

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
PROGRAMA DOCENTE DE LA CARRERA DE  
INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN



Pruebas De Efectividad Biológica Para El Control De Fusarium spp. Y Sclerotinia sp.  
En Lechuga (*Lactuca sativa* L.) In Vitro e In Situ En El Municipio De Dr Mora,  
Guanajuato

Por:

**DIEGO FERNANDO CHAVEZ HERNANDEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

Saltillo, Coahuila de Zaragoza, México  
Junio 2026

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO  
DIVISIÓN DE AGRONOMÍA  
PROGRAMA DOCENTE DE LA CARRERA DE  
INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN

Pruebas De Efectividad Biológica Para El Control De Fusarium spp. Y Sclerotinia sp.  
En Lechuga (Lactuca sativa L.) In Vitro e In Situ En El Municipio De Dr Mora,  
Guanajuato

Por:

**DIEGO FERNANDO CHAVEZ HERNANDEZ**

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

**INGENIERO AGRÓNOMO EN PRODUCCIÓN**

Aprobada por el Comité Asesor:



DRA. MA. ELIZABETH GALINDO CEPEDA  
Asesor Principal



DR. FRANCISCO JAVIER SANCHEZ RAMIREZ  
Coasesor



M.C. DANIEL ALDACO GOMEZ  
Coasesor



DR ALBERTO SANDOVAL RANGEL  
Coordinador de la División de Agronomía



## 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.

Pasante

A handwritten signature in blue ink, reading "Diego Fernando Chávez Hernández", with the initials "CH" at the end. The signature is written in a cursive style and is underlined.

Diego Fernando Chávez Hernández

## Resumen

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es la principal hortaliza de hoja en la dieta humana actual, ya que representa una fuente de vitaminas y minerales; tan solo en el estado de Guanajuato en el año agrícola 2024 se cosecharon 6605 hectáreas de este cultivo. Sin embargo, su producción se ha complicado debido al impacto de enfermedades de suelo como lo son marchitamientos, pudriciones y secadera de raíz provocados por patógenos como *Fusarium* spp. y *Sclerotinia* sp. El objetivo de este estudio es identificar el método de control más efectivo para el control de estas enfermedades evaluando tanto en condiciones controladas como en campo abierto. Para el experimento *in vitro* se aislaron dos especies de *Fusarium* y una de *Sclerotinia* de la región productora del noreste de Guanajuato para la realización de pruebas de efectividad biológica (PEB) utilizando un diseño experimental completamente al azar conformado por un testigo, una molécula química (tebuconazole + trifloxystrobin y trifloxystrobyn + fluopyram respectivamente), un extracto de *Larrea tridentata*, una cepa de *Bacillus subtilis* y una de *Tichoderma harzianum* utilizando las técnicas de plato envenenado y competencia. Para la evaluación en campo se establecieron plantas de lechuga tipo iceberg de variedades comerciales (Abdulion y Judalina) en un predio con antecedentes de problemática con ambas enfermedades, se consideró una planta como repetición y se aplicaron los mismos tratamientos. Se realizaron bases de datos con las evaluaciones que resultaron de los monitoreos periódicos basados en las escalas de severidad de realización propia. Así se determinó que el mejor agente de control fue la molécula química para ambas enfermedades, obteniendo comportamientos similares y estables con un efecto fungicida, sin embargo, *T. harzianum* demostró una gran capacidad de inhibición en el crecimiento de todos los hongos, no obstante, su colonización está condicionada por los factores ambientales y el tiempo, lo que significa la posibilidad de crecimiento del hongo durante el periodo de desarrollo del agente de control. El efecto de *L. tridentata* está sujeto a la variabilidad intraespecífica, es decir, depende de la especie a la que se dirija el control. *B. subtilis* no mostró un efecto inhibitor en ninguna de las pruebas realizadas. Los resultados en campo fueron congruentes con las PEB.

## ÍNDICE DE CONTENIDO

|                                                                      |    |
|----------------------------------------------------------------------|----|
| 1. INTRODUCCIÓN .....                                                | 10 |
| 1.1 Objetivo.....                                                    | 12 |
| 1.1.2 Objetivos específicos .....                                    | 12 |
| 1.2 Hipótesis .....                                                  | 12 |
| 2. REVISIÓN DE LITERATURA.....                                       | 13 |
| 2.1 Origen e historia de la lechuga .....                            | 13 |
| 2.2 Clasificación taxonómica.....                                    | 14 |
| 2.3 Descripción botánica.....                                        | 14 |
| 2.3.1 Raíz .....                                                     | 15 |
| 2.3.2 Tallo.....                                                     | 15 |
| 2.3.3 Hoja .....                                                     | 15 |
| 2.3.4 Flor .....                                                     | 15 |
| 2.3.5 Fruto .....                                                    | 16 |
| 2.4 Requerimientos edafoclimáticos .....                             | 16 |
| 2.4.1 Temperatura.....                                               | 16 |
| 2.4.2 Suelo .....                                                    | 16 |
| 2.4.3 Humedad relativa .....                                         | 17 |
| 2.5 Fenología del cultivo .....                                      | 17 |
| 2.6 Producción nacional.....                                         | 18 |
| 2.7 Moléculas químicas.....                                          | 18 |
| 2.7.1 Tebuconazole .....                                             | 19 |
| 2.7.2 Trifloxystrobin .....                                          | 19 |
| 2.7.3 Fluopyram .....                                                | 19 |
| 2.8 <i>Larrea tridentata</i> L.....                                  | 19 |
| 2.9 <i>Bacillus subtilis</i> .....                                   | 20 |
| 2.10 <i>Trichoderma harzianum</i> .....                              | 21 |
| 2.11 <i>Fusarium</i> spp.....                                        | 22 |
| 2.11.1 Clasificación taxonómica (Martínez <i>et al.</i> , 2015)..... | 23 |
| 2.12 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> .....                           | 23 |
| 2.12.1 Clasificación taxonómica.....                                 | 25 |
| 3. MATERIALES Y MÉTODOS.....                                         | 26 |

|       |                                                                           |    |
|-------|---------------------------------------------------------------------------|----|
| 3.1   | Ubicación .....                                                           | 26 |
| 3.2   | Aislamiento de hongos.....                                                | 26 |
| 3.1   | Multiplicación de colonia de <i>Bacillus subtilis</i> .....               | 28 |
| 3.2   | Multiplicación de <i>Trichoderma harzianum</i> .....                      | 29 |
| 3.3   | Pruebas de efectividad biológica .....                                    | 29 |
| 3.4   | Evaluación de la efectividad de los tratamientos .....                    | 30 |
| 3.5   | Evaluación en campo.....                                                  | 31 |
| 3.6   | Material vegetal.....                                                     | 31 |
| 3.7   | Diseño experimental .....                                                 | 32 |
| 3.8   | Preparación del terreno.....                                              | 33 |
| 3.8.1 | Plantación.....                                                           | 33 |
| 3.8.2 | Riego .....                                                               | 33 |
| 3.8.3 | Fertilización .....                                                       | 33 |
| 3.8.4 | Control de plagas y enfermedades.....                                     | 34 |
| 3.9   | Parámetros a evaluar.....                                                 | 35 |
| 3.9.1 | Escalas de severidad .....                                                | 35 |
| 3.9.2 | Parámetros de diámetro, peso, incidencia y severidad. ....                | 36 |
| 4.    | RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....                                              | 37 |
| 4.1   | Identificación de microorganismos patógenos a nivel especie.....          | 37 |
| 4.2   | Pruebas de efectividad biológica dos especies de <i>Fusarium</i> .....    | 40 |
| 4.2.1 | Área de crecimiento.....                                                  | 40 |
| 4.2.2 | Hora de control.....                                                      | 42 |
| 4.2.3 | Tratamiento x <i>Fusarium</i> .....                                       | 43 |
| 4.2.4 | Gráficas de inhibición <i>Fusarium</i> .....                              | 44 |
| 4.3   | Pruebas de efectividad biológica de <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> ..... | 45 |
| 4.3.1 | Área de crecimiento.....                                                  | 45 |
| 4.4   | Evaluación de los resultados obtenidos a campo abierto .....              | 48 |
| 4.4.1 | <i>Fusarium</i> .....                                                     | 48 |
| 4.4.2 | <i>Sclerotinia</i> .....                                                  | 49 |
| 4.4.3 | Gráfica de inhibición <i>S. sclerotiorum</i> .....                        | 51 |
| 4.5   | Conclusiones .....                                                        | 53 |
| 5.    | LITERATURA CITADA.....                                                    | 54 |

|                |    |
|----------------|----|
| 6. Anexos..... | 60 |
|----------------|----|

## ÍNDICE DE FIGURAS

|                                                                                                                                                          |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Figura 1.</b> Representación esquemática del ciclo de <i>Bacillus subtilis</i> . ( <i>Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas</i> )..... | 20 |
| <b>Figura 2.</b> Ciclo y síntomas de la enfermedad causada por <i>Fusarium oxysporum</i> . (Agrios, 2005).....                                           | 22 |
| <b>Figura 3.</b> Ciclo y síntomas de la enfermedad causados por <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> . (Agrios, 2005).....                                    | 24 |
| <b>Figura 4.</b> Aislamientos fúngicos en medios de cultivo sólido.....                                                                                  | 37 |
| <b>Figura 5.</b> Morfología de <i>F. oxysporum</i> (A) y <i>F. chlamydosporum</i> (B).....                                                               | 38 |
| <b>Fig. 6.</b> Formación de un esclerocio (A), crecimiento de <i>S. sclerotiorum</i> en caja Petri (B).....                                              | 39 |
| <b>Fig. 7.</b> Área de crecimiento micelial de <i>F. oxysporum</i> en cada una de las mediciones.....                                                    | 44 |
| <b>Fig. 8.</b> Área de crecimiento micelial de <i>F. chlamydosporum</i> en cada una de las mediciones.....                                               | 45 |
| <b>Fig. 9.</b> Área de crecimiento micelial de <i>S. sclerotiorum</i> en cada una de las mediciones.....                                                 | 51 |

## ÍNDICE DE CUADROS

|                                                                                                                                                                    |    |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| <b>Cuadro 1.</b> Producción de lechuga del año agrícola 2024 en condición de riego y temporal en México (Anuario Estadístico de la Producción Agrícola, 2024)..... | 18 |
| <b>Cuadro 2.</b> Tratamientos <i>in vitro</i> .....                                                                                                                | 30 |
| <b>Cuadro 3.</b> Tratamientos <i>in situ</i> .....                                                                                                                 | 32 |
| <b>Cuadro 4.</b> Calendarización de las aplicaciones de manejo agronómico convencional.....                                                                        | 34 |
| <b>Cuadro 5.</b> Escala de severidad <i>Fusarium</i> spp.....                                                                                                      | 35 |
| <b>Cuadro 6.</b> Escala de severidad <i>Sclerotinia</i> sp. ....                                                                                                   | 35 |
| <b>Cuadro 7.</b> Escala de severidad en raíz <i>Fusarium</i> spp.....                                                                                              | 36 |
| <b>Cuadro 8.</b> Especies identificadas mediante secuenciación por el IPICYT.....                                                                                  | 40 |
| <b>Cuadro 9.</b> Análisis de varianza general para las especies de <i>Fusarium</i> , la hora y las interacciones.....                                              | 40 |
| <b>Cuadro 10.</b> Área y las interacciones Área*especie y Área*Hora.....                                                                                           | 41 |
| <b>Cuadro 11.</b> Interacciones Tratamiento*Hora y Tratamiento*especie.....                                                                                        | 42 |
| <b>Cuadro 12.</b> Análisis de varianza general para el crecimiento de <i>Sclerotinia</i> y la interacción Tratamiento*Hora.....                                    | 46 |
| <b>Cuadro 13.</b> Interacción Área*Tratamiento y Área*Hora.....                                                                                                    | 46 |
| <b>Cuadro 14.</b> Interacción Tratamiento*Hora.....                                                                                                                | 47 |
| <b>Cuadro 15.</b> Medias de peso, diámetro aparente y diámetro aprovechable.....                                                                                   | 48 |
| <b>Cuadro 16.</b> Incidencia y severidad de <i>Fusarium</i> .....                                                                                                  | 49 |
| <b>Cuadro 17.</b> Medias de peso, diámetro aparente y diámetro aprovechable.....                                                                                   | 49 |
| <b>Cuadro 18.</b> Incidencia y severidad de <i>Sclerotinia</i> .....                                                                                               | 50 |



## **Agradecimientos**

### **A Dios**

Por cuidarme, brindarme la fortaleza, inteligencia y salud para realizar mis proyectos de vida, poner en mi camino buenas personas, escuchar mis súplicas y cuidar de mi familia en mi ausencia.

### **A mis padres**

Por darme todo su apoyo y amor, porque nunca faltó pan en la mesa y techo sobre mi cabeza; por llevarme por el buen camino, por hacerme un hombre de bien. Todo esto es por ustedes.

### **A mi hermana**

Por ser un gran ejemplo profesional, por brindarme su apoyo y cariño incondicional y haber estado siempre a mi lado a pesar de las dificultades.

### **A mis profesores**

Por apoyarme e instruirme de la mejor manera, con paciencia, respeto y cariño. Agradezco a la Dra. Denisse Ramírez Rodríguez que, a pesar de no fungir como coasesora, fue parte importante en la realización de este trabajo.

## 1. INTRODUCCIÓN

La lechuga (*Lactuca sativa* L.) es una especie vegetal que pertenece a la familia de las asteráceas. Su origen es del sudoeste asiático, del área alrededor de los ríos Éufrates y Tigris, donde se cree que la humanidad inicio la agricultura y de donde provienen la mayor cantidad de variedades silvestres emparentadas (Lopez y Frezza, 2022). Su nombre genérico procede del latín *Lactis* que significa leche, esto en referencia al látex con apariencia láctica que exudan los tallos de la panta al momento de ser cortados.

Este cultivo se considera como la principal hortaliza de hoja en la dieta humana actual. (Carrasco *et al.* 2016). La lechuga es una gran fuente de vitaminas y minerales; esto se debe principalmente a que se consume fresca, lo que significa que contiene la mayoría de sus nutrientes en comparación a otros vegetales que se cocinan o procesan antes del consumo. (Chaski *et al.* 2022). En el año agrícola (otoño –invierno +primavera verano) del año 2024 se cosecharon 21,746.79 hectáreas de lechuga en el territorio mexicano con un rendimiento promedio de 23.56 toneladas por hectárea, lo que significó un valor productivo de 2,846,703,580 de pesos. En el mismo año, el estado de Guanajuato que ocupa el lugar número uno en la producción total nacional registró una superficie cosechada de 6,605 hectáreas con un rendimiento promedio de 21.59 toneladas por hectárea. (Anuario Estadístico de la Producción Agrícola, 2024).

La reducción que se presentó en el rendimiento promedio por hectárea del estado de Guanajuato respecto a la media nacional registrada en el mismo año puede ser causada a diversos factores tanto bióticos como abióticos; sin embargo, según el Comité Estatal de Sanidad Vegetal de Guanajuato (CESAVEG), quien es el organismo encargado de dar seguimiento a los problemas fitosanitarios asociados

a diversos cultivos producidos en la entidad, a través de la operación de programas y campañas fitosanitarias en coordinación con productores e instituciones federales y estatales; en la región agrícola del estado se presentan problemáticas de plagas y enfermedades como la secadera de raíz (*Fusarium* spp.) que pueden provocar daños en el cultivo en el orden del 30% o más en la producción.

Una de las principales causas en la reducción del rendimiento en lechuga es la constante aparición de enfermedades causadas por patógenos en el suelo como lo son *Fusarium* spp. y *Sclerotinia* spp. Las especies de *Fusarium* son habitantes comunes del suelo y causan marchitamientos y pudriciones radicales y se presentan en cualquiera de las etapas de desarrollo del cultivo (Damicone y Manning, 1985).

