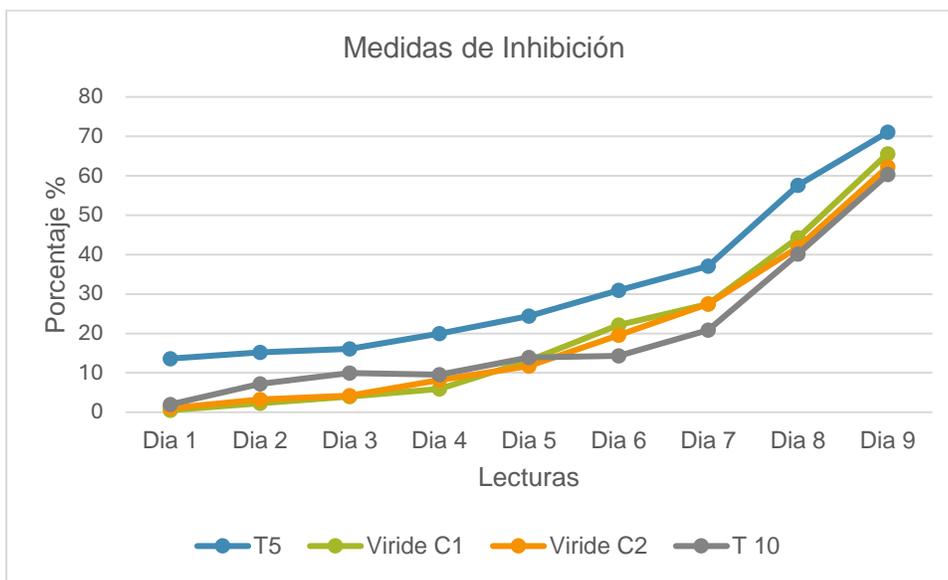
Cuadro 10 Inhibición de *Trichoderma* spp sobre *C. acutatum* SGO aislado de flores de limón Persa.

Medidas de Inhibición %				
Tratamiento	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4
T5	13.62 a	15.19 a	16.07 a	20.00 a
Viride C1	0.52 b	2.26 b	4.01 b	5.93 b
Viride C2	1.04 b	3.22 b	4.18 b	8.20 b
T 10	1.99 b	7.24 ab	9.95 ab	9.51 a
p. value	0.00008839035	00006352410	000952599	000004816011

Medidas de Inhibición %					
Tratamiento	Día 5	Día 6	Día 7	Día 8	Día 9
T5	24.37 a	30.93 a	37.05 a	57.59 a	71.04 a
Viride C1	13.09 ab	22.18 ab	27.43 ab	44.30 ab	65.61 ab

Viride C2	11.69 b	19.56 ab	27.43 ab	41.86 b	62.28 ab
T 10	13.88 ab	14.32 b	20.87 ab	40.11 b	60.30 b
p. value	00002768084	0001098878	0002033910	00003451602	003649178

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos bajo un p.value de 0.05. Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.



Gráfica 2 Colonización de diferentes cepas de *Trichoderma* sobre *Colletotrichum acutatum* por lectura tomada.

Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.

Las diferentes cepas evaluadas mostraron variaciones durante los distintos días de lecturas destacando la cepa T5 que se mantuvo superior a las demás, mostrando un desarrollo más rápido y con mayor competencia contra el patógeno.

Cuadro 11 Área bajo la curva de inhibición *in vitro* de *Trichoderma* sobre *Colletotrichum acutatum* aislado de flores de limón Persa.

Área Bajo la curva	
Tratamientos	Valores de área bajo la curva
T5	190.76 a
Viride	188.19 a
Malta	183.48 ab
T10	159.11 b
P	0.00000522

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos bajo un p.value de 0.05. Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.

El análisis de área bajo la curva comprueba que la cepa más sobresaliente es la cepa T5 debido a su capacidad de inhibición sobre el patógeno (cuadro 10), seguida del tratamiento Viride C1, con el cual no presenta diferencia estadística. Por otra parte, la cepa que mostró menos inhibición sobre *C. acutatum* fue la cepa T10, confirmando los datos obtenidos en el Cuadro 10.

6.2 Actividad antagónica por antibiosis (metabolitos volátiles y no volátiles)

6.2.1 Crecimiento de *Colletotrichum* por metabolitos no volátiles

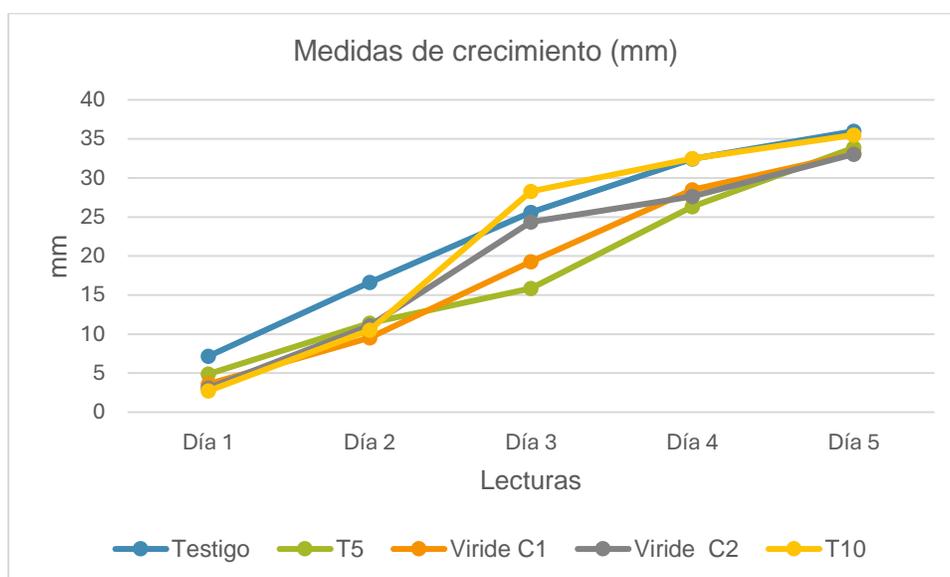
Los resultados obtenidos indicaron que todas las cepas de *Trichoderma* evaluadas causaron un efecto negativo en el crecimiento de *C. acutatum* en comparación con el testigo absoluto, durante los primeros tres días de evaluación. Esto sugiere que las cepas de *Trichoderma* sintetizaron metabolitos no volátiles que ejercieron un efecto inhibitorio sobre el patógeno. Aunque en los últimos dos días de evaluación ya no se presentó diferencias estadísticas entre los tratamientos con el testigo, lo que puede indicar que las concentraciones de los metabolitos secundarios en el medio de cultivo ya no tuvieron efecto o disminuyeron debido al consumo por el patógeno, permitiendo nuevamente el desarrollo de *C. acutatum*. Por lo contrario, Martínez-Cocoa *et al.* (2018) revelan que 13 especies diferentes de *Trichoderma* evaluadas contienen una alta capacidad antagónica por medio de metabolitos no volátiles frente al patógeno *Fusarium* spp, sin embargo los estudios realizados por LeLay *et al.* (2007) señalan que la evaluación de *Trichoderma* spp para combatir *Rosellinia necatrix* mostró una inhibición de un 14 a 27% del crecimiento micelial del patógeno, aunque algunas especies estimularon el crecimiento de este, mencionando que esto lo atribuyen a la poca concentración de metabolitos como gliotoxina, viridina, pacibasina, trichodermina, furanona, trichorziamina y 6-pentil- α -pirona. Cabe señalar que la cepa T5 muestra hasta el día tres una mayor inhibición en el crecimiento de *C. acutatum*, destacándose así en síntesis de metabolitos tanto no volátiles (cuadro 12) como volátiles (cuadro 14).

