

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA



Biocontrol *in vitro* de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl.
(Botryosphaeriales: Botryosphaeriaceae) del Mango *Mangifera indica* L
(Sapindales: Anacardiaceae)

Por:

ITZEL AIDEE FLORES BERNARDO

TESIS

Presentada como requisito parcial para obtener el título de:

INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2023

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO

DIVISIÓN DE AGRONOMÍA

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA

Biocontrol *in vitro* de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl.
(Botryosphaeriales: Botryosphaeriaceae) del Mango *Mangifera indica* L
(Sapindales: Anacardiaceae)

Por:


ITZEL AIDEE FLORES BERNARDO

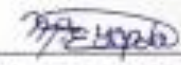
TESIS

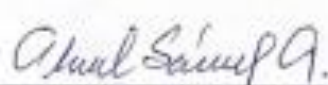
Presentada como requisito parcial para obtener el título de:


INGENIERO AGRÓNOMO PARASITÓLOGO

Aprobada por el Comité de Asesoría:


Dr. Epifanio Castro del Ángel
Asesor Principal


Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda
Coasesor


M.C. Abiel Sánchez Arizpe
Coasesor


Dr. Alberto Sandoval Rangel
Coordinador de la División de Agronomía



Saltillo, Coahuila, México

Diciembre, 2023

DECLARACIÓN DE NO PLAGIO

El autor quien es el responsable directo, jura bajo protesta de decir la 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 o 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



Itzel Aidee Flores Bernardo

Firma y Nombre

AGRADECIMIENTOS

A **Dios**, por darme fuerza para seguir adelante, porque junto con la fe y esperanza fueron quienes me mantuvieron a flote todo este tiempo.

A mi **ALMA TERRA MATER**, a donde quiera que vaya siempre te llevare en mi corazón, me llevo las mejores experiencias y anécdotas de ti. Definitivamente has sido la mejor elección de mi vida y sin pensarlo, te volvería a elegir. Por lo mucho que me has dado, te porto con orgullo.

Al **Dr. Epifanio Castro del Ángel** por brindarme la oportunidad de realizar este proyecto, por su apoyo y por el conocimiento compartido, pero sobre todo por su tiempo y paciencia.

Al **M.C. Abiel Sánchez Arizpe** por la revisión y comentarios al escrito.

A la **Dra. Ma. Elizabeth Galindo Cepeda** por las observaciones y comentarios al escrito.

Al **Ingeniero Cárdenas Elizondo** por su amistad, apoyo, conocimientos, anécdotas y consejos que nunca olvidare, pero sobre todo por confiar en mí.

A mis amigos **Ingrid, Anthony, M. del Pilar, Yunuen, Viviana y Nayeli**, por todos los momentos juntos y apoyo incondicional sin importar las circunstancias.

A mis mejores amigos **Kevin** y **Cristóbal**, hay mucho que agradecer, pero sobre todo gracias por tratarme y cuidar de mí como a una hermana.

A mi compañera de vida **Anayeli Bañuelos**, por sus consejos, compañía y amor incondicional.

Al Ing. **Mario Jerónimo Flores** por su apoyo, dedicación y tiempo.

Al Ing. **José Luis Calderón Ontiveros** agradezco tu dedicación, cariño y comprensión, pero sobre todo el aprendizaje transmitido a través de tus grandes anécdotas.

Al Ing. **Luis Gabriel Lázaro** por su empatía y apoyo.

A la **Ing. Azucena Serrano**, gracias por ser mi guía durante estos últimos años, por tu amistad, tus consejos y paciencia.

A la Sra. **Alicia López Velázquez** por los consejos, el amor y confianza.

DEDICATORIAS

A mis padres:

Apolinar Flores Martínez y Angelina Bernardo Casimiro a los que les agradezco su amor y apoyo incondicional, su confianza y perseverancia. Gracias por todo el esfuerzo y los sacrificios que han realizado todos estos años para darnos una mejor calidad de vida.

A mis tíos:

Miguel Huerta Merino y Martina Flores Martínez, en especial a mi tía a quién considero una mamá, gracias por confiar en mí, brindarme su apoyo incondicional, por no dejarme sola y darme la oportunidad de tener una mejor formación académica, profesional y moral.

A mis hermanas:

Dulce, Valeria, Paola, Ivonne y Nancy, a quienes admiro de forma única e individual, gracias por sus ánimos y apoyo.

A mis primos:

Carlos Huerta Flores y Samuel Huerta Flores por su amor, felicidad y apoyo que me han brindado estos años. Gracias por hacerme sentir como en casa, a donde quiera que vaya, van conmigo.

Al Ing:

Miguel Serrano Roque a quien le doy las gracias por su cariño y aprendizaje compartido, por acompañarme durante estos años y confiar en mí. Admiro el gran profesional, padre y persona que eres.

INDICE DE CONTENIDO

AGRADECIMIENTOS	IV
DEDICATORIAS	V
INDICE DE CONTENIDO	VI
INDICE DE CUADROS	XI
INDICE DE FIGURA	XII
RESUMEN	XIII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivos	3
1.1.1 Objetivo General	3
1.1.2 Objetivos Específicos	3
1.2 Hipótesis	3
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1 Origen del cultivo	4
2.2 Importancia económica	4
2.3 Morfología de <i>Mangifera indica</i> L.	4
2.4 Clasificación taxonómica del mango	5
2.5 Condiciones edafoclimáticas	5
2.5.1 Temperatura	5
2.5.2 Luminosidad	6
2.5.3 Altitud	6
2.5.4 Precipitación	6