En cuanto a *Sclerotinia*; es la causante de la pudrición blanda la principal enfermedad en este cultivo, la cual ocasiona pérdidas considerables para los productores. (Arias *et al.* 2007).

Sin duda los métodos de control químicos son la estrategia mayormente utilizada para el control de estas enfermedades, esto debido a la velocidad en la que se pueden observar los resultados; sin embargo, con la finalidad de reducir costos, evitar fitotoxicidades y resistencias adquiridas de los patógenos a las moléculas los métodos de control biológico han cobrado un gran auge en las producciones intensivas del cultivo de lechuga en los últimos años. Esta nueva metodología de control de algunas problemáticas fitosanitarias ha tomado importancia en los últimos años, fundamentada principalmente en la selección de organismos del suelo con propiedades antagónicas contra quienes son causantes de enfermedades en las plantas y su implementación en manejos agronómicos (Fravel, 2005).

El presente estudio busca encontrar el mejor método de control, indistintamente si es químico o biológico, para el control de *Fusarium* spp. y *Sclerotinia* sp. con la finalidad de dar una alternativa de solución a la gran problemática que enfrenta el estado de Guanajuato, basándose en las estrategias que se tienen actualmente en los sistemas de producción y dando también oportunidad a los nuevos productos biológicos que se están introduciendo al mercado.

## **1.1 Objetivo**

Identificar el método de control más efectivo para *Fusarium spp* y *Sclerotinia sp* en el cultivo de lechuga evaluando cada uno de los patógenos en condiciones controladas y en campo abierto.

### **1.1.2 Objetivos específicos**

- Evaluar el desempeño de productos químicos y biológicos en un escenario real, con un panorama adverso y una problemática tangible.
- Realizar una comparativa entre los resultados que se obtienen con los mismos tratamientos evaluados en laboratorio y a campo abierto.

## **1.2 Hipótesis**

El tratamiento que mostrará mejores resultados es el hongo *Trichoderma harzianum*. evitando la incidencia de ambas enfermedades. Además, incrementará la calidad de la lechuga gracias a sus propiedades estimulantes.

## **2. REVISIÓN DE LITERATURA**

### **2.1 Origen e historia de la lechuga**

Antes de ser domesticada, la lechuga crecía de manera silvestre. No se sabe con exactitud cuáles especies participaron en la evolución que dio lugar a la lechuga que conocemos hoy en día, sin embargo, existe evidencia de que *Lactuca serriola* es uno de sus ancestros directos dado que sus cromosomas son morfológicamente similares y pueden cruzarse libremente (De Vries, 1990; Kesseli et al, 1991; De Vries, 1997).

El centro de origen de esta especie probablemente se encuentra entre Asia Menor y la cuenca del Mediterráneo (Vavilov, 1992), no obstante, la transición a su forma de consumo tuvo lugar en el área del Mediterráneo oriental, en Egipto, cerca del río Éufrates y el río Tigris (Ryder, 1999).

Desde el antiguo Egipto, la lechuga ya en su forma doméstica se extendió a Grecia, Roma y toda la región Mediterránea. La primera indicación de su cultivo en Europa Occidental fue encontrada en el herbario de Schöffer, en 1485, quien describió cuatro tipos de lechuga (De Vries, 1997).

## 2.2 Clasificación taxonómica

La lechuga es una dicotiledónea de la familia Asteraceae. Presenta una amplia diversidad debido a los distintos tipos de hojas y hábitos de crecimiento de las plantas.

*Lactuca sativa* fue descrita por Carlos Linneus de la siguiente manera en 1753, el texto se publicó en Species Plantarum número 2:795.

Reino-----Plantae

División----- Magnoliophyta

Clase -----Magnoliopsida

Orden -----Asterales

Familia-----Asteraceae

Subfamilia -----Cichorioideae

Tribu -----Lactucae

Género-----*Lactuca*

Especie ----- *sativa*

## 2.3 Descripción botánica

La lechuga tipo iceberg se caracteriza por formar un cogollo o cabeza apretada y compacta, su peso oscila entre los 500 y los 1000 gramos.

### 2.3.1 Raíz

Pivotante y gruesa, con adelgazamiento gradual en la profundidad con ramificaciones, frecuentemente no rebasan los 30 cm de profundidad. La mayor densidad de raíces se ubica cerca de la superficie; por tanto, la absorción de nutrientes ocurre en las capas más superficiales del suelo (Jackson, 1995).

### 2.3.2 Tallo

Simple, comprimido, cilíndrico, con hábito de roseta y ramificado, puede alcanzar 1.2 metros de altura cuando transcurre a la etapa reproductiva y termina en una inflorescencia (Krísková *et al.*, 2005).

### 2.3.3 Hoja

Generalmente onduladas y crespas en el exterior, con una nervadura central ancha de color blanco con lámina protuberante, margen sinuoso y sésiles. Las hojas internas son envolventes y acucharadas. El valor comercial es directamente proporcional al grado de compacidad de la cabeza formada (Jackson, 1995).

### 2.3.4 Flor

La inflorescencia es una panícula corimbosa compuesta de capítulos de 15 a 25 flores cada uno con una coloración amarilla (Camacho, 2015) Hay cinco estambres, las anteras están fusionadas formando un tubo. Cuando la flor se abre, el estilo se elonga mientras las anteras dehícen desde adentro y el polen suelto es barrido hacia arriba por el estilo y los pelos del estigma

### 2.3.5 Fruto

Aquenio indehisciente de una sola semilla de entre 3 y 4 milímetros de largo con vilano. Prácticamente es la semilla de la especie. (Ryder, 1999).

## 2.4 Requerimientos edafoclimáticos

La lechuga es cultivada casi en todos los países del mundo. El manejo de los factores climáticos de forma conjunta es fundamental para el funcionamiento adecuado del cultivo ya que todos se encuentran correlacionados y la actuación sobre uno de ellos de manera individual incide sobre el resto (Sanders, 2019).

### 2.4.1 Temperatura

Durante el proceso de la germinación se requiere estar en un rango de 18 a 21°C. Las temperaturas superiores a los 26 °C pueden inhibirla, a esto se le llama termodormancia (Ryder, 1999). En el periodo comprendido desde el trasplante a la cosecha la temperatura óptima se encuentra de los 10 a los 23 °C. La tasa de formación de la cabeza se dispara con aumentos de la intensidad de la luz recibida a una temperatura constante. El ancho y largo de las hojas se ven directamente correlacionados con el largo del día y la intensidad lumínica, los días largos de primavera incrementan el ancho de las hojas; mientras que los días cortos del invierno estimulan el alargamiento de las hojas en su mayoría (Bensink, 1971).

### 2.4.2 Suelo

Requiere suelos franco-arenosos o arenosos-limosos con un contenido alto de materia orgánica, con pH de 5.5 a 7.0, el pH del suelo influye en la asimilación de nutrientes, el pH que proporciona mejores condiciones es ligeramente ácidos. (Ginés y Mariscal 2002). Si el pH del sustrato se encuentra en el rango óptimo la mayoría de los nutrientes mantiene su máximo nivel de solubilidad. (Barbaro *et al.*



2013); y con la capacidad de retención de agua en las capas superficiales donde se encuentran las raíces.

#### 2.4.3 Humedad relativa

Al ser una hortaliza compuesta en gran proporción por agua y tejido blando, la lechuga no tolera periodos de sequía, la humedad relativa puede ir del 80% hasta el 60%, no obstante, la humedad relativa elevada converge con incidencia de enfermedades de tipo fúngicas (Sanders, 2019).

### 2.5 Fenología del cultivo

La lechuga cumple cuatro fases vegetativas y el tiempo que abarcan cada una de ellas depende de la variedad cultivada:

La primera de ellas es la fase de plántula, aquí aparece la radícula y emergen los cotiledones, con el paso de los días se desarrollan pelos absorbentes y culmina con la aparición de la tercera o cuarta hoja verdadera. Este periodo comprende de tres a cuatro semanas y se da principalmente en invernadero (Carrasco, *et al.*, 2016).

La fase de roseta consta principalmente de aparición de hojas con peciolo más cortos progresivamente y termina con la formación de una roseta de 12 a 14 hojas, de la misma manera esta fase dura de tres a cuatro semanas.

La formación de cabeza se da posteriormente con el ensanchamiento y amoldamiento de las hojas, esto causa que las hojas nuevas queden envueltas por las que se forman posteriormente, esta fase dura de dos a tres semanas. En este punto las lechugas se cosechan para comercializarse.

La última etapa es la floración, la cabeza pierde turgencia, las hojas se alargan y el tallo se elonga para culminar con la aparición de la inflorescencia (Lardizbal y Medlicott, 2010).

## 2.6 Producción nacional

En México se producen mayoritariamente las variedades Romana y Orejona, estas aportan el 98% de la cosecha. Gracias a esto el país ha logrado posicionarse como el noveno productor a nivel mundial, con una participación de 1.8 y una tasa media anual de crecimiento de 4.2% (Secretaría de Agricultura, 2024).

En el transcurso del ciclo primavera-verano del año 2024 se registró una superficie sembrada de 11,275.81 ha, de las cuales se cosecharon 11,269.81 ha. De la misma manera durante el resto del año agrícola, es decir, en el ciclo otoño-invierno se sembraron 10482.98 ha y se cosecharon 10,476.48 hectárea (Cuadro 1).

| Cultivo      | Superficie<br>(ha) |                  |             | Producción        | Rendimiento<br>(udm/ha) | PMR<br>(\$/udm) | Valor<br>Producción<br>(miles de<br>Pesos) |
|--------------|--------------------|------------------|-------------|-------------------|-------------------------|-----------------|--------------------------------------------|
|              | Sembrada           | Cosechada        | Siniestrada |                   |                         |                 |                                            |
| Lechuga      | 10,482.98          | 10,476.98        | 6           | 248,725.71        | 23.74                   | 6,177.65        | 1,536,541.11                               |
| <b>Total</b> | <b>10,482.98</b>   | <b>10,476.98</b> | <b>6</b>    | <b>248,725.71</b> | <b>23.74</b>            | <b>6,177.65</b> | <b>1,536,541.11</b>                        |

**Cuadro 1.** Producción de lechuga del año agrícola 2024 en condición de riego y temporal en México. Extraído del Anuario Estadístico de la Producción Agrícola, 2024.

## 2.7 Moléculas químicas

El control químico de enfermedades en la agricultura es una alternativa eficiente, rápida, practica y económicamente viable, no obstante, de la misma manera que las malezas y los insectos las especies de hongos pueden generar resistencia volviendo obsoletas las moléculas destinadas a la protección vegetal generando grandes problemas para los productores y la población en general (Hollomon, 2015; Carmona *et al.*, 2017).

### 2.7.1 Tebuconazole

Es un fungicida sistémico de amplio espectro de la familia de los triazoles usado en la agricultura para el control de hongos en frutales, oleaginosas, cereales y hortalizas tiene una residualidad en el suelo de 49 a 610 días bajo condiciones aeróbicas (Strickland *et al.*, 2004).

### 2.7.2 Trifloxystrobin

Un fungicida relativamente nuevo del grupo de las estrobirulinas, actúa en contra de un amplio rango de patógenos de las plantas. Es efectivo en el control tanto de oomicetes como de ascomicetos (Reuveni, 2001).

### 2.7.3 Fluopyram

Es un nematocida utilizado para el control de distintas especies, sin embargo, se descubrió que esta molécula inhibe el complejo mitocondrial II de la cadena respiratoria aeróbica en hongos lo que ofrece protección completa a las raíces de las plantas contra patógenos del suelo y nematodos agalladores (Avenot *et al.*, 2010; Heiken, 2017).

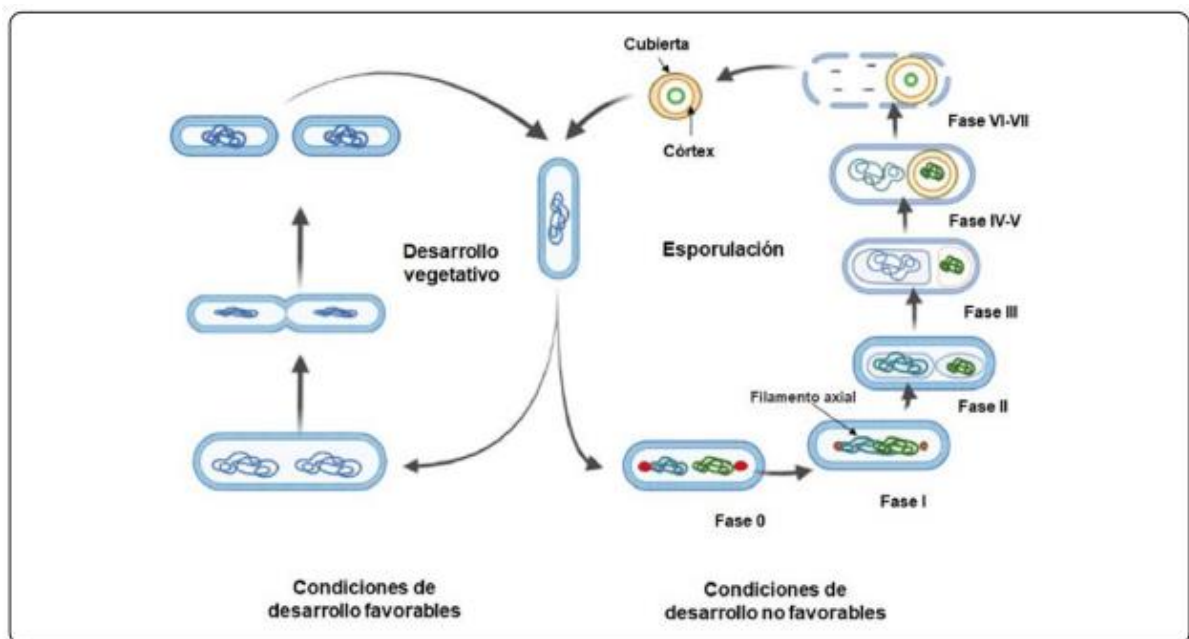
## 2.8 *Larrea tridentata* L.

También conocida como gobernadora, es un arbusto que pertenece a la familia Zygophyllaceae, de porte erecto con crecimiento ramificado en la base que llega a alcanzar los 3 metros de altura. Crece de manera abundante en la región norte del país en altitudes de 400 a 1800 m.s.n.m. Los extractos de esta planta han demostrado tener acción antifúngica bajo condiciones *in vitro* en al menos 17 especies de hongos fitopatógenos. De la misma forma se ha confirmado que pueden inhibir o controlar *in vivo* seis hongos de importancia económica en la agricultura. (Lira-Saldivar *et al.*, 2003; Vargas Arispuro *et al.*, 2006; Jasso *et al.*, 2007).

## 2.9 *Bacillus subtilis*

Es considerado como uno de los microorganismos de mayor importancia en la agricultura actual, ya que se ha demostrado su efectividad en el control de las enfermedades que año con año merman la producción agrícola (Tseng *et al.*, 2020).

Es una procariota ampliamente distribuida en la naturaleza. Su forma es bacilar con un diámetro aproximado de 850 nanómetros, es Gram positiva, aerobia y anaerobia facultativa. Crece en un rango de pH de 4.9 a 9.3 a temperaturas de 10 a 48 °C y tiene la capacidad de formar endosporas (Fig 1). Es conocida por la producción de una gran variedad de compuestos de acción antimicrobiana (Ravel & Fraser, 2005; Errington & Wu, 2017).



**Fig. 1.** Representación esquemática del ciclo de *Bacillus subtilis*. Extraído de Características generales y su aplicación en la agricultura. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*.

## **2.10      *Trichoderma harzianum***

Es de amplia importancia en el panorama de la agricultura actual ya que se ha demostrado su efectividad como promotor del desarrollo de las plantas al ser un habitante común de la rizosfera así como inductor de resistencia a diferentes tipos de estrés (Jangir, Pathak & Sharma, 2017).