Cuadro 12 Medias de crecimiento micelial de *C. acutatum* bajo tratamientos a base de metabolitos no volátiles de cepas de *Trichoderma* de zonas tropicales.

Medidas de crecimiento (mm)					
Tratamiento	Día 1	Día 2	Día 3	Día 4	Día 5
Testigo	7.16 a	16.62 a	25.61 ab	32.43 a	35.98 a
T5	4.88 ab	11.40 ab	15.85 b	26.31 a	33.86 a
Viride	3.60 b	9.55 b	19.28 ab	28.49 a	33.08 a
Malta	3.08 b	11.08 ab	24.38 ab	27.63 a	33.05 a

T10	2.71 b	10.52 ab	28.27 a	32.49 a	35.50 a
p.value	0.001002047	0.056651706	0.044491641	0.155877294	0.714549463

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos bajo un p.value de 0.05. Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.



Gráfica 3 Representación gráfica de los resultados por lectura del crecimiento micelial de *C. acutatum* bajo tratamientos a base de metabolitos no volátiles de diferentes cepas de *Trichoderma* aisladas de zonas tropicales.

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos bajo un p.value de 0.05. Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.

Dentro de la gráfica se muestra que durante los primeros días el testigo sobresale en el crecimiento micelial, lo que indica que durante esos días las cepas de *Trichoderma* contenían metabolitos no volátiles que retrasaban el crecimiento del patógeno, contrario a lo que podemos observar en los últimos días en donde los tratamientos fueron similares al testigo en el crecimiento.

Cuadro 13 Área bajo la curva de crecimiento micelial de *C. acutatum* bajo tratamientos a base de metabolitos no volátiles de diferentes cepas de *Trichoderma* aisladas de zonas tropicales.

Área bajo la curva	
Tratamientos	Valores área bajo la curva
Testigo	35161.64 a
T10	33025.47 a
Viride C2	29650.32 a
Viride C1	27645.72 a
T5	26643.27 a
p.value	0.131

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos bajo un p.value de 0.05. Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.

El área bajo la curva indica que no existen diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos y el testigo ya que al concluir el experimento todos los tratamientos igualaron el desarrollo de éste, cabe resaltar que a inicios del experimento se comportaron de manera muy distinta (cuadro 12).

6.2.2 Crecimiento radial de *Colletotrichum* por metabolitos volátiles

Los resultados encontrados indican que no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos durante las primeras 24 horas en comparación con el testigo. Sin embargo,

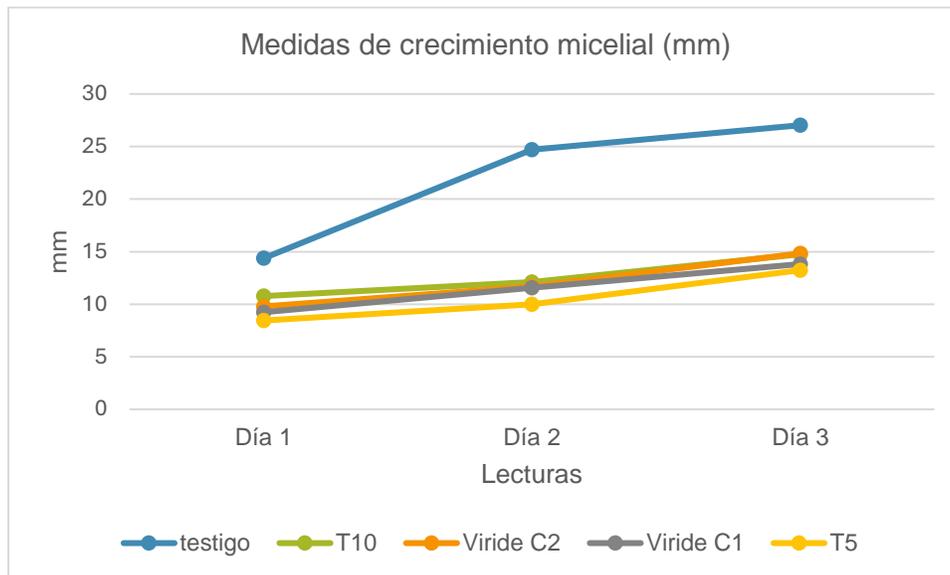
hay un efecto significativo en la inhibición del crecimiento de *C. acutatum*, especialmente por la cepa T5, que se destacó en las evaluaciones finales, reduciendo hasta un 50% el crecimiento del patógeno en comparación con el testigo, también se resalta que todas las cepas mostraron contener metabolitos y reducir el crecimiento del patógeno. Resultados similares publicaron Torres-Torres *et al.* (2023), quienes menciona que al confrontar a *Trichoderma* spp contra patógenos como *Phytophthora capsici*, *Fusarium* sp, y *Rhizoctonia solani*, estos fueron inhibidos en el crecimiento por metabolitos volátiles a partir de las 24 horas desde un 21% hasta un 60%, respectivamente, durante los días evaluados; del mismo modo Soto-Alanis *et al.* (2017) obtuvieron resultados favorecedores contra el fitopatógeno *Drechslera teres*. donde al evaluar diferentes cepas de *Trichoderma* lograron inhibir el crecimiento mediante compuestos orgánicos volátiles entre un 30 hasta un 40%, señalando que *Trichoderma* causa una afectación en la pared celular del patógeno, mostrando así, que los metabolitos volátiles de *Trichoderma* spp. son efectivos en la reducción del crecimiento de *C. acutatum*, con implicaciones significativas para el manejo biológico de enfermedades en cultivos, se recomienda realizar investigaciones adicionales para identificar los mecanismos específicos de acción de estos metabolitos, así como los metabolitos que están actuando.

Cuadro 14 Medidas de crecimiento micelial de *C. acutatum* bajo tratamientos a base de metabolitos volátiles de *Trichoderma* spp.

Medidas de crecimiento micelial de <i>Collectotrichum acutatum</i> (mm)			
Tratamiento	Día 1	Día 2	Día 3
Testigo	14.37 a	24.69 a	27.03 a
T10	10.77 a	12.11 b	14.75 b
Viride C2	9.79 a	11.70 b	14.84 b
Viride C1	9.24 a	11.55 b	13.82 b
T5	8.45 a	9.98 b	13.24 b
p.value	0.35460777	0.01601632	0.01507574

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos bajo un p.value de 0.05. Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC

por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.



Gráfica 4 Representación gráfica de resultados de lectura del crecimiento micelial de *C. acutatum* bajo tratamientos a base de metabolitos volátiles de diferentes especies de *Trichoderma* aislado de zonas tropicales.

Viride C1=Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Viride C2= Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil donde se encontraba establecido un cultivo de cacao.

Es importante señalar que todas las cepas analizadas mostraron la presencia de metabolitos volátiles y una capacidad de reducción en el crecimiento de *C. acutatum* a partir de las 24 horas, destacándose la cepa T5, mientras que la cepa T10 tuvo el menor control del patógeno (cuadro 14). Estos resultados sugieren la posibilidad de controlar el

desarrollo de un patógeno mediante los compuestos volátiles de las distintas cepas de *Trichoderma*.

Cuadro 15 Área bajo la curva del crecimiento de diferentes cepas de *Trichoderma* sobre *C. acutatum* aislado de tejido de flores de limón Persa.

Área bajo la curva	
Tratamientos	Valores del área bajo la curva
Testigo	16594.42 a
T10	9092.80 ab
Malta	8725.13 ab
Viride	8492.13 ab
T5	7614.56 b
p.value	0.0295

Letras iguales indican que no hay diferencias estadísticas entre los tratamientos bajo un p.value de 0.05. Viride =Cepa de *Trichoderma* aislada de suelo de zonas tropicales, proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Malta= Cepa de *Trichoderma aislada* de suelo de Zonas Tropicales en Brasil. T10=*Trichoderma harzianum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales en Brasil. T5= *Trichoderma longibrachiatum* Cepa aislada de suelo de zonas tropicales de Brasil.

Respecto al área bajo la curva los resultados comprueban lo comentado en el cuadro 14, donde la cepa T5 obtuvo una reducción considerable del crecimiento de *Colletotrichum*, en comparación con el testigo absoluto que mantuvo el mismo comportamiento que las cepas restantes.

7 Conclusiones

En el presente estudio, cuyo propósito fue analizar los mecanismos de acción del hongo *Trichoderma spp.* sobre *Colletotrichum acutatum* agente causal de la caída de flores en los árboles de limón Persa, provocando significativas pérdidas económicas, se logró identificar que:

- 1 De acuerdo con la variable de colonización, los resultados de los tratamientos indicaron que la cepa T10, perteneciente a *Trichoderma harzianum*, presentó una mayor capacidad de colonización sobre *Colletotrichum acutatum*. No obstante, los análisis estadísticos no evidenciaron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados.
- 2 El análisis del área bajo la curva para la variable inhibición confirma que la cepa más destacada es la cepa T5 correspondiente a *Trichoderma longibrachiatum*, debido a su mayor capacidad de inhibición sobre el patógeno.
- 3 Se observó que, en relación con los metabolitos no volátiles de *Trichoderma*, los análisis estadísticos indicaron que no existieron diferencias significativas entre los tratamientos evaluados, dado que todos ellos presentaron resultados similares al testigo al concluir la evaluación.
- 4 En contraste, las evaluaciones de metabolitos volátiles indicaron que la cepa T5, perteneciente a *Trichoderma longibrachiatum*, tuvo un efecto negativo en contra del patógeno deteniendo su desarrollo *in vitro*.

8 Literatura Citada

- Agroproductores. (2022). *limon persa o lima persa*. Recuperado en 2024, de <https://agroproductores.com/limon-persa/>
- B.C., S. (1992). *Collectotrichum*. Obtenido de biología, patología y control.
- Bayer. (2018). *Antracnosis en cítricos*. Obtenido de Mi cultivo con Bayer: <https://www.micultivo.bayer.com.mx/es-mx/novedades/articulos/antracnosis-en-citricos.html>
- Canela, J. (2020). *Agroenzimas*. Recuperado en 2024, de el cultivo de limon persa en mexico: <https://agroenzimas.com/>
- Casaca, A. D. (2005). *El cultivo de limon persa*. Obtenido de Guías tecnológicas de frutas y vegetales.
- Chiriboga, H. (2015). *Trichoderma ssp. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura*.
- Danay Infante, B. M. (2009). mecanismos de acción de Trichoderma frente a otros hongos . *Protección Vegetal*, 14-21.
- Escobar-Bahena, E. (2023). Efectividad biológica in vitro de Trichoderma spp., . *Gobierno de Argentina* . (2024). Obtenido de Sistema Nacional de Vigilancia y Monitoreo de plagas : <https://www.sinavimo.gov.ar/plaga/colletotrichum-acutatum>
- Gobierno de Mexico*. (2021). Obtenido de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/plagas-y-enfermedades-comunes-del-limon>
- Gobierno de Mexico*. (2018). Obtenido de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/limon-mexicano-unico-en-el-mundo>
- Goñas, M. G. (2017). Efecto in vitro de controladores biológicos sobre Colletotrichum spp. y Botrytis spp.
- Icidca. (2017). Producción de biopreparados de Trichoderma spp: una revisión. En J. A. Pineda-Insuasti, E. N. Benavides-Sotelo, & Duarte-Trujillo., *Sobre los Derivados de la Caña de Azúcar*. Ciudad de La Habana, Cuba.
- Indira Rojo-Báez, B. Á.-R.-E.-F. (2017). Situación actual de Colletotrichum spp. en México: Taxonomía, Situación actual de Colletotrichum spp. en México: Taxonomía,.