Es un hongo aerobio que se aísla a partir de suelos ricos en materia orgánica, con valores de pH ácidos y neutros. Se han descrito más de 200 especies y alrededor del 10% han sido aprovechadas como agentes de control biológico de enfermedades de importancia agrícola. Los factores clave que contribuyen a su efectividad son su rápido crecimiento, su capacidad de colonización y la producción de metabolitos con actividad antimicrobiana.

A continuación, se presenta la clasificación taxonómica de Schoch y sus colaboradores realizada en el año 2020.

Reino-----Fungi

Filo----- Ascomycota

División -----Pezizomycotina

Clase -----Sordariomycetes

Orden-----Hypocreales

Familia -----Hypocreaceae

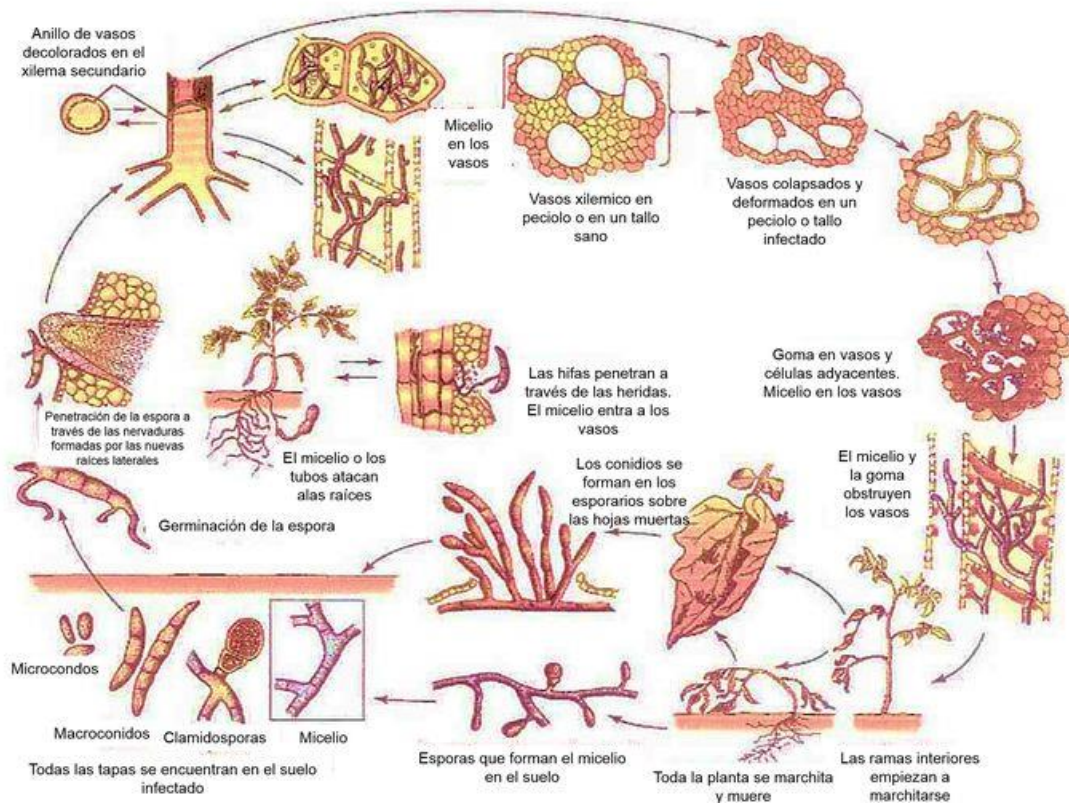
Género -----*Trichoderma*

Especie-----*harzianum*

### 2.11 *Fusarium* spp.

Es un hongo cosmopolita que tiene la capacidad de parasitar más de 100 especies de plantas tanto Gimnospermas como Angiospermas gracias a los diversos mecanismos que tiene para vencer sus defensas (Bosland, 1998). Produce colonias de rápido crecimiento de morfología muy variable, puede ser de tipo micelial aéreo, algodonoso y de coloración variable y pocas microconidas (Booth, 1970) o de tipo pionotal con poca o nula presencia de micelio y abundantes microconidas.

El marchitamiento vascular ocasionado por *Fusarium* spp. es una de las enfermedades que mayores pérdidas ocasiona en el mundo en los últimos años (Garibaldi y Gullino, 1987). Las especies de *Fusarium* causantes de marchitez siguen un patrón similar de infección; penetran por la raíz y colonizan en el tallo de las plantas el sistema vascular (Turlier, *et al.* 1994).



**Fig. 2.** Ciclo y síntomas de la enfermedad causada por *Fusarium oxysporum*. (Agrios, 2005).

### 2.11.1 Clasificación taxonómica (Martínez *et al.*, 2015)

Reino-----Fungi

Filo----- Ascomycota

División ----- Eumycotina

Clase -----Sordariomycetes

Orden-----Hypocreales

Familia ----- Nectriaceae

Género -----*Fusarium*

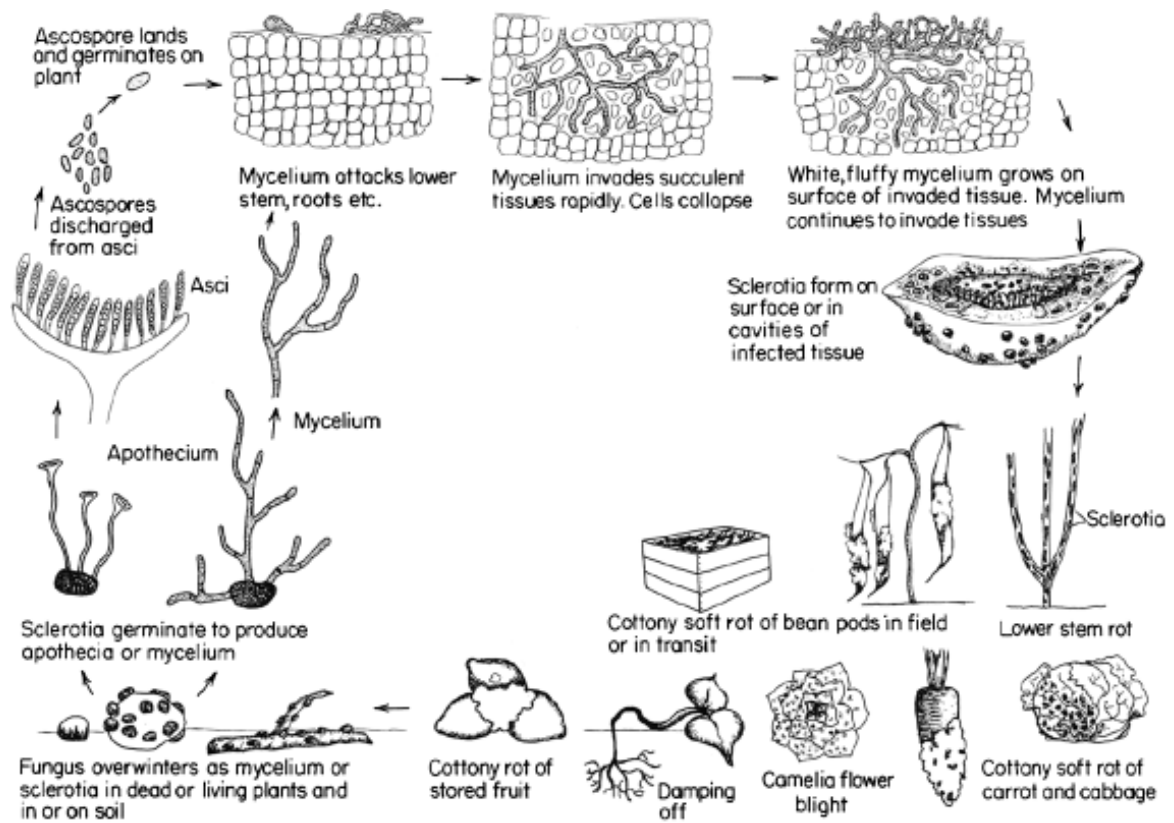
Especies----- *oxysporum*;

*chlamydosporum*

## 2.12 *Sclerotinia sclerotiorum*

Es el patógeno causante de la enfermedad conocida como moho blanco, es un habitante del suelo y que afecta a más de 360 especies de plantas cultivadas, la presencia de esta enfermedad en la lechuga puede derivar pérdidas que van desde el 20 hasta el 70% dependiendo de las condiciones ambientales a las que esté sometida (Pérez 2003).

Los síntomas en la lechuga se manifiestan como marchitez de hojas viejas con la presencia de crecimiento micelial algodonoso blanco hacia la parte basal o centra del tallo a partir del cual se forman los esclerocios, que son las estructuras de reposo compuestas por una porción interna de color claro llamada médula y una cubierta externa negra llamada corteza (Agrios, 2005; Berlín, 1998).



**Fig. 3.** Ciclo y síntomas de la enfermedad causados por *Sclerotinia sclerotiorum*. (Agrios, 2005).



### 2.12.1 Clasificación taxonómica

Se presenta la clasificación realizada por Bolton y sus colaboradores en el año 2006.

Reino-----Fungi

Filo----- Ascomycota

División ----- Eumycotina

Clase -----Discomycetes

Orden-----Helotiales

Familia ----- Sclerotiniaceae

Género -----*Sclerotinia*

Especie----- *sclerotiorum*

### **3. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **3.1 Ubicación**

La primera parte del proyecto, es decir, las pruebas de efectividad biológica se llevaron a cabo en el laboratorio de Fitopatología de licenciatura de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro ubicado en las coordenadas 25°23'36"N 101°00'02"O a una altura de 1783 metros sobre el nivel del mar (msnm).

#### **3.2 Aislamiento de hongos**

La recolección de las muestras se efectuó en un rancho agrícola de explotación intensiva ubicado en el municipio de Doctor Mora en el estado de Guanajuato; donde existen problemáticas graves con enfermedades del suelo y se trabaja constantemente en alternativas de solución.

Se extrajeron dos muestras de suelo con gran presencia de inóculo tanto de *Fusarium* spp, como de *Sclerotinia* spp. en dos parcelas respectivas, la metodología de muestreo que se llevó a cabo fue la remoción del suelo aproximadamente a 30 cm de profundidad en una distribución espacial de cinco de oros para asegurar muestras representativas de los predios infectados.

El suelo se mezcló y se tamizaron 100 gr en tamiz de nematodos de diferentes medidas; para la obtención de *Sclerotinia*, se identificaron y aislaron las estructuras de resistencia del hongo. Para la obtención de *Fusarium*, se pesó 1 gr de la muestra homogeneizada y tamizada previamente, para realizar diluciones hasta llegar a una concentración de  $1 \times 10^3$ , de la cual se realizaron siembras en medios de cultivo PDA de 50  $\mu$ L.

De una planta enferma con sintomatología de *Sclerotinia*, (recolectada del mismo predio del que se obtuvo la muestra de suelo), se extrajeron explantes de micelio activo y se aislaron en cajas Petri con medios de cultivo PDA.

Se cortaron segmentos de la raíz de una planta con sintomatología presente de *Fusarium*.

Los esclerocios se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% durante 2 minutos, se enjuagaron con agua destilada cuatro veces y se dejaron secar por 3 días a temperatura ambiente.

Se desinfectaron los segmentos de raíz siendo sumergidos en hipoclorito de sodio al 3% durante un minuto para posteriormente enjuagarse en agua destilada tres veces durante 30 segundos.

Como medio de cultivo principal para las pruebas se utilizó papa dextrosa agar (PDA) convencional prefabricado de la marca BD Bioxon vaciado en cajas Petri y se esterilizado en el autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos.

Se elaborará también un medio de cultivo PDA de 250 ml adicionado con 1ml de ácido láctico con la intención de bajar el potencial de hidrógeno y se esterilizó en el autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos.

Con la finalidad de estimular la germinación de las estructuras de resistencia del *Sclerotinia* se adicionó un lote de 10 cajas Petri con medio de cultivo PDA con un extracto de lechuga, hirviendo 50 gr de hojas de lechuga en 500 ml de agua destilada (PDA + lechuga) y se esterilizó en el autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos. De la misma manera se realizó un PDA + ajo siguiendo la misma metodología con 50 gr de bulbos de ajo machacados sin cáscara hervidos en 500 ml de agua destilada, además de 1 ml de ácido láctico concentrado y se esterilizó en el autoclave a 15 libras de presión durante 15 minutos.

Para extraer las cepas de *Fusarium* presentes en la muestra se utilizaron dos métodos; el primero fueron las diluciones seriadas y consta de mezclar un gramo de muestra de suelo ya homogénea en 10 ml de agua destilada estéril y diluir secuencialmente de 1 ml de solución en 9 ml de agua destilada en tubos de ensaye hasta llegar a una concentración de  $1 \times 10^3$ . Una vez teniendo la concentración se colocaron 50 microlitros de la misma en un medio de cultivo PDA convencional para extraer la primera cepa de *Fusarium* spp.

El segundo método consta de la siembra directa, lo cual consiste en sembrar los explantes de raíz con sintomatología de *Fusarium* en medios de cultivo PDA convencional.

Todas las siembras se llevaron a incubación a una temperatura de 24 °C.

Se examinaron los crecimientos de las siembras principales y se tomaron explantes de micelio de las especies de interés con el sacabocado para sembrarse en otro medio de cultivo estéril para que crecieran sin contaminantes.

Una vez purificado el hongo se realizaron laminillas y se revisaron bajo el microscopio para identificar las estructuras distintivas de las tres cepas estudiadas.

### **3.1 Multiplicación de colonia de *Bacillus subtilis***

Se preparó un caldo nutritivo para bacterias en un matraz Erlenmeyer siguiendo las instrucciones del fabricante para reproducir una cepa de *B. subtilis* activa, proporcionada por la universidad.

Para su aplicación en campo, se realizó una solución concentrada aproximadamente a  $1 \times 10^8$  en la escala de McFarland; para conocer la cantidad de bacilos por aplicación se realizó un conteo de los mismos en la cámara de Neubauer, se realizó una conversión matemática para determinar la cantidad de solución a suministrar.

### **3.2 Multiplicación de *Trichoderma harzianum***

La multiplicación del hongo se realizó colocando un explante de una cepa de *T. harzianum* proporcionada por la universidad en un medio de cultivo PDA convencional.

Se realizó la reproducción masiva de en arroz estéril, para su aplicación en campo. Se realizó un conteo de esporas en la cámara de Neubauer de una solución de 5gr de arroz inoculado para saber la cantidad de esporas que se suministrarán a las plantas buscando una concentración de  $1 \times 10^8$  en la escala de McFarland, se realizó una conversión matemática para determinar la cantidad de arroz inoculado a suministrar.

### **3.3 Pruebas de efectividad biológica**

Las pruebas de efectividad biológica son ensayos de validez científica que determinan la capacidad de un agente para controlar el desarrollo de los hongos patógenos estudiados.

Para la realización de las pruebas se utilizó un diseño experimental completamente al azar con diez repeticiones por tratamiento para cada especie. Se utilizaron dos unidades experimentales, una para cada enfermedad estudiada.

**Cuadro 2.** Tratamientos *in vitro*

| Patógeno                                                                                                                  | Tratamiento         | Dosis                  | Técnica utilizada |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------------|------------------------|-------------------|
| <i>Fusarium</i>                                                                                                           | Testigo             | 0                      |                   |
| <i>Fusarium</i>                                                                                                           | Consist max         | 1 ml/l                 | Plato envenenado  |
| <i>Fusarium</i>                                                                                                           | Kateme              | 1.25 ml/l              | Plato envenenado  |
| <i>Fusarium</i>                                                                                                           | <i>B.subtilis</i>   | 50 µl                  | Competencia       |
| <i>Fusarium</i>                                                                                                           | <i>T. harzianum</i> | Explante sacabocado #5 | Competencia       |
| <i>Sclerotinia</i>                                                                                                        | Testigo             | 0                      |                   |
| <i>Sclerotinia</i>                                                                                                        | Luna sensation      | 1.68 ml/l              | Plato envenenado  |
| <i>Sclerotinia</i>                                                                                                        | Kateme              | 1.25 ml/l              | Plato envenenado  |
| <i>Sclerotinia</i>                                                                                                        | <i>B.subtilis</i>   | 50 µl                  | Competencia       |
| <i>Sclerotinia</i>                                                                                                        | <i>T. harzianum</i> | Explante sacabocado #5 | Competencia       |
| Consist max-Tebuconazole+Trifloxystrobin, Kateme-Extracto <i>L. tridentata</i> , Luna sensation-Fluopyram+Trifloxystrobin |                     |                        |                   |

La técnica de plato envenenado consistió en adicionar en la preparación de cada uno de los medios de cultivo el fungicida a evaluar, para posteriormente realizar la siembra. La técnica de competencia consta de colocar un explante del micelio del patógeno en un extremo de la caja Petri y; de la misma manera en el hemisferio contrario colocar el agente de control biológico en cantidad equivalente.

### 3.4 Evaluación de la efectividad de los tratamientos

Para efectos de una correcta evaluación de resultados se realizó un análisis de varianza factorial con las respectivas pruebas de medias de Tukey para cada una de las unidades experimentales.

El análisis factorial es una aplicación sistemática del método que sirve para obtener cierto tipo de contrastes ortogonales entre tratamientos.

La dinámica de evaluación de resultados fue la misma para ambos patógenos, se midió el crecimiento radial cada 24 horas en los cuatro puntos cardinales de cada uno de los explantes de hongo fitopatógeno sembrado hasta que las diez repeticiones de los testigos se cubrieron por completo de micelio.

Cuando el crecimiento del patógeno se detuvo se generó una marca transparente alrededor del micelio, a esa marca se le denomina halo de inhibición, se da cuando un agente de control imposibilita el crecimiento del micelio del hongo.

Se realizó también una medición 15 días después de la última medición registrada, esto con la finalidad de determinar si el producto tiene una acción fungicida o fungistática.

Con las mediciones recopiladas se formó una base de datos y se realizó el análisis estadístico para determinar cuál tratamiento es más efectivo en base a dónde creció en menor cantidad el patógeno.

### **3.5 Evaluación en campo**

El proyecto en campo se llevó a cabo en el rancho Florencia, propiedad del grupo Agrícola Nieto S de P.R. de R.L. De C.V ubicado en la localidad de Doctor Mora, municipio del noreste del estado de Guanajuato en las coordenadas 21°10'52"N 100°44'88"O a 2035 msnm. El clima de esta región esta denominado templado semiárido con lluvias en verano, la temperatura media anual es de 19.2 grados centígrados y la precipitación anual es próxima a los 697.6mm.

### **3.6 Material vegetal**

Los materiales que se utilizaron son lechugas tipo iceberg, la primera variedad fue la denominada Abdulion, la cual se emplea en la región ya mencionada en temporada de lluvias, debido a su alta productividad, uniformidad en tamaños y tolerancia a enfermedades como *Bremia lactucae*. La segunda variedad fue Judalina de la cual destaca su tamaño compacto, calidad fitosanitaria y especialmente, resistencia genética a *Fusarium* 1.

### 3.7 Diseño experimental

El experimento se estableció en el ciclo primavera-verano del año 2025.

El diseño experimental que se utilizó es bloques completamente al azar que consta de dos bloques con cuatro tratamientos y un testigo respectivamente. Los agentes de control a evaluar fueron los utilizados en las pruebas *in vitro* con las mismas dosis. Para la evaluación del control de *Fusarium* spp, se utilizó Consist max, Kateme, *B. subtilis*, y *T. Harzianum*. Para la evaluación de *Sclerotinia* sp. únicamente se sustituyó la molécula química por Luna sensation.

Cada bloque consistió de los cinco tratamientos con 10 repeticiones respectivas a cada uno de ellos. En un segmento de surco de aproximadamente 10 metros de largo en una parcela con una densidad de población de 85,000 plantas por hectárea ( $\text{ha}^{-1}$ ).

**Cuadro 3.** Tratamientos *in situ*

| Patógeno           | Tratamiento         | Dosis     | Método de aplicación |
|--------------------|---------------------|-----------|----------------------|
| <i>Fusarium</i>    | Testigo             | 0         |                      |
| <i>Fusarium</i>    | Consist max         | 1 ml/l    | Al follaje           |
| <i>Fusarium</i>    | Kateme              | 10 ml/l   | A la base del tallo  |
| <i>Fusarium</i>    | <i>B.subtilis</i>   | 7.5 ml/l  | A la base del tallo  |
| <i>Fusarium</i>    | <i>T. harzianum</i> | 25 gr     | A la base del tallo  |
| <i>Sclerotinia</i> | Testigo             | 0         |                      |
| <i>Sclerotinia</i> | Luna sensation      | 1.68 ml/l | Al follaje           |
| <i>Sclerotinia</i> | Kateme              | 10 ml/l   | A la base del tallo  |
| <i>Sclerotinia</i> | <i>B.subtilis</i>   | 7.5 ml/l  | A la base del tallo  |
| <i>Sclerotinia</i> | <i>T. harzianum</i> | 25 gr     | A la base del tallo  |

Consist max-Tebuconazole+Trifloxystrobin, Kateme-Extracto *L. tridentata*, Luna sensation-Fluopyram+Trifloxystrobin



### **3.8 Preparación del terreno**

El predio designado al experimento fue subsolado a una profundidad de 50 cm, se dieron ocho pasadas de rastra para mullir el terreno hasta conseguir que se viera fino y uniforme; posteriormente se niveló el terreno y se marcaron las camas a un metro de distancia entre cada una de ellas. Las camas se moldearon con el encamador y se compactaron ligeramente con un rodillo para marcar las hileras de plantación y la guía para la cinta de riego.

#### **3.8.1 Plantación**

El día 29 de junio del 2025 se llevó a cabo la plantación, el procedimiento consta de enterrar el cepellón completo de la planta y tapar con tierra sin ejercer presión excesiva. La densidad de plantación fué de ocho punto cinco plantas por metro lineal a doble hilera, es decir, las plántulas estarán dispuestas aproximadamente a 24 cm de distancia en las hileras, alternando al centro la posición de las plantas.

#### **3.8.2 Riego**

Se proporcionaron al cultivo dos riegos de auxilio semanales de cuatro horas cada uno de ellos con cinta de riego de 250 l por hora con goteros dispuestos cada 20 cm de la marca Irritec Tape®. Los riegos estuvieron condicionados al nivel de humedad que había en el suelo.

#### **3.8.3 Fertilización**

La base de la fertilización fue la fórmula 100–75–50 (NPK), que comprende las unidades necesarias de los tres macronutrientes principales para el correcto desarrollo de la planta.

Se proporcionó una fertilización rica en macro y micronutrientes, vigilando la influencia vegetativa de los fertilizantes nitrogenados y se complementó con fertilizantes foliares. Para tal efecto se administraron sales inorgánicas como lo son el fosfonitrato, el nitrato de calcio y el fosfato monoamónico técnico.

#### 3.8.4 Control de plagas y enfermedades

Se realizaron aplicaciones de insecticidas semanalmente, rotando ingredientes activos y modos de acción; de acuerdo a lo programado en el manejo convencional del técnico encargado del rancho.

| Aplicación | Comercial                         | Fecha      |
|------------|-----------------------------------|------------|
| I          | Belt +Muralla max                 | 07/07/2025 |
| II         | Previcur + Proclaim + Mustang max | 17/07/2025 |
| III        | Benevia + Confidor + Previcur     | 24/07/2025 |
| IV         | Pleo +Kuik + Movento              | 30/07/2025 |

**Cuadro 4.** Calendarización de las aplicaciones de manejo agronómico convencional.

Las aplicaciones del manejo agronómico convencional fueron todas vía foliar con un aspersor de aguilones marca Jacto de 800 litros.

En las unidades experimentales se aplicaron los insecticidas de manera normal de acuerdo al manejo agronómico convencional. Los fungicidas fueron restringidos para evitar posibles afectaciones en la expresión de resultados de los tratamientos evaluados.

En el caso del experimento, las moléculas químicas se aplicaron al follaje de la planta; las cepas de *B. subtilis* y *T. harzianum*, así como el extracto de *L. tridentata* fueron dirigidas a la base del tallo de la planta y se aplicaron con atomizadores convencionales de un litro.

### 3.9 Parámetros a evaluar

Se monitoreó la incidencia de las enfermedades en las plantas dos veces a la semana durante todo el ciclo vegetativo, registrando su presencia en un formato y utilizando una escala de severidad de autoría propia por comparación.

#### 3.9.1 Escalas de severidad

**Cuadro 5.** Escala de severidad *Fusarium* spp.

| Escala de severidad de la parte aérea de lechuga. |                                                                 |
|---------------------------------------------------|-----------------------------------------------------------------|
| Nivel 0                                           | Planta completamente sana y turgente color verde intenso        |
| Nivel I                                           | Planta marchita con clorosis en hojas viejas                    |
| Nivel II                                          | Planta turgente con desecación en hojas basales y superficiales |
| Nivel III                                         | Planta sin turgencia, desecación de hojas jóvenes               |
| Nivel IV                                          | Senescencia de las hojas y pudrición completa de la raíz        |

Fuente: Fernando Chávez 2025

**Cuadro 6.** Escala de severidad *Sclerotinia* sp.

| Escala de severidad de la parte aérea de lechuga. |                                                                                                   |
|---------------------------------------------------|---------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nivel 0                                           | Planta turgente y vigorosa color verde intenso                                                    |
| Nivel I                                           | Clorosis en hojas viejas, presencia de micelio en la nervadura central                            |
| Nivel II                                          | Planta poco turgente micelio extendido alrededor del tallo, formación de esclerocios              |
| Nivel III                                         | Pudrición intensa en la unión de raíz y tallo, consistencia acuosa en la parte basal de las hojas |
| Nivel IV                                          | Pudrición en toda la planta, bajo el tejido necrosado gran cantidad de esclerocios                |

Fuente: Fernando Chávez 2025

### 3.9.2 Parámetros de diámetro, peso, incidencia y severidad.

Cuando se cumplió el ciclo vegetativo de la lechuga y se encontraba en condiciones de ser cosechada se evaluó el rendimiento de cada uno de los tratamientos mediante el registro del peso, el diámetro del follaje y el diámetro aprovechable de cada repetición.

Adicionalmente se utilizó una escala de severidad para el sistema radicular de la planta que identificará la presencia de *Fusarium* que no se expresa en la parte aérea de la planta.

**Cuadro 7.** Escala de severidad en raíz *Fusarium* spp.

| Escala de severidad de la raíz de lechuga. |                                                                                                                          |
|--------------------------------------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| Nivel 0                                    | Tallo color verde blanquecino con haces vasculares visiblemente en buen estado                                           |
| Nivel I                                    | Tallo color verde blanquecino con tonalidades rojo intenso en partes de los haces vasculares                             |
| Nivel II                                   | Halo de consistencia viscosa, coloración marrón en el centro del tallo con haces vasculares totalmente color café rojizo |
| Nivel III                                  | La coloración café rojizo se extiende por todo el tallo, desprendimiento de pelos radiculares                            |
| Nivel IV                                   | Tallo color marrón y consistencia viscosa, desprendimiento de la parte aérea                                             |

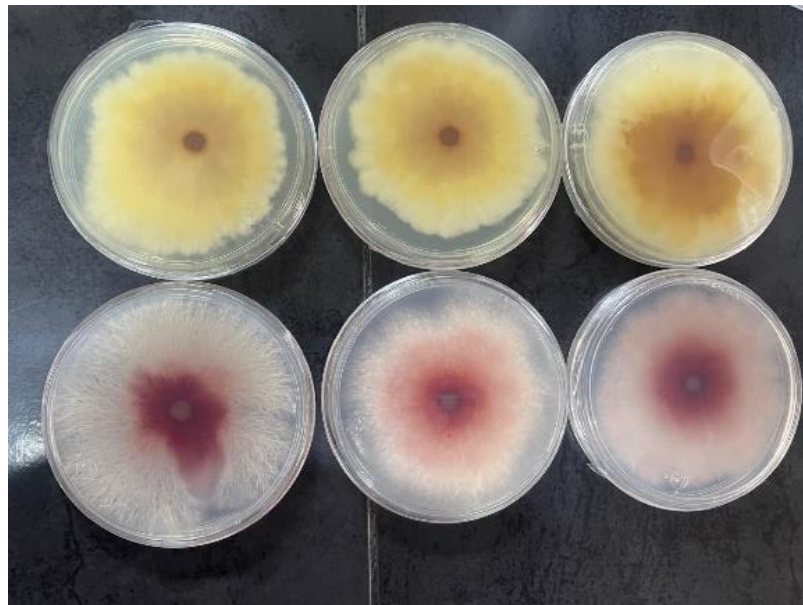
Fuente: Fernando Chávez 2025

Los datos obtenidos conformaron una base de datos que fue utilizada para la evaluación de resultados en diferentes tipos de análisis de varianza y pruebas de medias en el programa SAS.

## 4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

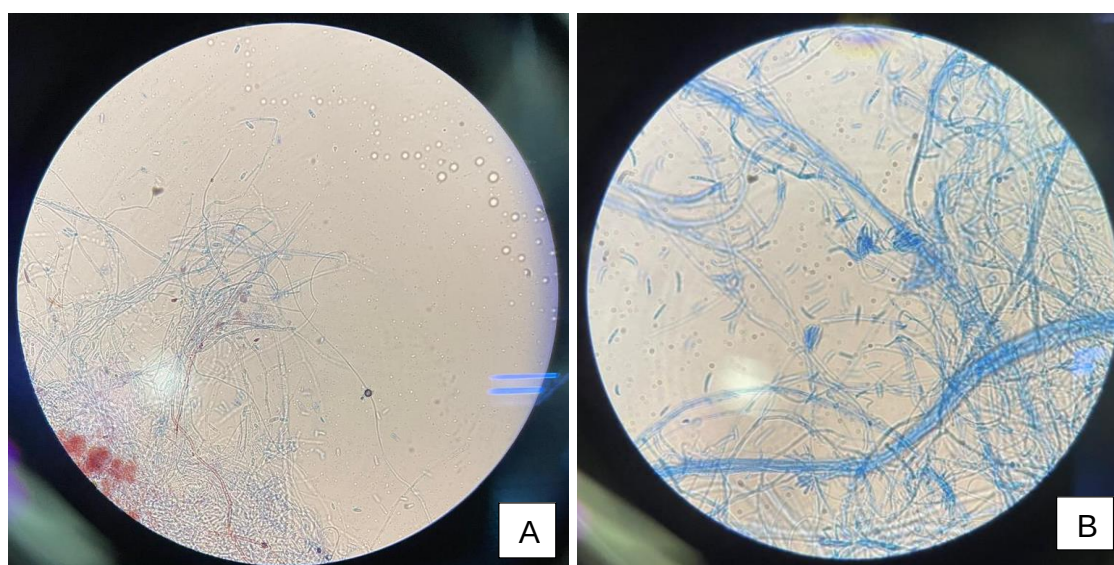
### 4.1 Identificación de microorganismos patógenos a nivel especie

En las siembras realizadas se obtuvieron dos crecimientos miceliales de los aislamientos fúngicos cultivados en medio de cultivo sólido. Se observa una variación en la morfología y pigmentación de las colonias (Fig. 4). Algunas colonias muestran micelio blanco abundante y algodonoso con pigmentación amarillenta y un centro más oscuro característico de *F. chlamydosporum*, mientras que el resto presentan un crecimiento radial uniforme y pigmentación rojiza o púrpura concentrada en la región central características de la especie *F. oxysporum*. Estas diferencias en color, textura y patrón de crecimiento reflejan la variabilidad fenotípica entre los aislamientos evaluados y constituyen características útiles para su identificación y caracterización microbiológica.