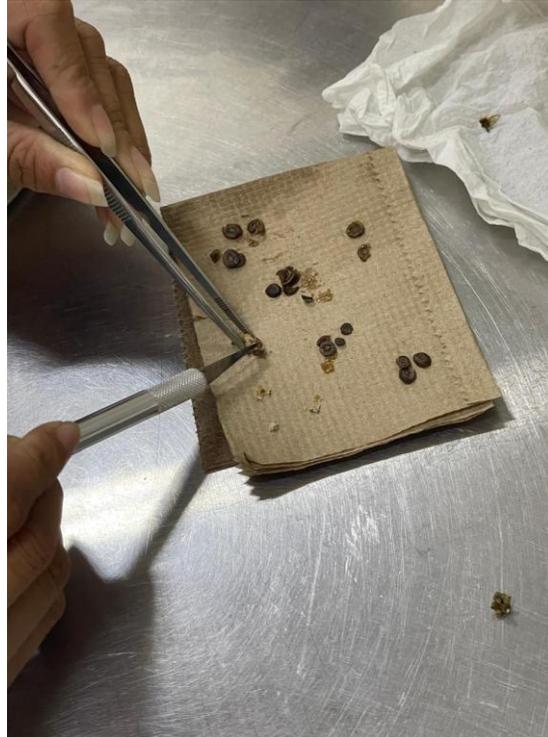
- INIFAP. (2016). Manejo de la antracnosis del cultivo de limon. En D. p. 104, *Centro de Investigación Regional Golfo Centro*. Editorial del CIRGOC.
- INIFAP. (2018). *Manejo integral del cultivo de Limon* . Guadalajara, Jalisco, México: Prometeo Editores S.A. de C.V.
- INTAGRI. (2016). Podas en los Cultivos de Cítricos. *Artículos Técnicos de Intagri*. Obtenido de Podas en los Cultivos de Cítricos.
- INTAGRI. (2017). *Trichoderma*. Obtenido de Instituto pra la inovacion tecnologica agrícola: <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/trichoderma-control-de-hongos-fitopatogenos>
- INTAGRI. (2018). Clima y Suelo para el Cultivo de Limon Persa. *Articulos técnicos de Intagri*, pág. 3. Recuperado en 2024, de Clima y Suelo del Cultivo de Limon Persa .
- Ipta, H. C. (2015). *Trichoderma spp*. Obtenido de protocolos para formulación.
- Koppert. (2018). *Por qué utilizar especies de Trichoderma es una excelente idea para proteger las raíces de tus cultivos?* Obtenido de <https://www.koppert.mx/noticias-item/por-que-utilizar-especies-de-trichoderma-es-una-excelente-idea-para-proteger-las-raices-de-tus-cultivos/>
- Koppert. (2024). Obtenido de manejo integfradi de plagas y enfermedades de lima: <https://www.koppert.mx/cultivos/frutas/lima/#:~:text=El%20cultivo%20de%20la%20lima,y%20pueden%20causarle%20da%C3%B1os%20importantes.>
- Landero, V. (2023). *Trichoderma* aislado de zonas tropicales y semiáridas para el biocontrol de *Colletotrichum acutatum* SGO asociado a antracnosis en el cultivo de limón en Veracruz, México. . 6.
- Landero, V. (2023). *Trichoderma* aislado de zonas tropicales y semiáridas para el biocontrol de *Colletotrichum acutatum* SGO asociado a antracnosis en el cultivo de limón en Veracruz, México. . 7.
- Londoño, G. C. (2007). *uso de metodos multivariantes para la agrupacion uso de metodos multivariantes para la agrupación*. colombia.
- López-López, M. E. (2022). Antagonismo de cepas de *Trichoderma* aisladas en Tanaxuri, Michoacán, México contra patógenos postcosecha del fruto de aguacate (*Persea americana* Mill). *Revista de Ciencias Biológicas y de la Sa*, 24-33.

- M.P. Santamarina, F. G. (2005). Trichoderma: mecanismos de control. *Phytoma*.
- María Estela López-López, C. L.-T.-S. (2022). Antagonismo de cepas de Trichoderma aisladas en Tanaxuri, Michoacán, México contra patógenos postcosecha del fruto de aguacate (*Persea americana* Mill). *Biotecnia*, vol. 25, núm. 1, pp. 24-33, 2023.
- Martínez, F. H.-R. (2020). Generalidades del cultivo,. En H. B.-R. Mauricio Fernando Martínez, *Lima Tahit* (pág. capítulo 1). Agrosavia.
- Martínez-Coca Benedicto, D. I. (2018). Antagonismo de cepas de Trichoderma asperellum. *Revista de Protección Vegetal*.
- national library of medicine* . (s.f.). Obtenido de Queratitis fúngica por Colletotrichum gloeosporioides: A propósito de un caso.: <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC6441994/>
- Paull, Janick. (1945). *La enciclopedia de frutas y frutos secos* . Universidad de Cambridge. Recuperado en 2024, de Universidad de Cambridge: https://books.google.com.mx/books?id=cjHCoMQNkcgC&printsec=frontcover&hl=es&source=gbs_ge_summary_r&cad=0#v=onepage&q&f=false
- S. E. Malo. (2019). *El limon persa*. Recuperado en 2024, de Ciencias Hortícolas, Servicio de Extensión Cooperativa de la Florida, Instituto de Alimentos y Ciencias Agrícolas: <https://edis.ifas.ufl.edu/publication/HS273>
- Sagarpa. (2016). *Planeacion Agricola Nacional*. Recuperado en 2024, de Citricos,Limon,Naranja y Toronja: https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/257073/Potencial-C_tricos-parte_uno.pdf
- Santos, M. O. (2004). Crecimiento y Cambios Morfológicos de Colletotrichum acutatum Simmonds, Agente Causal de la Antracnosis del Limón Mexicano (*Citrus aurantifolia* Christm. Swingle) Incubado en Diferentes Medios. *Revista mexicana de fitopatología*, 423-428.
- Secretaria de Agricultura Rural. (2018). *limon mexicano, unico en el mundo*. Recuperado en 2024, de gob.mx: <https://www.gob.mx/agricultura/es/articulos/limon-mexicano-unico-en-el-mundo>
- Servicio Meteorológico Nacional (SMN). (2023). *Normales climatológicas 1991-2020*.<https://smn.conagua>

- SIAP. (2023). *Cierre de producción agrícola*. Recuperado en 2024, de <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Simons, J. (2020). *Colletotrichum acutatum*. *Senasica*.
- Soto-Alanis Kevin, J. H. (2017). análisis de los efectos de compuestos orgánicos . *jovenes en la ciencia, revista y divulgacion científica*.
- Timmer, L. G. (2000). *Compendium of citrus diseases* (Second Edition ed.). Minnesota, Estados Unidos, Press.
- Torres-Torres, E. (2023). Antagonismo de especies de Trichoderma contra fitopatógenos que causan. *Ecosist. Recur. Agrope*.
- Vanegas, I. M. (2002). *Guia técnica* . nueva san salvador.
- Vanguardia. (2022). *Alimentos*. Recuperado el 28 de 10 2024, de Limón: descubre sus propiedades, beneficios y valor nutricional: <https://www.lavanguardia.com/comer/materia-prima/20211228/5027/limon-propiedades-beneficios-valor-nutricional.html>
- Zain, N. M. (2019). *Effects of fungicides on soil microbial communities and ecosystem functions: A review*. *Environmental Pollution*, 251, 330-340.

9 Anexos

Aislamiento e identificación de *Colletotrichum acutatum* extraído de tejido vegetal infectado de limon Persa.



Cepas proporcionadas por la Comissão Executiva do Plano da Lavoura Cacaueira (CEPLAC por sus siglas en portugués) en Brasil. Las cuales fueron aisladas de suelos donde se encuentra establecido cultivo de cacao.



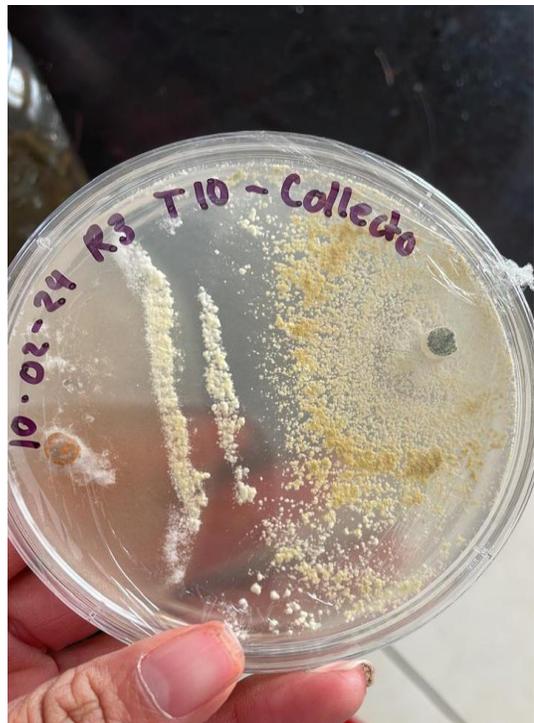
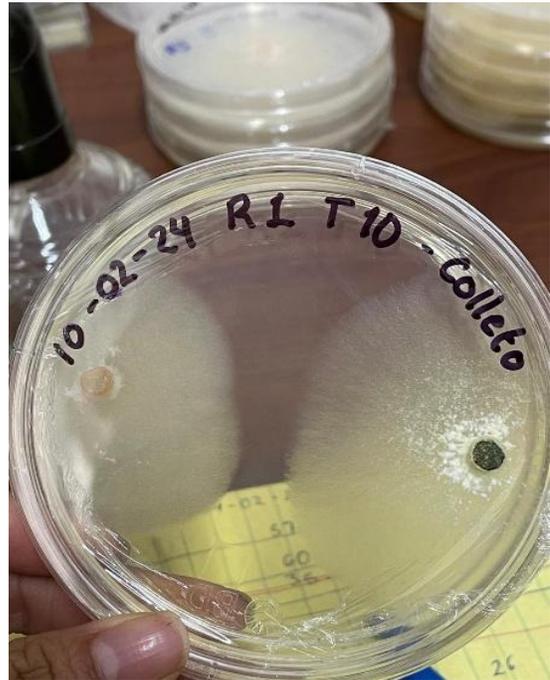
Aislamiento de cepas de *Trichoderma* mediante la siembra en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar



Cepas de *Colletotrichum acutatum* purificado en medios de cultivo papa Dextrosa Agar.



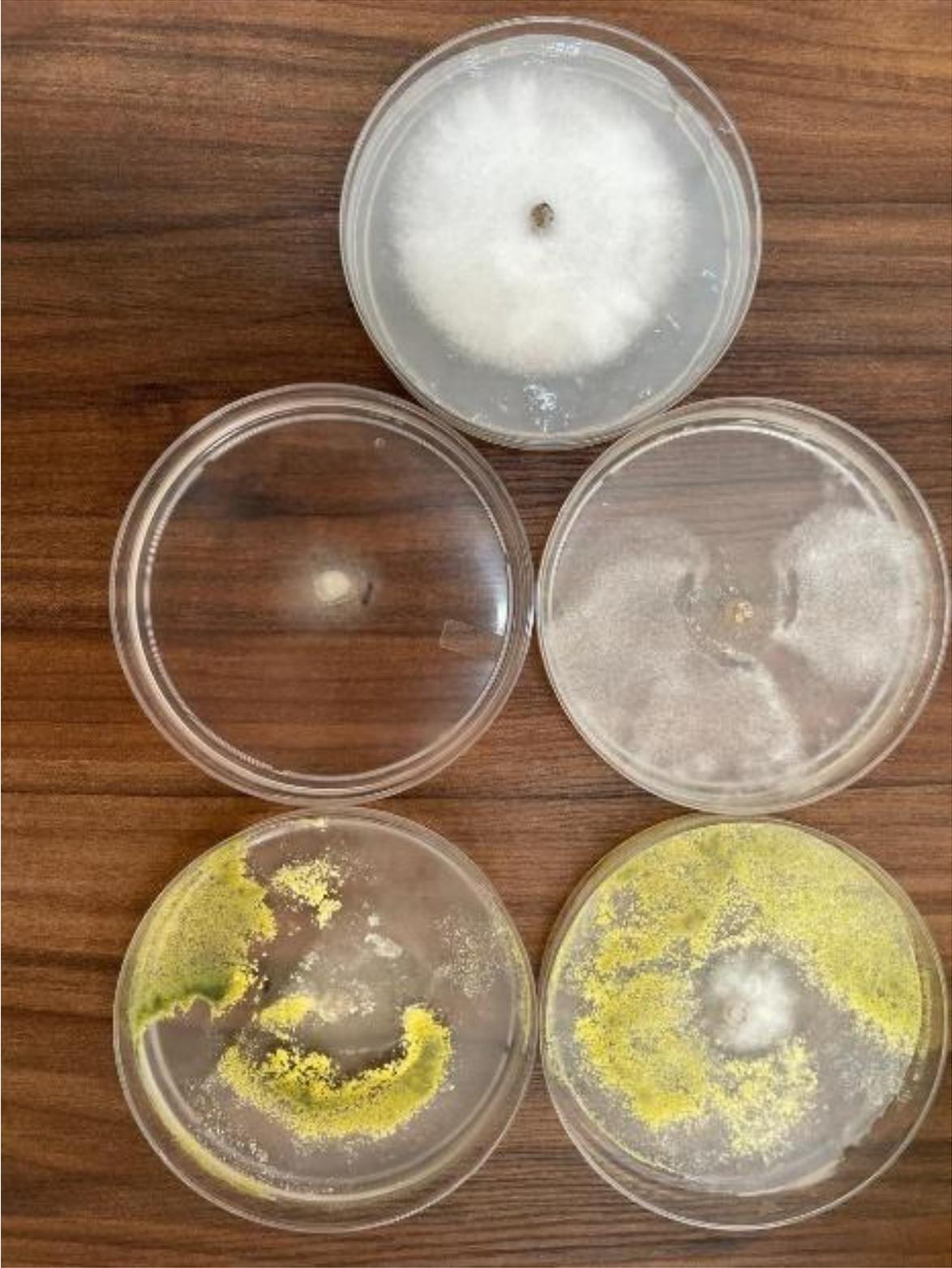
Observaciones del crecimiento de las diferentes cepas en experimento de competencia por espacio.