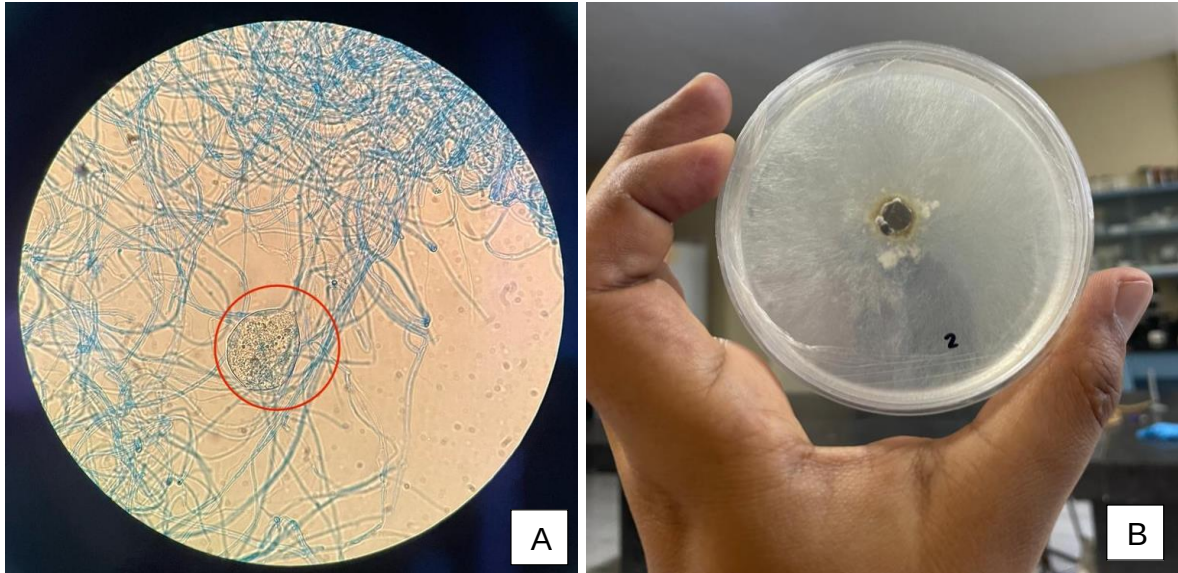
**Fig. 4.** Aislamientos fúngicos en medios de cultivo sólido.

A nivel microscópico, se identificaron microconidias abundantes de un septo con una forma ovoide, macroconidias en forma de hoz con 3 a 5 septos clamidiosporas presentes y abundantes, generalmente en pares en el micelio algodonoso de color amarillo características distintivas de *F. chlamydosporum*. Así mismo se identificó otra con una coloración característica rojo intenso y un micelio con un crecimiento más sutil y menos voluminosa, bajo el microscopio se observaron microconidias abundantes de forma arriñonada, numerosas macroconidias ligeramente curvas, clamidiosporas presentes en pares que son características de *F. oxysporum* (Leslie y Summerell 2006).



**Fig 5.** Morfología de *F. oxysporum* (A) y *F. chlamydosporum* (B).

De las muestras sembradas para la obtención de *Sclerotinia*, no se logró promover la germinación de las estructuras de resistencia obtenidas en la tamización de suelo, no obstante, del micelio activo que se sembró se realizó una multiplicación exitosa produciendo micelio blanco muy delgado. A nivel microscópico se observaron ascosporas aéreas que salen de apotecios, así como el proceso de formación de un esclerocio (Fig 6).



**Fig.6.** Formación de un esclerocio (A), crecimiento de *S. sclerotiorum* en caja Petri (B).

Los aislamientos obtenidos fueron enviados al Instituto Potosino de Investigación Científica y Tecnológica A.C. (IPICYT) para su identificación mediante técnicas de secuenciación molecular de ADN. La secuenciación se realizó utilizando el método de terminación de cadena por didesoxinucleótidos marcados, empleando los secuenciadores automatizados modelo 3130 y 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems) y los iniciadores (primers) U1 y U2 desarrollados por LANBAMA.

Para determinar la identidad genética de los aislamientos, las secuencias obtenidas fueron analizadas y comparadas con las disponibles en las bases de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI) mediante la herramienta BLAST (Basic Local Alignment Search Tool). Los porcentajes de similitud obtenidos con respecto a las secuencias depositadas en GenBank se presentan en el Cuadro 8.

**Cuadro 8.** Especies identificadas mediante secuenciación por el IPICYT

| Código | Especie                         | Similitud % |
|--------|---------------------------------|-------------|
| FA     | <i>Fusarium chlamydosporum</i>  | 100.00      |
| FB     | <i>Fusarium oxysporum</i>       | 100.00      |
| S1     | <i>Sclerotinia sclerotiorum</i> | 99.80       |

Comparación realizada con datos del GenBank

## 4.2 Pruebas de efectividad biológica dos especies de *Fusarium*

### 4.2.1 Área de crecimiento

Con el área que se calculó en cada una de las mediciones se realizó un análisis de varianza con las respectivas pruebas de Tukey para determinar el tratamiento que inhibió en mayor medida el crecimiento de las especies de *Fusarium*.

**Cuadro 9.** Análisis de varianza general para las especies de *Fusarium*, la hora y las interacciones.

| FV            | GL | CM             |
|---------------|----|----------------|
| Tratamiento   | 4  | 103598647.7 ** |
| Fus           | 1  | 15841301 **    |
| Hora          | 7  | 54604489 **    |
| Trat*Fus      | 4  | 28938392 **    |
| Trat*Hora     | 28 | 9753276 **     |
| Fus*Hora      | 7  | 3239790 **     |
| Trat*Fus*Hora | 28 | 2558061 **     |

Trat-Tratamientos, Fus-Especies de *Fusarium*.

El análisis de varianza realizado para el área de crecimiento mostró diferencias altamente significativas ( $p \leq 0.01$ ) entre los tratamientos, las especies de *Fusarium* y las horas de evaluación. Asimismo, se encontraron diferencias altamente significativas en todas las interacciones evaluadas (Tratamiento  $\times$  *Fusarium*,



Tratamiento  $\times$  Hora, *Fusarium*  $\times$  Hora y Tratamiento  $\times$  *Fusarium*  $\times$  Hora), lo que indica que la respuesta de las especies al efecto de los tratamientos varió a través del tiempo. Estos resultados sugieren que la inhibición del crecimiento micelial estuvo influenciada no solo por el tratamiento aplicado, sino también por la especie de *Fusarium* evaluada y el momento de la medición.

**Cuadro 10.** Área y las interacciones Área\*especie y Área\*Hora

| Tratamiento | Media   | Agrup | Especie | Media   | Agrup | Hora | Media   | Agrup |
|-------------|---------|-------|---------|---------|-------|------|---------|-------|
| T1          | 52.63   | e     | 1       | 1166.51 | a     | 24   | 103.81  | h     |
| T2          | 999.23  | c     | 2       | 885.08  | b     | 48   | 285.46  | g     |
| T3          | 1402.05 | b     | DHS     | 36.189  |       | 72   | 508.32  | f     |
| T4          | 529.36  | d     |         |         |       | 96   | 792.8   | e     |
| T9          | 2145.7  | a     |         |         |       | 120  | 1086.47 | d     |
| DHS         | 79.705  |       |         |         |       | 144  | 1451.12 | c     |
|             |         |       |         |         |       | 168  | 1824.15 | b     |
|             |         |       |         |         |       | 192  | 2164.22 | a     |
|             |         |       |         |         |       | DHS  | 112.07  |       |

Media-Crecimiento en área, T9-Testigo, T3-*B. subtilis*, T2-*L. tridentata*, T4-*T. harzianum*, T1-Consist max, 1-*Fusarium oxysporum*, 2-*Fusarium chlamydosporum*, Hora-Hora de realización de la medición

La prueba de Tukey indica que el T1 (Consist Max) fue el de mayor eficacia para inhibir el crecimiento de las especies de *Fusarium*, seguido del T4 (*Trichoderma harzianum*). El extracto de *Larrea tridentata* mostró inhibición moderada mientras que *Bacillus subtilis* presentó nula capacidad de control. Además, *F. oxysporum* exhibió un crecimiento significativamente mayor que *F. chlamydosporum* lo que demuestra mayor agresividad bajo las condiciones experimentales. Finalmente, el crecimiento micelial aumentó significativamente en cada uno de los tiempos de evaluación, alcanzando su expresión máxima a las 192 horas.

#### 4.2.2 Hora de control

Considerando la diferencia en el crecimiento que se presentó en cada una de las mediciones realizadas, se correlacionaron los tratamientos con la hora en la que comenzaron a inhibir el crecimiento micelial de ambas especies.

De acuerdo a la agrupación obtenida se observa que la inhibición del crecimiento del tratamiento 1 se dio desde la primera medición, es por ello que el crecimiento del micelio fue nulo.

**Cuadro 11.** Interacciones Tratamiento\*Hora y Tratamiento\*especie

| Tr*Hora | Media  | Agrupamiento | Tr*Fus | Media  | Agrupamiento |
|---------|--------|--------------|--------|--------|--------------|
| T1*24   | 45.5   | n            | T1*1   | 46     | d            |
| T1*48   | 50     | n            | T1*2   | 59.2   | d            |
| T1*72   | 51.9   | n            | T2*2   | 101.8  | d            |
| T1*120  | 54.7   | n            | T4*1   | 454.9  | cd           |
| T1*144  | 54.7   | n            | T4*2   | 603.8  | c            |
| T1*168  | 54.7   | n            | T3*1   | 1396.2 | b            |
| T1*192  | 54.7   | n            | T3*2   | 1407.9 | b            |
| T1*96   | 54.7   | n            | T2*1   | 1896.7 | ab           |
| T2*24   | 87.9   | n            | T9*1   | 2038.7 | a            |
| T9*144  | 3166.1 | c            | T9*2   | 2252.7 | a            |
| T9*168  | 4053.7 | b            |        |        |              |
| T9*92   | 4811.6 | a            |        |        |              |
| DHS     | 742.38 |              | DHS    | 504.37 |              |

Media-Crecimiento en área, T9-Testigo, T3-*B. subtilis*, T2-*L. tridentata*, T4-*T. harzianum*, T1-Consist max , Hora-Hora de realización de la medición, 1-*Fusarium oxysporum*, 2-*Fusarium chlamydosporum*

De acuerdo con la prueba de comparación de medias de Tukey para la interacción Tratamiento × Hora, se observó que el tratamiento T1 (Consist Max) inhibió el crecimiento micelial desde la primera evaluación. Esta inhibición se mantuvo durante todo el periodo experimental, reflejándose en valores de crecimiento significativamente menores en comparación con el resto de los tratamientos. Lo anterior indica que el fungicida ejerció un efecto inmediato y sostenido sobre ambas especies de *Fusarium*, impidiendo el desarrollo del micelio.

Por otra parte, el tratamiento T4, correspondiente a *Trichoderma harzianum*, también mostró un efecto inhibitorio sobre el crecimiento de los fitopatógenos; sin embargo, este efecto se manifestó después de las primeras 72 horas de evaluación. Estos resultados sugieren que durante las etapas iniciales del experimento las especies de *Fusarium* lograron desarrollarse antes de que el agente de control biológico ejerciera un efecto significativo sobre su crecimiento. A pesar de ello, *T. harzianum* redujo considerablemente el desarrollo micelial en comparación con el testigo.

Los tratamientos T2 y T3, correspondientes al extracto de *Larrea tridentata* y a la cepa de *Bacillus subtilis*, respectivamente, no presentaron un patrón definido en cuanto al momento de inicio de la inhibición del crecimiento micelial. La ausencia de una respuesta consistente a través del tiempo sugiere una menor eficacia para limitar el desarrollo de las especies evaluadas de *Fusarium*. En particular, *B. subtilis* mostró un comportamiento similar al del testigo, evidenciando una capacidad limitada para restringir el crecimiento del fitopatógeno bajo las condiciones experimentales evaluadas.

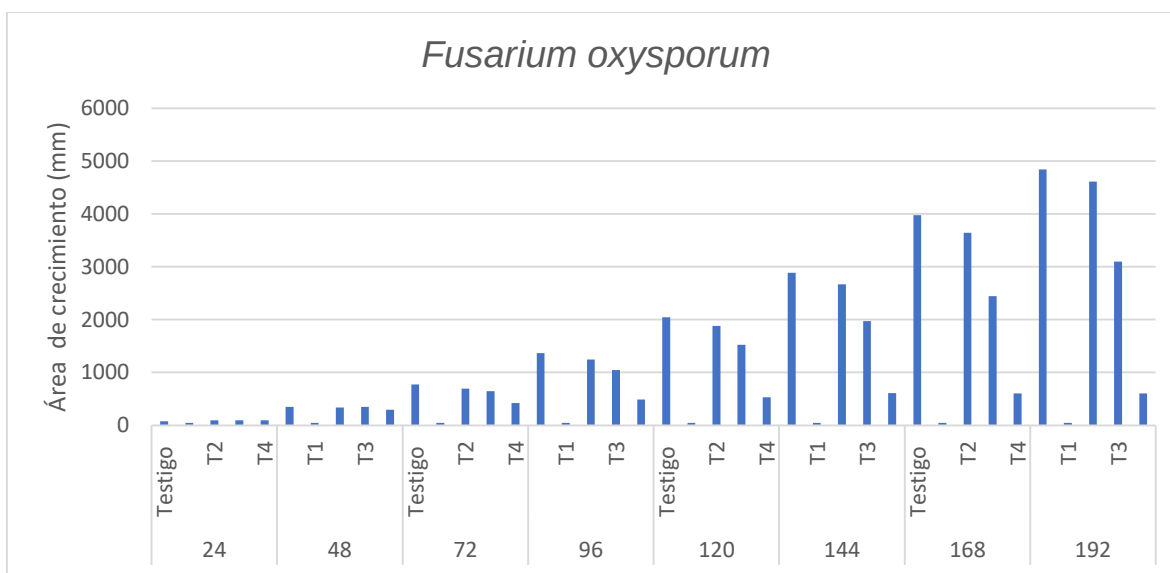
Respecto a la interacción Tratamiento × Especie, se observó que el tratamiento T1 fue el más efectivo para ambas especies de *Fusarium*, presentando los menores valores de crecimiento micelial. Asimismo, *Fusarium oxysporum* mostró un crecimiento promedio superior al de *Fusarium chlamydosporum* en la mayoría de los tratamientos, lo que confirma su mayor agresividad y capacidad de colonización en las condiciones del estudio.