Establecimiento del experimento de metabolitos volátiles, donde se colocaron dos cajas Petri sin tapas una sobre la otra.



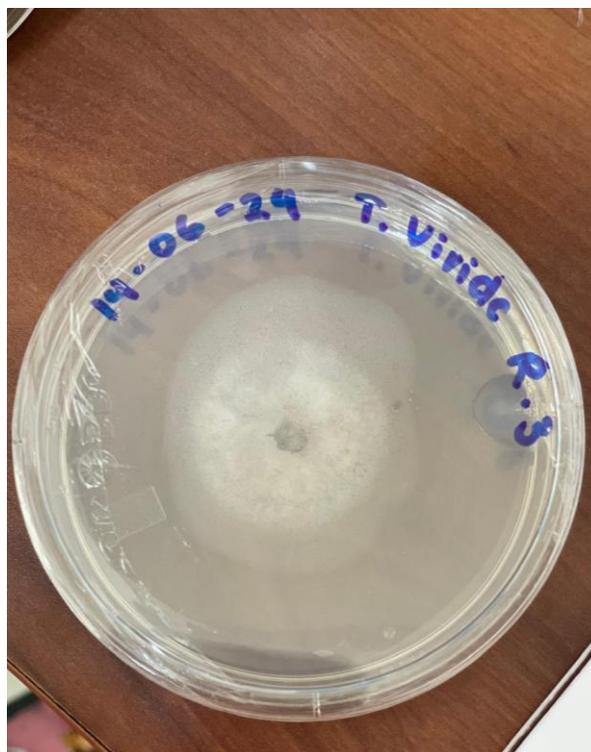
Resultados sobre la evaluación de metabolitos volátiles



Establecimiento de experimento de metabolitos no volátiles, donde se cubrió el medio de cultivo con una capa plástica para sembrar a *Trichoderma* sobre ella, dejandola desarrollar sin que pasara al medio de cultivo.



Resultados finales del experimento de metabolitos no volátiles hasta el último día de evaluación.



Resultados obtenidos en Programa Estadístico de R para la variable Colonización

```
## [1] "Colonizacion"

## `$` 21-feb-24_Colonizacion`
##      Fecha      Variable Tratamiento Colonizacion groups
## Viride 21-feb-24 Colonizacion      Viride      30.75      a
## Testigo 21-feb-24 Colonizacion      Testigo      27.95      a
## T10     21-feb-24 Colonizacion      T10         25.50      a
## T5      21-feb-24 Colonizacion      T5          23.00     ab
## Malta  21-feb-24 Colonizacion      Malta        17.25      b
##
## `$` 22-feb-24_Colonizacion`
##      Fecha      Variable Tratamiento Colonizacion groups
## Testigo 22-feb-24 Colonizacion      Testigo      39.83      a
## Viride  22-feb-24 Colonizacion      Viride       36.25     ab
## T10     22-feb-24 Colonizacion      T10         31.00     bc
## T5      22-feb-24 Colonizacion      T5          30.25     bc
## Malta  22-feb-24 Colonizacion      Malta        29.30      c
##
## `$` 23-feb-24_Colonizacion`
##      Fecha      Variable Tratamiento Colonizacion groups
## Testigo 23-feb-24 Colonizacion      Testigo      48.70      a
## Malta  23-feb-24 Colonizacion      Malta        39.75      b
## Viride 23-feb-24 Colonizacion      Viride       39.50      b
## T5      23-feb-24 Colonizacion      T5          39.25      b
## T10     23-feb-24 Colonizacion      T10         35.50      b
##
## `$` 24-feb-24_Colonizacion`
##      Fecha      Variable Tratamiento Colonizacion groups
## Testigo 24-feb-24 Colonizacion      Testigo      58.455     a
## Malta  24-feb-24 Colonizacion      Malta        48.250     b
## T5      24-feb-24 Colonizacion      T5          45.250     b
## Viride 24-feb-24 Colonizacion      Viride       44.000     b
## T10     24-feb-24 Colonizacion      T10         43.750     b
##
## `$` 25-feb-24_Colonizacion`
##      Fecha      Variable Tratamiento Colonizacion groups
## Testigo 25-feb-24 Colonizacion      Testigo      64.405     a
## Malta  25-feb-24 Colonizacion      Malta        54.250     b
## T10     25-feb-24 Colonizacion      T10         51.750     b
## T5      25-feb-24 Colonizacion      T5          49.250     b
## Viride 25-feb-24 Colonizacion      Viride       49.250     b
##
## `$` 26-feb-24_Colonizacion`
##      Fecha      Variable Tratamiento Colonizacion groups
## Testigo 26-feb-24 Colonizacion      Testigo      67.22      a
## T10     26-feb-24 Colonizacion      T10         60.70     ab
## Malta  26-feb-24 Colonizacion      Malta        60.00     ab
## Viride 26-feb-24 Colonizacion      Viride       58.75     ab
```

```

## T5      26-feb-24 Colonizacion      T5      58.00      b
##
## `$`27-feb-24_Colonizacion`
##          Fecha      Variable Tratamiento Colonizacion groups
## Testigo 27-feb-24 Colonizacion      Testigo      67.005      a
## T10     27-feb-24 Colonizacion      T10          66.250      a
## Malta   27-feb-24 Colonizacion      Malta          64.250      a
## T5      27-feb-24 Colonizacion      T5            63.750      a
## Viride  27-feb-24 Colonizacion      Viride         62.250      a
##
## `$`28-feb-24_Colonizacion`
##          Fecha      Variable Tratamiento Colonizacion groups
## Testigo 28-feb-24 Colonizacion      Testigo         71.955      a
## T10     28-feb-24 Colonizacion      T10            69.750      ab
## T5      28-feb-24 Colonizacion      T5            68.750      ab
## Malta   28-feb-24 Colonizacion      Malta           68.550      ab
## Viride  28-feb-24 Colonizacion      Viride          66.000      b

##          AUC groups
## Testigo 197.7837      a
## Malta   169.3500      b
## Viride  169.1875      b
## T10     168.2875      b
## T5      165.8125      b
##
## attr(,"class")
## [1] "group"

## Tratamiento groups
## 1      Testigo      a
## 2      Malta        b
## 3      Viride        b
## 4      T10           b
## 5      T5            b

## Tratamiento groups max_AUC label_position
## 1      Testigo      a  204.22      214.431
## 2      Malta        b  180.90      189.945
## 3      Viride        b  177.00      185.850
## 4      T10           b  177.50      186.375
## 5      T5            b  182.50      191.625

```

Resultados obtenidos en Programa Estadístico de R para la variable inhibición

```
## [1] "Inhibicion"

## `$`12-feb-24_Inhibicion`
##      Fecha  Variable Tratamiento  Inhibicion groups
## T5      12-feb-24 Inhibicion      T5      71.04417      a
## Viride  12-feb-24 Inhibicion      Viride  65.61495      ab
## Malta   12-feb-24 Inhibicion      Malta   62.28398      ab
## T10     12-feb-24 Inhibicion      T10     60.30813      b
## Testigo 12-feb-24 Inhibicion      Testigo 51.12829      c
##
## `$`13-feb-24_Inhibicion`
##      Fecha  Variable Tratamiento  Inhibicion groups
## T5      13-feb-24 Inhibicion      T5      57.59789      a
## Viride  13-feb-24 Inhibicion      Viride  44.30899      ab
## Malta   13-feb-24 Inhibicion      Malta   41.86103      b
## T10     13-feb-24 Inhibicion      T10     40.11249      b
## Testigo 13-feb-24 Inhibicion      Testigo 30.35563      b
##
## `$`14-feb-24_Inhibicion`
##      Fecha  Variable Tratamiento  Inhibicion groups
## T5      14-feb-24 Inhibicion      T5      37.05254      a
## T10     14-feb-24 Inhibicion      T10     27.43557      ab
## Viride  14-feb-24 Inhibicion      Viride  27.43557      ab
## Malta   14-feb-24 Inhibicion      Malta   20.87854      ab
## Testigo 14-feb-24 Inhibicion      Testigo 14.84608      b
##
## `$`15-feb-24_Inhibicion`
##      Fecha  Variable Tratamiento  Inhibicion groups
## T5      15-feb-24 Inhibicion      T5      30.9326521     a
## Viride  15-feb-24 Inhibicion      Viride  22.1899498     ab
## T10     15-feb-24 Inhibicion      T10     19.5671391     ab
## Malta   15-feb-24 Inhibicion      Malta   14.3215177     b
## Testigo 15-feb-24 Inhibicion      Testigo 0.5075624     c
##
## `$`16-feb-24_Inhibicion`
##      Fecha  Variable Tratamiento  Inhibicion groups
## T5      16-feb-24 Inhibicion      T5      24.37563      a
## T10     16-feb-24 Inhibicion      T10     13.88438      ab
## Viride  16-feb-24 Inhibicion      Viride  13.09754      ab
## Malta   16-feb-24 Inhibicion      Malta   11.69871      b
## Testigo 16-feb-24 Inhibicion      Testigo 0.00000      c
##
## `$`17-feb-24_Inhibicion`
##      Fecha  Variable Tratamiento  Inhibicion groups
## T5      17-feb-24 Inhibicion      T5      20.004274     a
## T10     17-feb-24 Inhibicion      T10     9.513031      ab
## Malta   17-feb-24 Inhibicion      Malta   8.201626      b
## Viride  17-feb-24 Inhibicion      Viride  5.932652      b
```

```

## Testigo 17-feb-24 Inhibicion Testigo 0.000000 b
##
## `$18-feb-24_Inhibicion`
## Fecha Variable Tratamiento Inhibicion groups
## T5 18-feb-24 Inhibicion T5 16.070058 a
## T10 18-feb-24 Inhibicion T10 9.950167 ab
## Malta 18-feb-24 Inhibicion Malta 4.184112 b
## Viride 18-feb-24 Inhibicion Viride 4.017515 b
## Testigo 18-feb-24 Inhibicion Testigo 0.000000 b
##
## `$19-feb-24_Inhibicion`
## Fecha Variable Tratamiento Inhibicion groups
## T5 19-feb-24 Inhibicion T5 15.195788 a
## T10 19-feb-24 Inhibicion T10 7.244057 ab
## Malta 19-feb-24 Inhibicion Malta 3.226543 b
## Viride 19-feb-24 Inhibicion Viride 2.268974 b
## Testigo 19-feb-24 Inhibicion Testigo 0.000000 b
##
## `$20-feb-24_Inhibicion`
## Fecha Variable Tratamiento Inhibicion groups
## T5 20-feb-24 Inhibicion T5 13.6221016 a
## T10 20-feb-24 Inhibicion T10 1.9984360 b
## Malta 20-feb-24 Inhibicion Malta 1.0408673 b
## Viride 20-feb-24 Inhibicion Viride 0.5204336 b
## Testigo 20-feb-24 Inhibicion Testigo 0.0000000 b
##
## AUC groups
## Testigo 232.4375 a
## Malta 190.7675 b
## Viride 188.1912 b
## T10 183.4875 bc
## T5 159.1150 c
##
## attr(,"class")
## [1] "group"
## Tratamiento groups
## 1 Testigo a
## 2 Malta b
## 3 Viride b
## 4 T10 bc
## 5 T5 c
##
## Tratamiento groups max_AUC label_position
## 1 Testigo a 241.115 253.1708
## 2 Malta b 204.930 215.1765
## 3 Viride b 204.940 215.1870
## 4 T10 bc 187.390 196.7595
## 5 T5 c 160.815 168.8558