#### 4.2.3 Tratamiento x *Fusarium*

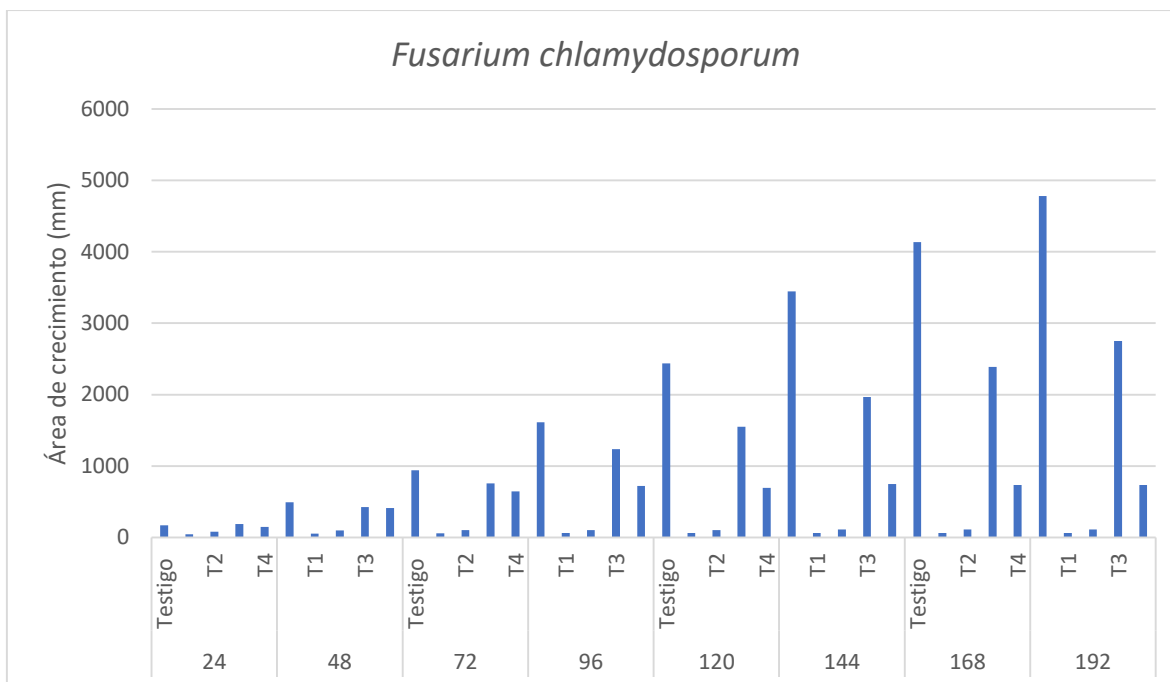
El agrupamiento muestra que el tratamiento 9 correspondiente al Testigo de ambas especies presentó la mayor área de la caja cubierta por micelio en promedio, cabe destacar que la especie de *F. oxysporum* tratada con extracto de gobernadora creció estadísticamente igual en comparación al testigo.

Ambas especies sometidas al tratamiento químico (T1) presentaron el menor crecimiento micelial promedio. Siendo este tratamiento el más efectivo para inhibir el crecimiento del hongo de manera general; no obstante, el tratamiento respectivo al extracto de gobernadora en *F. chlamydosporum* y *T. harzianum* en *F. oxysporum* inhibieron estadísticamente igual el crecimiento del hongo.

#### 4.2.4 Gráficas de inhibición *Fusarium*



**Fig. 7.** Área de crecimiento micelial de *F. oxysporum* en cada una de las mediciones.



**Fig. 8.** Área de crecimiento micelial de *F. chlamydosporum* en cada una de las mediciones

Al comparar las gráficas se observa que *F. chlamydosporum* presentó un crecimiento promedio menor en la mayoría de los tratamientos, lo que coincide con los resultados de la prueba de Tukey (Cuadro 10), donde *F. oxysporum* mostró una media de crecimiento significativamente superior (1166.51 mm<sup>2</sup>) respecto a *F. chlamydosporum* (885.08 mm<sup>2</sup>). Estos resultados confirman que *F. oxysporum* fue la especie más agresiva bajo las condiciones experimentales evaluadas.

### 4.3 Pruebas de efectividad biológica de *Sclerotinia sclerotiorum*

#### 4.3.1 Área de crecimiento

Con el área que se calculó en cada una de las mediciones se realizó un análisis de varianza con las respectivas pruebas de Tukey para determinar el tratamiento que inhibió en mayor medida el crecimiento de *S. sclerotiorum*.

**Cuadro 12.** Análisis de varianza general para el crecimiento de *Sclerotinia* y la interacción Tratamiento\*Hora

| FV           | GL | CM         |    |
|--------------|----|------------|----|
| Tratamientos | 4  | 66411205.3 | ** |
| Hora         | 6  | 26758820.3 | ** |
| Trat*Hora    | 24 | 11134713.3 | ** |

Hora-Hora de realización de la medición

El análisis de varianza demuestra que existen diferencias estadísticas significativas en el efecto que produjeron cada uno de los tratamientos y el crecimiento que existió en cada una de las horas de medición. De la misma manera, existe significancia en la interacción Tratamiento\*Hora.

**Cuadro 13.** Interacción Área\*Tratamiento y Área\*Hora

| Tratamiento | Media   | Agrupamiento | Hora | Media   | Agrupamiento |
|-------------|---------|--------------|------|---------|--------------|
| T1          | 53.58   | c            | 24   | 53.91   | e            |
| T2          | 55.35   | c            | 48   | 87.78   | e            |
| T3          | 1576.92 | b            | 72   | 261.5   | e            |
| T4          | 120.39  | c            | 96   | 543.49  | d            |
| T9          | 2073.07 | a            | 120  | 1032.26 | c            |
| DHS         | 178.17  |              | 144  | 1611.28 | b            |
|             |         |              | 168  | 1840.83 | a            |
|             |         |              | DHS  | 228.02  |              |

Media-Crecimiento en área, Hora-Hora de la medición post siembra, T9-Testigo, T3-*B. subtilis*, T2-*L. tridentata*, T4-*T. harzianum*, T1-Luna sensation

El agrupamiento muestra que T1 y T2 respectivos a la molécula química y al extracto de gobernadora tuvieron un comportamiento estadísticamente igual inhibiendo en mayor medida el crecimiento micelial del patógeno. Por el contrario, el tratamiento que permitió mayor crecimiento fue la cepa de *B. subtilis*, únicamente superado por el testigo.

En el agrupamiento de Tukey se puede observar que el área de crecimiento del hongo fue estadísticamente igual durante las primeras 72 horas; posteriormente en cada una de las mediciones existieron diferencias estadísticas significativas.

**Cuadro 14.** Interacción Tratamiento\*Hora

| Tratamiento*Hora | Media  | Agrupamiento |
|------------------|--------|--------------|
| T3*24            | 48.5   | h            |
| T1*168           | 53.6   | h            |
| T1*120           | 53.6   | h            |
| T1*24            | 53.6   | h            |
| T1*96            | 53.6   | h            |
| T1*72            | 53.6   | h            |
| T1*48            | 53.6   | h            |
| T1*144           | 53.6   | h            |
| T9*120           | 2676.8 | cd           |
| T3*144           | 2948.6 | bc           |
| T3*168           | 3504.9 | b            |
| T9*144           | 4858.5 | a            |
| T9*168           | 5450   | a            |
| DHS              | 663.43 |              |

Media-Crecimiento en área, T9-Testigo, T3-*B. subtilis*, T2-*L. tridentata*, T4-*T. harzianum*, T1-Luna sensation , Hora-Hora de realización de la medición

El cuadro 11 muestra una parte de la interacción Tratamiento\*Hora donde podemos observar que el tratamiento con mejor control en cada una de las horas de manera general es T1 respectivo a la molécula química Luna Sensation, en el otro extremo se encuentra el T3 respectivo a la cepa de *B. subtilis* estadísticamente empatado con el testigo.

#### 4.4 Evaluación de los resultados obtenidos a campo abierto

A los 53 días posteriores a la plantación se realizó la cosecha del producto, el ciclo vegetativo de la planta se prolongó debido a las condiciones del tiempo tan irregulares a lo largo de todo su ciclo.

Con los datos obtenidos de las diez repeticiones de cada uno de los tratamientos se realizó un análisis de varianza para comparar el peso, el diámetro aparente, el diámetro aprovechable, la incidencia y la severidad de las enfermedades estudiadas.

##### 4.4.1 *Fusarium*

**Cuadro 15.** Medias de peso, diámetro aparente y diámetro aprovechable

| Trat | M Peso | Agrup | Trat | M Dapar | Agrup | Trat | M Daprov | Agrup |
|------|--------|-------|------|---------|-------|------|----------|-------|
| T1   | 721.2  | a     | T1   | 17.6    | a     | T1   | 15.3     | ab    |
| T2   | 648    | a     | T2   | 14.8    | b     | T2   | 14.1     | ab    |
| T3   | 685.9  | a     | T3   | 15.2    | b     | T3   | 13       | b     |
| T4   | 626.4  | a     | T4   | 15.5    | b     | T4   | 7.8      | c     |
| T9   | 763.4  | a     | T9   | 17.6    | a     | T9   | 17.3     | a     |
| DHS  | 183.33 |       | DHS  | 1.8566  |       | DHS  | 3.3955   |       |

T9-Testigo, T3-*B. subtilis*, T2-*L. tridentata*, T4-*T. harzianum*, T1-Consist max, M Dapar- Media diametro aparente, M Daprov-Media diametro aprovechable

De acuerdo a los resultados obtenidos en el análisis de varianza observamos que ninguno de los tratamientos presentó diferencias estadísticas significativas; en cuanto al diámetro aparente respecta el tratamiento químico y el testigo destacaron significativamente.

El diámetro aprovechable presentó una mayor variación estadística, agrupando a los tratamientos 1, 2 y 9 en un gran grupo donde la media fue buena y separando a los tratamientos 3 y 4 en grupos inferiores secuenciales. Esta diferencia significa una reducción en la calidad de la lechuga debido a que los diámetros aprovechables muy pequeños no se comercializan en esta variedad.

A pesar de las propiedades beneficiosas de las especies de control biológico para las enfermedades estudiadas la aplicación real en campo se limita al reducir la calidad, no



obstante, la responsabilidad del crecimiento vegetativo descontrolado se reparte entre las propiedades bioestimulantes de los tratamientos, las condiciones meteorológicas y la fertilización convencional aplicada en el predio.

**Cuadro 16.** Incidencia y severidad de *Fusarium*.

| Trat | M Inc  | Tukey | Trat | M Sev  | Tukey |
|------|--------|-------|------|--------|-------|
| T1   | 0.4    | b     | T1   | 0.4    | a     |
| T2   | 0.7    | ab    | T2   | 0.8    | a     |
| T3   | 0.7    | ab    | T3   | 1.1    | a     |
| T4   | 0.7    | ab    | T4   | 0.8    | a     |
| T9   | 1      | a     | T9   | 1.1    | a     |
| DHS  | 0.5821 |       | DHS  | 0.8086 |       |

T9-Testigo, T3-*B. subtilis*, T2-*L. tridentata*, T4-*T. harzianum*, T1-Consist max, M Inc-Media de incidencia, M Sev-Media de severidad

En los agrupamientos observamos que existe una gran semejanza entre los tratamientos 9, 4, 3 y 2, es decir, son estadísticamente iguales, sin embargo, se destaca la diferencia estadística significativa ( $p \leq 0.01$ ) del T1 con respecto del resto. El resto de los tratamientos se sitúan en el centro de la distribución convirtiéndose en tipos de control funcionales pero que no representan resultados destacables, aun con eso, las diferencias en cuanto a calidad pueden ser estudiadas para ser evaluados en de una manera más exhaustiva y determinar un posicionamiento mejor definido.

#### 4.4.2 *Sclerotinia*

**Cuadro 17.** Medias de peso, diámetro aparente y diámetro aprovechable

| Trat | M Peso   | Agrup | Trat | M Dapar  | Agrup | Trat | M Daprov | Agrup |
|------|----------|-------|------|----------|-------|------|----------|-------|
| T1   | 909.7    | a     | T1   | 17.889   | a     | T1   | 16.222   | a     |
| T2   | 837.4    | a     | T2   | 15.1     | a     | T2   | 12       | ab    |
| T3   | 1052.4   | a     | T3   | 17.5     | a     | T3   | 16.5     | a     |
| T4   | 932.1    | a     | T4   | 17.9     | a     | T4   | 9.5      | b     |
| T9   | 853.4    | a     | T9   | 17.5     | a     | T9   | 16.222   | ab    |
| DHS  | 9.782609 |       | DHS  | 9.782609 |       | DHS  | 9.782609 |       |

T9-Testigo, T3-*B. subtilis*, T2-*L. tridentata*, T4-*T. harzianum*, T1-Consist max, M Dapar- Media diametro aparente, M Daprov-Media diametro aprovechable

De acuerdo al análisis de varianza determinamos que ninguno de los tratamientos causó una diferencia estadística significativa, a pesar de la diferencia en sus medias respectivas. De la misma manera, el diámetro aparente se agrupa en una misma clasificación excluyendo diferencias en ninguno de los tratamientos. Sin embargo, el diámetro aprovechable permitió identificar diferencias, siendo inferior de manera significativa el tratamiento respectivo a la especie de *T. harzianum*

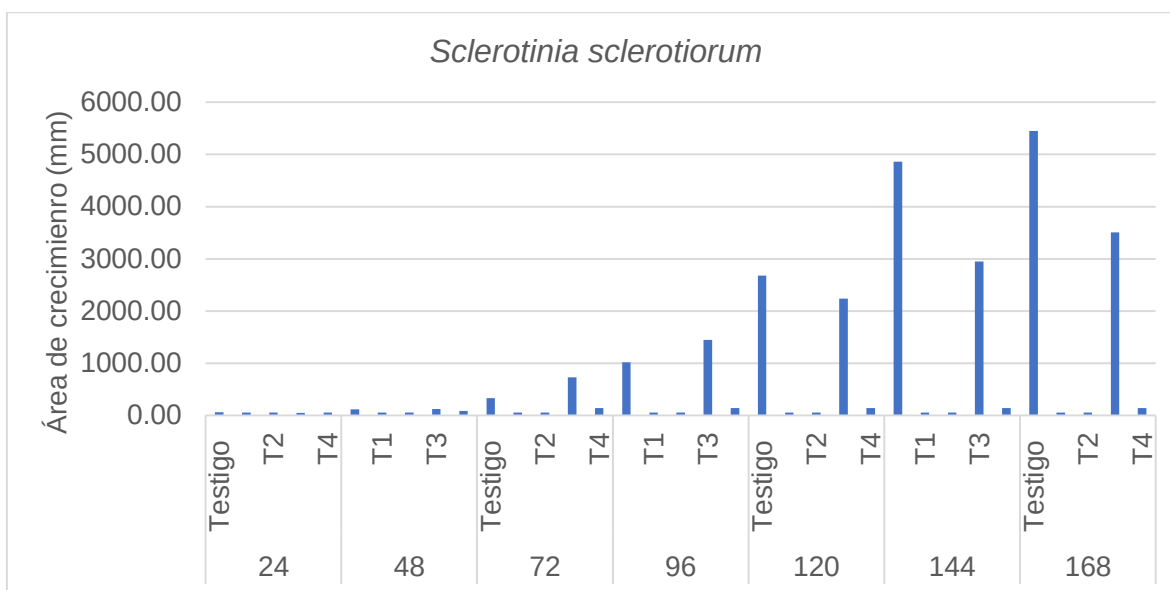
**Cuadro 18.** Incidencia y severidad de *Sclerotinia*.

| Tratamiento | M Inc    | Agrupamiento | Trat | M Sev    | Agrupamiento |
|-------------|----------|--------------|------|----------|--------------|
| T1          | 0        | a            | T1   | 0        | a            |
| T2          | 0        | a            | T2   | 0        | a            |
| T3          | 0        | a            | T3   | 0        | a            |
| T4          | 0        | a            | T4   | 0        | a            |
| T9          | 0        | a            | T9   | 0        | a            |
| DHS         | 9.782609 |              | DHS  | 9.782609 |              |

T9-Testigo, T3-*B. subtilis*, T2-*L. tridentata*, T4-*T. harzianum*, T1-Luna sensation,  
M Inc-Media de incidencia, M Sev-Media de severidad

Debido a las medias que se presentan en los cuadros, el análisis de varianza no representa de manera gráfica el resultado, al ser un caso aislado la presencia de *Sclerotinia* en una repetición en todo el experimento, es por ello que no se puede aceptar que todos los tratamientos funcionaron en su totalidad a pesar de los resultados presentes en el análisis de varianza.