```

Resultados obtenidos en Programa Estadístico de R para la variable metabolitos no Volátiles de *Trichoderma*.

```
## $`17-jun-24_Crecimiento`
##      Fecha      Variable Tratamiento Crecimiento groups
## Testigo 17-jun-24 Crecimiento      Testigo      7.1675      a
## T5      17-jun-24 Crecimiento          T5      4.8800      ab
## Viride  17-jun-24 Crecimiento      Viride      3.6050      b
## Malta  17-jun-24 Crecimiento          Malta      3.0850      b
## T10    17-jun-24 Crecimiento          T10      2.7175      b
##
## $`18-jun-24_Crecimiento`
##      Fecha      Variable Tratamiento Crecimiento groups
## Testigo 18-jun-24 Crecimiento      Testigo     16.6275      a
## T5      18-jun-24 Crecimiento          T5     11.4000      ab
## Malta  18-jun-24 Crecimiento          Malta     11.0800      ab
## T10    18-jun-24 Crecimiento          T10     10.5200      ab
## Viride  18-jun-24 Crecimiento      Viride      9.5550      b
##
## $`19-jun-24_Crecimiento`
##      Fecha      Variable Tratamiento Crecimiento groups
## T10    19-jun-24 Crecimiento          T10     28.2750      a
## Testigo 19-jun-24 Crecimiento      Testigo     25.6175      ab
## Malta  19-jun-24 Crecimiento          Malta     24.3825      ab
## Viride  19-jun-24 Crecimiento      Viride     19.2800      ab
## T5      19-jun-24 Crecimiento          T5     15.8550      b
##
## $`20-jun-24_Crecimiento`
##      Fecha      Variable Tratamiento Crecimiento groups
## T10    20-jun-24 Crecimiento          T10     32.4900      a
## Testigo 20-jun-24 Crecimiento      Testigo     32.4350      a
## Viride  20-jun-24 Crecimiento      Viride     28.4975      a
## Malta  20-jun-24 Crecimiento          Malta     27.6300      a
## T5      20-jun-24 Crecimiento          T5     26.3100      a
##
## $`21-jun-24_Crecimiento`
##      Fecha      Variable Tratamiento Crecimiento groups
## Testigo 21-jun-24 Crecimiento      Testigo     35.9800      a
## T10    21-jun-24 Crecimiento          T10     35.5075      a
## T5      21-jun-24 Crecimiento          T5     33.8650      a
## Viride  21-jun-24 Crecimiento      Viride     33.0825      a
## Malta  21-jun-24 Crecimiento          Malta     33.0550      a
##
##      AUC groups
## Testigo 35161.64      a
## T10    33025.47      a
## Malta  29650.32      a
## Viride 27645.72      a
## T5      26643.27      a
```

```
##
## attr(,"class")
## [1] "group"

## Tratamiento groups
## 1 Testigo a
## 2 T10 a
## 3 Malta a
## 4 Viride a
## 5 T5 a

## Tratamiento groups max_AUC label_position
## 1 Testigo a 36528.45 38354.87
## 2 T10 a 36573.23 38401.89
## 3 Malta a 35118.14 36874.05
## 4 Viride a 33091.22 34745.79
## 5 T5 a 28105.89 29511.18
```

Resultados obtenidos en Programa Estadístico de R para la variable metabolitos Volátiles de *Trichoderma*.

```
## `$`14-abr-24_Crecimiento`
## Fecha Variable Tratamiento Crecimiento groups
## Testigo 14-abr-24 Crecimiento Testigo 14.370000 a
## T10 14-abr-24 Crecimiento T10 10.776667 a
## Malta 14-abr-24 Crecimiento Malta 9.790000 a
## Viride 14-abr-24 Crecimiento Viride 9.243333 a
## T5 14-abr-24 Crecimiento T5 8.453333 a
##
## `$`15-abr-24_Crecimiento`
## Fecha Variable Tratamiento Crecimiento groups
## Testigo 15-abr-24 Crecimiento Testigo 24.693333 a
## T10 15-abr-24 Crecimiento T10 12.110000 b
## Viride 15-abr-24 Crecimiento Viride 11.700000 b
## Malta 15-abr-24 Crecimiento Malta 11.553333 b
## T5 15-abr-24 Crecimiento T5 9.983333 b
##
## `$`16-abr-24_Crecimiento`
## Fecha Variable Tratamiento Crecimiento groups
## Testigo 16-abr-24 Crecimiento Testigo 27.030000 a
## Malta 16-abr-24 Crecimiento Malta 14.840000 b
## T10 16-abr-24 Crecimiento T10 14.753333 b
## Viride 16-abr-24 Crecimiento Viride 13.820000 b
## T5 16-abr-24 Crecimiento T5 13.240000 b

## Resultados para: 14-abr-24_Crecimiento
## Fecha Variable Tratamiento Crecimiento groups
## Testigo 14-abr-24 Crecimiento Testigo 14.370000 a
```

```

## T10      14-abr-24 Crecimiento      T10      10.776667      a
## Malta    14-abr-24 Crecimiento      Malta     9.790000      a
## Viride   14-abr-24 Crecimiento      Viride    9.243333      a
## T5       14-abr-24 Crecimiento      T5        8.453333      a
##
## Resultados para: 15-abr-24_Crecimiento
##          Fecha      Variable Tratamiento Crecimiento groups
## Testigo 15-abr-24 Crecimiento      Testigo   24.693333      a
## T10     15-abr-24 Crecimiento      T10      12.110000      b
## Viride  15-abr-24 Crecimiento      Viride   11.700000      b
## Malta   15-abr-24 Crecimiento      Malta    11.553333      b
## T5      15-abr-24 Crecimiento      T5       9.983333      b
##
## Resultados para: 16-abr-24_Crecimiento
##          Fecha      Variable Tratamiento Crecimiento groups
## Testigo 16-abr-24 Crecimiento      Testigo   27.030000      a
## Malta   16-abr-24 Crecimiento      Malta    14.840000      b
## T10     16-abr-24 Crecimiento      T10      14.753333      b
## Viride  16-abr-24 Crecimiento      Viride   13.820000      b
## T5      16-abr-24 Crecimiento      T5      13.240000      b
##
##          AUC groups
## Testigo 16594.428      a
## T10     9092.807      ab
## Malta   8725.138      ab
## Viride  8492.318      ab
## T5      7614.562      b
##
## attr(,"class")
## [1] "group"

## Tratamiento groups
## 1      Testigo      a
## 2          T10      ab
## 3        Malta      ab
## 4        Viride      ab
## 5           T5      b

## Tratamiento groups      max_AUC      label_position
## 1      Testigo      a 18753.970      19691.67
## 2          T10      ab 12775.775      13414.56
## 3        Malta      ab 12927.430      13573.80
## 4        Viride      ab  9528.235      10004.65
## 5           T5      b  9533.405      10010.08

```