#### 4.4.3 Gráfica de inhibición *S. sclerotiorum*



**Fig. 9.** Área de crecimiento micelial de *S. sclerotiorum* en cada una de las mediciones

Para ambas especies de *Fusarium* evaluadas *in vitro* se observó la inhibición total del crecimiento micelial del hongo, siendo el método de control más efectivo y rápido en comparación con los biológicos. Los resultados del presente trabajo coinciden con lo descrito por Yossen y Conles quienes, en 2014, determinaron que Tebuconazole es el fungicida más efectivo para controlar, en condiciones *in vitro*, los aislamientos de *F. oxysporum* y *F. proliferatum*. Lopez-Brea dijo en el 2019 que la acción del tebuconazole presenta gran variabilidad intraespecífica, sin embargo, en ambas especies estudiadas en este trabajo reaccionaron de manera similar ante el control de tebuconazole, lo que demuestra que la variabilidad no es de significancia, en este caso específico.

Beyer *et al.* mencionó en el 2010 que la inhibición máxima posible de la molécula de trifloxystrobin contra el crecimiento de 56 especies de *Fusarium* provenientes de distintas regiones de Europa y América del norte alcanzaba a penas el 40%. Al ser una molécula combinada con otro ingrediente activo en los ensayos realizados presentó una efectividad alta; siendo entonces posible potenciar la capacidad de inhibición de las moléculas haciendo mezclas.

Huang XuePing *et al.* En el 2018 reconocieron a fluopyram como un agente de control efectivo contra *Sclerotinia sclerotiorum* inhibiendo el crecimiento micelial y evitando la germinación de las estructuras de resistencia. Los resultados obtenidos respaldan lo descrito ya que, en ninguna de las repeticiones realizadas se observó presencia de micelio activo en ninguna de las mediciones, teniendo este entonces un efecto fungicida.

Di Y. L. *et al.*, asegura que trifloxystrobin es un agente de control altamente eficaz en contra de *S. sclerotiorum*. Los resultados de este trabajo comprobaron lo descrito debido a que en ninguna de las pruebas realizadas con esta molécula se permitió el crecimiento micelial y por ende la aparición de esclerocios.

Pañuelas *et al.* del 2017 menciona que los extractos de *L. tridentata* pueden ser utilizados como parte de un manejo integrado de la pudrición de la corona del tomate causada por *F. oxysporum radicles-lycopersici* en condiciones *in vivo*. En el presente estudio, el extracto de *L. tridentata* causa una reducción de significancia en el crecimiento del micelio de *F. oxysporum*, pero en *F. chlamydosporum*, no produce un efecto de inhibición de significancia que justifique su implementación en un manejo integrado de la enfermedad; se reconoce el beneficio de su aplicación en contra de una especie, pero la variabilidad intraespecífica reduce en gran medida su espectro de funcionalidad.

Ramawat 2020 describe a *Bacillus subtilis* como un organismo con la capacidad de mejorar el crecimiento y proteger a las plantas contra el ataque de patógenos, los resultados obtenidos contrastan con esta descripción ya que la aplicación de *B. subtilis* no significó una mejor en el crecimiento de las plantas y tampoco tuvo un efecto inhibidor de crecimiento de ninguno de los patógenos que se estudiaron.

Sivan y Chet (1986), afirman que *Trichoderma harzianum* tiene la capacidad de controlar especies fitopatógenas de *Fusarium* indistintamente si se encuentra naturalmente o se aplica de manera artificial. Así mismo, mantiene su efecto si se aplica como tratamiento a semilla o al suelo directamente. Los resultados comprobaron la eficacia de *T. harzianum* como un agente de control biológico contra patógenos del

suelo, la agresividad en el crecimiento de los hongos no significó un efecto menor en el control de las enfermedades.

#### **4.5 Conclusiones**

Los tratamientos químicos fueron los métodos más efectivos para el control de *Fusarium spp.* y *Sclerotinia sclerotiorum*, logrando la mayor inhibición del crecimiento micelial en condiciones de laboratorio.

*Trichoderma harzianum* fue el tratamiento biológico con mejor desempeño, reduciendo significativamente el crecimiento de los patógenos, aunque sin superar la eficacia de los tratamientos químicos.

El extracto de *Larrea tridentata* presentó un efecto inhibitorio intermedio, que estuvo en función de la especie a la que se dirigía el control principalmente, mientras que *Bacillus subtilis* mostró una capacidad limitada (casi nula) para el control de los patógenos evaluados.

La comparación entre las pruebas de laboratorio y campo evidenció que la eficacia observada en condiciones controladas no siempre se refleja con la misma intensidad en condiciones de producción, se demostró que la mayor limitante para la aplicación de productos biológicos son las condiciones que requieren para su correcto funcionamiento, una desventaja que no presentan los productos químicos en la misma intensidad.

La hipótesis planteada fue rechazada parcialmente, ya que *Trichoderma harzianum* mostró capacidad de control, pero no fue el tratamiento más efectivo y al contrario de lo planteado, redujo la calidad de la lechuga.

Se recomienda la integración de *Trichoderma harzianum* dentro de programas de manejo integrado de enfermedades, complementando su uso con prácticas agronómicas adecuadas y aplicaciones químicas cuando sea necesario.

## 5. LITERATURA CITADA

1. Agrios, N. G. (2005). Plant pathology. San Diego, California: Elsevier Academic Press.
2. Anuario Estadístico de la Producción Agrícola. (2024). [https://nube.agricultura.gob.mx/cierre\\_agricola/](https://nube.agricultura.gob.mx/cierre_agricola/)
3. Arias, L. A., L. A. Tautiva, W. Piedrahíta y B. Chaves. 2007. Evaluación de tres métodos de control del moho blanco (*sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary) en lechuga (*Lactuca sativa* L.). *Agronomía colombiana* 25(1): 131-141.
4. Avenot, H. F. & Michailides, T. J. (2010). Progress in understanding molecular mechanisms and evolution of resistance to succinate dehydrogenase inhibiting (SDHI) fungicides in phytopathogenic fungi. *Crop Prot.* **29**, 643–651. [https://doi.org/ 10. 1016/j. cropro. 2010.02. 019](https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.02.019).
5. Barbaro L, Karianan M, Mata D. 2013. Importancia del pH y la conductividad eléctrica (CE) en los sustratos para plantas; <https://inta.gob.ar/documentos/importancia-del-ph-y-la-conductividad-electrica-keen-los-sutratos-para-plantas>
6. Bensink, J. (1971). On morphogenesis of lettuce leaves in relation to light and temperature. *Mededeling Landbouwhogeschool*. Vol. 71 (Nº 1). Pp. 1-93. Wageningen, Holanda
7. Beyer, M., Pogoda, F., Hoffmann, L., Dubos, T., & Pasquali, M. (2010). Studies on the sensitivity of *Fusarium graminearum* towards trifloxystrobin.
8. BOLTON, M.D., THOMMA, B.P.H.J. and NELSON, B.D. (2006), *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary: biology and molecular traits of a cosmopolitan pathogen. *Molecular Plant Pathology*, 7: 1-16. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2005.00316.x>

9. Booth, C. 1970. *Fusarium oxysporum* CMI descriptions of plant pathogenic fungi and bacteria. No. 211. Commonwealth Agricultural Bureaux. London. 1975. The present status of *Fusarium* taxonomy. Annual review of phytopathology. 13:83-93.
10. Bosland, P. W. 1988. *Fusarium oxysporum* a pathogen of many plant species. Advances in plant pathology. 6:281-289.
11. Camacho, Jason Gerardo Vásquez (2015). Evaluación agronómica de cinco (*Lactuca sativa* L.) en tres ciclos de siembra consecutivas, en San miguel de la Tigua, San Carlos, Alajuela, C.R.
12. Carmona, M.; F. J. Sautua; M. Scandiani; R. Bello; V. Lopez and A. Luque. 2017b. *In vitro* sensitivity assessment of late season soybean pathogens to fungicide mixtures. *Australasian Plant Disease Notes* 12: 20. doi:10.1007/s13314-017- 0244-7
13. Carrasco Silva Gilda, Sandoval Briones Claudio (2016). Manual práctico del cultivo de la lechuga. Ediciones Mundi-Prensa.
14. Chaski C, Petropoulos SA. The Effects of Biostimulant Application on Growth Parameters of Lettuce Plants Grown under Deficit Irrigation Conditions. En: The 1st International Electronic Conference on Horticulturae [Internet]. MDPI;2022. p. 4. Disponible en: <https://www.mdpi.com/2673-9976/16/1/4>
15. Damicone, J.P., and Manning, W.J. 1985. Frequency and pathogenicity of *Fusarium* spp. isolates from first –year asparagus grown from transplants. *Plant Disease* 69:413- 416.
16. De Vries, I. M. (1990). Crossing experiments of lettuce cultivars and species (*Lactuca* sect. *Lactuca*, *Compositae*). *Pl. Syst. Evol.* Vol. 171 (Nº 1). Pp. 233-248. 10.1007/BF00940608.
17. De Vries, I. M. (1997). Origin and domestication of *Lactuca sativa* L. *Genet. Resour. Crop Evol.* Vol. 44 (Nº 2). Pp. 165-174. 10.1023/A:1008611200727.
18. Errington, J. & Wu, L. J. (2017). Cell Cycle Machinery in *Bacillus subtilis*. *Sub-cellular Biochemistry*, 84, 67–101. [http://doi.org/10.1007/978-3-319-53047-5\\_3](http://doi.org/10.1007/978-3-319-53047-5_3)

19. Di, Y. L., Zhu, Z. Q., Lu, X. M., & Zhu, F. X. (2016). Baseline sensitivity and efficacy of trifloxystrobin against *Sclerotinia sclerotiorum*. *Crop Protection*, 87, 31-36.
20. Fravel D. R. 2005. Commercialization and implementation of biocontrol. *Annu. Rev. Phytopathol.* 43(2),337-359.
21. Garibaldi y Gullino, M. L. 1987. Fusarium wilt of carnation: present situation, problems and perspectives. *Acta Horticulturae*. 216: 45-54.
22. Ginés I, Mariscal I. 2002. Incidencia de los fertilizantes sobre el pH del suelo; [http://oa.upm.es/3176/2/MARISCAL\\_MONO\\_2002\\_01.pdf](http://oa.upm.es/3176/2/MARISCAL_MONO_2002_01.pdf).
23. González-León, Y., Ortega-Bernal, J., Anducho-Reyes, M. A., & Mercado-Flores, Y. (2023). *Bacillus subtilis* y *Trichoderma*: Características generales y su aplicación en la agricultura. *TIP Revista Especializada En Ciencias Químico-Biológicas*, 25(1), 1-14.
24. Heiken, J. A. The effects of fluopyram on nematodes. *Master thesis* (2017).
25. Hollomon, D. W. 2015. Fungicide Resistance: 40 Years on and Still a Major Problem. In: Ishii, H. y Hollomon D. W. (eds). *Fungicide Resistance in Plant Pathogens. Principles and a Guide to Practical Management*. Japan. Springer. ISBN 978-4-431-55641-1 (Print) 978-4-431-55642-8 (Online). pp 3-11.
26. Huang XuePing, H. X., Song YuFei, S. Y., Luo Jian, L. J., Zhao ShiFeng, Z. S., Mu Wei, M. W., & Liu Feng, L. F. (2018). Sensitivity of *Sclerotinia sclerotiorum* to fluopyram and evaluation of its application potential in controlling sclerotinia stem rot.
27. Jackson, L. E. (1995). Root architecture in cultivated and wild lettuce (*Lactuca* spp.). *Plant, Cell and Environ.* Vol. 18 (Nº 8). Pp. 885-897. 10.1111/j1365- 3040. 1995. tb00597.x.
28. Jangir, M., Pathak, R. & Sharma, S. (2017). *Trichoderma* and its potential applications. En: Singh, D., Singh, H. & Prabha, R. (Eds). *Plant-Microbe Interactions. Perspectives of Agroecological*. (pp: 323–339) Singapore: Springer. [http://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4\\_13](http://doi.org/10.1007/978-981-10-6593-4_13)
29. Jasso de Rodríguez, D., Rodríguez-García R., Hernández-Castillo, F.D., Villarreal Quintanilla, J.A., Galván-Cendejas, A., 2007. "Antifungal effects in vitro



- of semiarid plant extracts against postharvest fungi". AAIC Annual Meeting: Bringing Industrial Crops into the Future. October 7-10. Portland, Maine.
30. Kesseli, R., Ochoa, O. y Michelmore, R. (1991). Variación en loci AFLP en *Lactuca* spp. y origen de la lechuga cultivada (*L. sativa*). *Genoma* vol. 34 (Nº 3). Páginas 430-436. 10.1139 / g91-065. [http://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/123456789/29500/INIA\\_Libro\\_0051.pdf?sequence=1&isAllowed=y](http://bibliotecadigital.ciren.cl/bitstream/handle/123456789/29500/INIA_Libro_0051.pdf?sequence=1&isAllowed=y)
  31. Krístková E, Doležalová I, Lebeda A, Vinter V, Novotná A. (2005). Description of morphological characters of lettuce (*Lactuca sativa* L.) genetic resources. *Hort. Sci. (Prague)*, 35, 2008 (3): 113–129.
  32. Lardizabal, R.D. y Medlicott, A.P. (2010). Compendio de manuales de producción de frutas y hortalizas. (C. del D. del Milenio, Ed.) Honduras.
  33. Leslie, JF y Summerell, BA 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing, Ames, IA. SON LAS CLAVES PARA FUSARIUM
  34. Lira-Saldivar, R.H., 2003. "Estado Actual del Conocimiento Sobre las Propiedades Biocidas de la Gobernadora [*Larrea tridentata* (D.C.) Coville]". *Revista Stege*, P.W., "Antimicrobial activity of aqueous extracts of *Larrea divaricata* Cav (jarilla) against *Helicobacter pylori*". *Phytomedicine*, Nov:13(9-10): 724-727.
  35. Lopez Bilbao Marisa, Frezza Diana (2022). *Lechuga*. Ediciones INTA. Buenos Aires.
  36. Martínez, V.K.J., Ceceña, D. C., Gonzales, M.D., Grimaldo, J. O. (2015). Control de la Marchitez *Fusarium oxysporum* f. sp. *Medicaginis* en Alfalfa (*Medicago sativa* L.) en el Valle de Mexicali, Baja California. *OmniaScience*. P. 18.
  37. Moshe Reuveni (2001) Activity of trifloxystrobin against powdery and downy mildew diseases of grapevines, *Canadian Journal of Plant Pathology*, 23:1, 52-59. <https://doi.org/10.1080/07060660109506909>
  38. Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Verdugo-Fuentes, A. A., Chaparro-Encinas, L. A., Hernández-Rodríguez, S. E., Martínez-Carrillo, J. L., & Vargas-Arispuro, I. D. C. (2017). *Larrea tridentata* extracts as an ecological strategy

- against *Fusarium oxysporum radicle-lycopersici* in tomato plants under greenhouse conditions. *Revista mexicana de fitopatología*, 35(3), 360-376.
39. Ramawat, K.G.; Goyal, S. Co-evolution of secondary metabolites during biological competition for survival and advantage: An overview. In *Co-Evolution of Secondary Metabolites. Reference Series in Phytochemistry*; Mérillon, J.M., Ramawat, K., Eds.; Springer: Cham, Switzerland, 2020; pp. 3–17.
  40. Ravel, J. & Fraser, C. M. (2005). Genomics at the genus scale. *Trends in Microbiology*, 13, 95–97. <http://doi.org/10.1016/j.tim.2005.01.004>
  41. Ryder, E. (1999). Lettuce, Endive and Chicory. Wallingford, Oxon, Reino Unido: CABI Publishing
  42. Sanders, D. 2019. *Lettuce: NC State extension*. <https://content.ces.ncsu.edu/lettuce>
  43. Schoch, C. L., Ciufu, S., Domrachev, M., Hotton, C. L., Kannan, S., Khovanskaya, R., LeipeMcveigh, D. R., O'Neill, K., Robbertse, B., Sharma, S., Soussov, V., Sullivan, J. P., Sun, L., Turner, S. & Karsch-Mizrachi, I. (2020). NCBI Taxonomy: a comprehensive update on curation, resources and tools. *Database (Oxford)*. 2020, baaa062. <http://doi.org/10.1093/database/baaa062>
  44. Secretaría De Agricultura y Desarrollo Rural, S. (2024). *Fresca como la lechuga*. gob.mx. <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/fresca-como-la-lechuga>
  45. Sierra López-Brea, C. (2019). Variabilidad intraespecífica de la resistencia al antifúngico tebuconazol en cepas de *Fusarium graminearum* y *Fusarium culmorum* con diferentes perfiles de producción de micotoxinas.
  46. Sivan, A., & Chet, I. (1986). Biological control of *Fusarium* spp. in cotton, wheat and muskmelon by *Trichoderma harzianum*. *Journal of Phytopathology*, 116(1), 39-47.
  47. Tseng, Y. H., Rouina, H., Groten, K., Rajani, P., Furch, A. C. U., Reichelt, M., Baldwin, I. T., Nataraja, K. N., Shaanker, R. U. & Oelmüller, R. (2020). An endophytic *Trichoderma* strain promotes growth of its hosts and defends against pathogen attack. *Frontiers in Plant Science*, 11, 573–670. <http://doi.org/10.3389/fpls.2020.573670>

48. Turlier MF, Epavier A, Alabouvette C. Early dynamic interactions between *Fusarium oxysporum* f. sp. lini and the roots of *Linus usitatissimum* as revealed by transgenic GUSmarked hyphae. *Can J Bot.* 1994; 72: 1605-1612.
49. Vargas-Arispuro, I., Contreras-Valenzuela, A., Hernández-Martínez, J., MartínezTéllez, A., 2006. "Ariiselenofosfatos con acción antifúngica selectiva c o n t r a P h y t o m a t o t r i c h o p s i s omnivora", *Revista de fitotecnia Mexicana*. Sociedad Mexicana de Fitogenética, A.C. Chapingo, México. 28(002):171-174. ISSN 0187-7380.
50. Vavilov, N. I. (1992). *Origin and geography of cultivated plants*. Cambridge, Reino Unido: Cambridge University Press.
51. Vigliola, Marta Irene y otros; 1991. *Manual de horticultura*. Editorial Hemisferio Sur, Buenos Aires. [https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmpmanual\\_de\\_horticultura\\_urbana\\_y\\_periur](https://inta.gob.ar/sites/default/files/script-tmpmanual_de_horticultura_urbana_y_periur)
52. Yossen, V. E., & Conles, M. Y. (2014). Eficacia de fungicidas in vitro para el control de *Fusarium oxysporum* y *F. proliferatum*, agentes causales de marchitamiento en el cultivo de orégano en la Argentina. ***Revista industrial y agrícola de Tucumán*, 91(1), 19-**

## 6. Anexos

Secuencias de bases nitrogenadas utilizadas para la identificación molecular a nivel especie.

FA-ITS1\_2026-06-01-21-52-01\_A06\_01

GACGGGAGTCACTCCAACCCCTGTGACATACCTATACGTTGCCTCGGCGGAT  
CAGCCCGCGCCCCGTAAAAAGGGACGGCCCGCCCGAGGACCCCTAAACTCT  
GTTTTTAGTGGAACCTTCTGAGTAAAACAAACAAATAAATCAAAACTTTCAACAA  
CGGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTA  
ATGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCC  
CGCCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGC  
TCAGCTTGGTGTGTTGGGACTCGCGGTAACCCGCGTTCCCCAAATCGATTGGCG  
GTCACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAATCATACACCTCGTTACTGGTAATCG  
TCGCGGCCACGCCGTAAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGT  
AGGAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAGCGGGAGGAAAATCATTACC  
GAGTTTACAACCTCCCAAACCCCTGTGAACATACCTATACATTGCCTCGGCGGA  
TCACCCGGCGATAAAAGGGGGACGCCCGCCAAGACCCCTACTCTTTTTTTTG  
TGGGTGAAATCCTTCTAAGAAAAAACAACAAATAATTTAAATTTTTCCCCGG  
GTTCTGGGGGTTTCTGCCAAAAAAAAAACCCACCAGGGGGGATAATGGGGG  
GGGAAGATGAAAAATTTGGGGAAAACCCCAATTTTTTTGAAGCAAGGGGCGC  
CGCCCATTTTTTTGTGGGCGCGCTTGAGGATTTTTTTCCCGGGGCCCTGGGGG  
GTGGAAAGGGGGGGACCCCCCCCCCCCCCTTTGGCGTTTCCTTCCGGC  
TCCCAGGGGGGAAATATATCACCCCCCGTGTTTCATAGAAATGTGTGCGCCG  
CCCCCCAATAACCCACCGCGTGGGTGGGATAGACTCCTCAAGAGGGAGT  
GAGAATACACCCCTCATCATTAACCCGTTCTGTCGTGCGGGGAGGGGG  
CGTATTTC

FA-ITS4\_2026-06-01-21-52-01\_B06\_02

GCTGCATCTACATGATCCGAGGTCACATTCAGAAGTTGGGGTTTTACGGCGT  
GGCCGCGACGATACCAGTAACGAGGTGTATGATTACTACGCTATGGAAGCTC  
GACGTGACCGCCAATCGATTTGGGGAACGCGGGTTACCGCGAGTCCCAACA  
CCAAGCTGAGCTTGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCCAG  
AATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCCATGATTCACTGAATTCTG  
CAATTCACATTACTTATCGCATTTTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCCCGAACCA  
ATAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTTATTTGTTTGTTTTACTCAAAAGTTCCA  
CTAAAAACAGAGTTTAGGGGTCCTCGGGCGGGCCGTCCTTTTTTACGGGGC  
GCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACGTATAGGTATGTTACAGGGGGTTTGGA  
GTTGTAACTCGGTAATGATCCCTCCGCAGTCACCCTACAGAAATCATTACCG  
AGTTTACTCCAAACCCCTGTGAACATACCTGTCATTGCCCCCGCCGGAAA  
CACCGCCGCCGATAAAAGGGGAGGGGGGGCAAGAAACAAACCTTTTTTTTTG  
GGGGGGAACTTCAGAGAAAAAACAACAATTTTTTTAAATTTTTTTCACGGG  
GTTTTTGTGGTTTTTTGGCCATATAAAAAAAGCACCCAGAGGGCGGTAATAGGG  
GGGGAAGTGGGAAAAAATTTGGGAAACCCCCCTTTTTTTAGAGGGGGTG  
TGGGCGCCCCCTTACTGTGGGGGGGGGCGGGCTGGGGGATATATACCCCC  
GGGGCCTGGTGTGGGGGAAGAGTGGGGAACCCCCATCCCACCCCTTGGGG  
ATTTTCCTGCGGTGCCCGGGGTAATATATCAACACCCGGGGTTATTATTAGTT  
GTGCGCGCCCGCCCCTAAAAACCACACCGGGGGTGTGTAAGACACTCCGAA  
GGGGGGAAGATATACCCCCCTACTGTAACGCGTTGCTCGCGCGGGGGGG  
GGGGAAAGC

FB-ITS1\_2026-06-01-21-52-01\_C06\_03

GACGGCGGCACTCCAACCCCTGTGACATACCACTTGTTGCCTCGGCGGATCA  
GCCCGCTCCCGGTAAACGGGACGGCCCGCCAGAGGACCCCTAAACTCTGT  
TTCTATATGTAATTCTGAGTAAACCATAAATAAATCAAACTTTCAACAACG  
GATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCAAAATGCGATAAGTAAT  
GTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCGAATCTTTGAACGCACATTGCGCCCG  
CCAGTATTCTGGCGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCAC

AGCTTGGTGTGTTGGGACTCGCGTTAATTCGCGTTCCTCAAATTGATTGGCGGT  
CACGTCGAGCTTCCATAGCGTAGTAGTAAACCCTCGTTACTGGTAATCGTC  
GCGGCCACGCCGTTAAACCCCAACTTCTGAATGTTGACCTCGGATCAGGTAG  
GAATACCCGCTGAACTTAAGCATATCAAAAGCCGGGAGGAAAGATCATTACC  
GAGTTTACAACCTCCAAACCCTGTGAACATAACCATTTGTTGCCTCGGGGGAAAC  
ACCCCGCCCCGGCAAAAGGGAAGGGCCCAACAAAACAAAATTTTTTTTTTTTTT  
TTAAACCCCGGGAAAAACCCAAATTTTTTAAAAAATTTTTTCGGGGGTTTTTGG  
GGTTTTTGGGAGCAAAAAACACCACCAAGGGGGGGGATTGGGGGGAAATG  
TGAAAAATTTTGAACATCCCCCCCCCTTTTAAAAGGCGGGGGGCGCCCCCAA  
TTCTGGGGGGGGGGGAGGTGGGGGGGATATTCACCCACCAAGTGGGGGTGT  
GGGGCGCGCGGGGTGACATCCTCTCACCCATTTTAGGGGTCTCTCCGCGCC  
TTCGGGGCGTTTAATAAACACGTGTGTTTAGTGTTGTGTGCGCGCGCCTCTC  
ACCCCCCGCGCTGTGTGAGACACTCATAGGTGGTGAAAACACCCCCCCTCA  
TAACTCTGCGCCCGAGCAGAGAGAAGAAAGAAAAA

FB-ITS4\_2026-06-01-21-52-01\_D06\_04

ACGGCTGCATCAACATGATCCGAGGTCACATTCAGAAGTTGGGGTTTAACGG  
CGTGGCCGCGACGATTACCAAGTAACGAGGGTTTTACTACTACGCTATGGAAG  
CTCGACGTGACCGCCAATCAGTTTGAGGAACGCGAATTAACGCGAGTCCCAA  
CACCAAGCTGTGCTTGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCGCC  
AGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGAATT  
CTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTGCTGCGTTCTTCATCGATGCCCGAA  
CCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTGATTTATTTATGGTTTTACTCAGAAGTT  
ACATATAGAAACAGAGTTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGTCCCGTTTTACCG  
GGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACAAGTGGTATGTTACAGGGGTTTGG  
GAGTTGTAACTCGGTAATGATCCCTCCGCAGGTCAAACCTACGGAAGATCA  
TTACCGAGTTTACAACCTCCAAACCCTGTGAACATAACCATGGTTGCCCCGGC  
GGAACCACCCGCCGCGTTAAAGGGAGGGGGGGGCGAAAAAAAACCTTT  
TTTGTGTGTTTACCCCGGGGGAGAAAAACACCACATTTTTTAAAAAATTTTTCC  
ACGGGGTTTTTGGTGGTTTTGTGGGGCCCTAAAAAAAACCCCAGGGGGGGG

GGGAAATGGGGGGGATTTTGA AAAAATTTTGGGAAACCCCCCCTCTTTTAAA  
AGAGGGGGGGGGCCGCCCCCTTCTGGGGGGGGGGTACGGGGGGGAACTCC  
CCCCACAAGAATGGGGGTGGGGAGGGAGGCGGTGATATCTCTTCTACAACC  
TTAGGGGGGTTTCCCGCGCGATCCGTGGGGAGATATAAAAACGAGCGTTTTTA  
ACAATGTGTGCGGCGCCCTTTTTCCCCCCCCCGCGTGTTATGTAGACCTCCGA  
AAAGTGTGAAACACACCCCCCCTATTAAACCTCTCTCTCGCGCGGGGGGGGA  
GAACA

S1M-ITS1\_2026-06-01-21-52-01\_G06\_07

CAGCAGCTATGACCGAAGGTAGACCTCCCACCCTTGTGTATTATTACTTTGTT  
GCTTTGGCGAGCTGCTCTTCGGGGCCTTGTATGCTCGCCAGAGAATATCAAA  
ACTCTTTTTTATTAATGTCGTCTGAGTACTATATAATAGTTAAACTTTCAACAAC  
GGATCTCTTGGTTCTGGCATCGATGAAGAACGCAGCGAAATGCGATAAGTAA  
TGTGAATTGCAGAATTCAGTGAATCATCAAATCTTTGAACGCACATTGCGCCC  
CTTGGTATTCCGGGGGGGCATGCCTGTTTCGAGCGTCATTTCAACCCTCAAGCT  
CAGCTTGGTATTGAGTCCATGTCAGTAATGGCAGGCTCTAAAATCAGTGGCG  
GCGCCGCTGGGTCCTGAACGTATTAATATCTCTCGTTACAGGTTCTCGGTGT  
GCTTCTGCCAAAACCCAAATTTTCTATGGTTGACCTCCGATCAGGTATGGATA  
CCCGCTGAACTTAACCATATCAATAAACCGAGAGAAAGGATCATTACAGAGTT  
CATGCCCCAAAGGGTAAACCTCCCCCCTTGTGTATTATTACTTTGTTTGCTTT  
CGCCGAGGTGCCTCTCCGGGGCCTTGTAGCCCCCAAAAAAAAAAACCTCT  
TTTTTATAAAGGGCCCGAAAAAATTTTAAAAAAGTAAAAACTTTTTACCAGCGA  
ACCTTGGGGTTTCGGGCCCCAATAAAAAAACCAAGTGGCGATTAAGTAA  
GGTGAAATTGCAAAAATTCTGTAAACCCCAATTTTCAACCCATTGTCCCCCT  
GGGTATTCCGGGGGGGCAGGCTTTTTAAACCCTCTTTTTCCCCACCCTGGTT  
GGGGAGCTGTGAGTCCCTTTTTGGAAGAAGAAGAACTCAATAAAGACGGCGC  
GCTGCGTTTTCGCGTCGGGAGAAGAAAAAATATTTTTTTTGTATGTTTTATGTG  
TTGATATTCTCGCCACCACAATTGTGTTGTTGTAGACACGCGGACAGGTGGG  
AGTACACACCTCACACTTATGACCCTCGATCGGCCCGGGAGGGAGAGAAAG  
AC

S1M-ITS4\_2026-06-01-21-52-01\_H06\_08

TGACTGGCACCTACTGATCCGAGGTCACCATAGAAATTTGGGTTTTGGCAGAA  
GCACACCGAGAACCTGTAACGAGAGATATTACTACG TTCAGGACCCAGCGGC  
GCCGCCACTGATTTTAGAGCCTGCCATTACTGACATGGACTCAATACCAAGCT  
GAGCTTGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCCCGGAATACCAA  
GGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATTCACTGAATTCTGCAATTCAC  
ATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCC  
GTTGTTGAAAGTTTTAACTATTATATAGTACTCAGACGACATTAATAAAAAGAG  
TTTTGATATTCTCTGGCGAGCATACAAGGCCCGAAGAGCAGCTCGCCAAAG  
CAACAAAGTAATAATACACAAGGGTGGGAGGTCTACCCTTTCGGGCATGAACT  
CTGTAATGATCCTTCCGCAGGTCACCCTACGGAAAGGATCATTACGAGTTCAT  
GCCCGAAAGGGTAGACCTCCACCCTTGTGTATTAATACTTGTTGCTTTGGCAG  
AGGTGCTCTCGCGGGGCCTGTGATAGGCCTCGCCAAAAAATATAAACTCT  
CTTTATTATAAAGTGTGCCGCGAGAGATACTATTAATAATTTAAAAATTTTACA  
CGGAACTTTGGATTTCTGGCCTCGATTAAAAAGCACCGAATGCATAGTATGTG  
AATTGCAAACCTCGGTGATCACAACCTTTACGCAATGGTCCTAGTATCGGGGCAT  
GCGTACAGCGTATTACCTAGCTAGCTGTGTGATCCTCGATAGACAGCTCAATA  
TGCTCCCTAGTCGAAGAAATCTGTACGGTTCGTACTCCAAGCTTGACGACGTG  
GTACCTACTAGCTGACGGG