2.6	Fitopatógenos que afectan el cultivo	6
2.6.1	<i>Colletrotrichum gloesporioides</i>	7
2.6.2	<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>mangiferaeindicae</i>	7
2.6.3	<i>Oidium mangiferae</i>	8
2.6.4	<i>Alternaria</i> spp.....	8
2.6.5	<i>Capnodium</i> sp.....	8
2.7	<i>Lasiodiplodia theobromae</i> (Pat.) Griffon e Maubl j	9
2.7.1	Taxonomía.....	9
2.7.2	Morfología.....	9
2.7.3	Condiciones óptimas para su desarrollo	10
2.7.4	Síntomas	10
2.8	Manejo de la enfermedad.....	11
2.8.1	Control cultural	11
2.8.2	Control físico.....	12
2.8.3	Control químico.....	12
2.8.4	Control biológico.....	12
2.9	Extractos	13
2.10	<i>Argemone mexicana</i>	14
2.10.1	Descripción botánica	14
2.10.2	Clasificación taxonómica de <i>Argemone mexicana</i>	14
2.10.3	Importancia.....	14
2.10.4	Actividad antifúngica	15
2.11	<i>Hamelia patens</i>	15

2.11.1	Clasificación taxonómica de <i>H. patens</i>	16
2.11.2	Descripción botánica	16
2.11.3	Propiedades medicinales	16
2.12	Hongos antagonistas.....	17
2.13	<i>Trichoderma</i> spp.....	17
2.13.1	Modo de acción de <i>Trichoderma</i> spp.	18
2.13.2	Clasificación taxonómica de <i>Trichoderma</i> spp.	18
2.13.3	Morfología.....	18
2.13.4	Ventajas.....	19
2.13.5	Estimulación de crecimiento	19
2.13.6	Tratamiento de semillas con <i>Trichoderma</i> spp.	20
2.13.7	Directamente al suelo en semilleros o a campo abierto	20
2.13.8	Mecanismos de acción	21
2.13.9	Competencia.....	21
2.13.10	Micoparasitismo	21
2.13.11	Antibiosis	22
3.	MATERIALES Y MÉTODOS	23
3.1	Ubicación del experimento	23
3.2	Obtención del material vegetal y biológico	23
3.3	Aislamiento del fitopatógeno.....	23
3.4	Purificación del fitopatógeno.....	23
3.5	Identificación del fitopatógeno	24
3.6	Obtención de los extractos vegetales	24

3.7	Actividad inhibidora del extracto	24
3.8	Cepas antagonistas	25
3.9	Cultivos duales de <i>T. harzianum</i> y <i>T. longibrachiatum</i>	25
3.10	Actividad inhibitoria de <i>T. harzianum</i> y <i>T. longibrachiatum</i>	25
4.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	27
4.1	Aislamiento e identificación del agente causante de la muerte regresiva del mango	27
4.2	Evaluación del efecto de control <i>in vitro</i> de extractos etanólicos de <i>Hamelia patens</i> y <i>Argemone mexicana</i> sobre el crecimiento de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (Pat.) Griffon e Maubl.....	28
4.2.1	Inhibición <i>in vitro</i> del extracto etanólico estático de <i>A. mexicana</i> contra <i>L.</i> <i>theobromae</i>	28
4.3	Crecimiento micelial <i>in vitro</i> de <i>L. theobromae</i> en presencia del extracto de <i>H.</i> <i>patens</i> (estático).....	30
4.4	Comparación del porcentaje de antagonismo de <i>T. harzianum</i> y <i>T. longibrachiatum</i> sobre de <i>L. theobromae</i>	31
5.	CONCLUSIONES	35
6.	LITERATURA CITADA.....	36
	ANEXOS	43

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Escala para la determinación de la capacidad antagónica de <i>Trichoderma</i> spp.	26
Cuadro 2. Varianza del extracto etanólico de <i>A. mexicana</i> contra el crecimiento micelial de <i>L. theobromae</i>	43
Cuadro 3. Varianza del extracto acuoso en movimiento de <i>H. patens</i> contra el crecimiento micelial de <i>L. theobromae</i>	43
Cuadro 4. Varianza del antagonismo <i>Trichoderma</i> spp. contra el crecimiento micelial de <i>L. theobromae</i>	43

INDICE DE FIGURAS

Fig. 1 Caracterización morfológica del aislamiento de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (Pat.) Griffon e Maubl.	27
Fig. 2 Porcentaje de inhibición del extracto etanólico de <i>A. mexicana</i> (Estático) sobre <i>L. theobromae</i>	28
Fig. 3 Porcentaje de inhibición del extracto acuoso en movimiento de <i>H. patens</i> sobre <i>L. theobromae</i>	30
Fig. 4 Crecimiento micelial in vitro del patógeno <i>L. theobromae</i> en presencia del extracto de <i>H. patens</i> (Estático) a la dosis de 4,6,8 y 10 litros.	31
Fig. 5 Comparación del porcentaje de inhibición de los antagonistas <i>T. harzianum</i> y <i>T. longibrachiatum</i> sobre de <i>L. theobromae</i>	32
Fig. 6 Determinación del grado de antagonismo de <i>T. longibrachiatum</i> contra <i>L. theobromae</i>	33
Fig. 7 Determinación del grado de antagonismo de <i>T. harzianum</i> contra <i>L. theobromae</i> ...	34

RESUMEN

El mango es una de las frutas más consumidas a nivel mundial, sin embargo, su producción se ve afectada por diferentes enfermedades causadas por bacterias, hongos e insectos. En los últimos años la enfermedad conocida como muerte descendente o regresiva ha tomado cierto impacto ya que causa daños desde poscosecha hasta la vida de anaquel. Por lo cual este trabajo tiene como objetivo evaluar el efecto de extractos de *Hamelia patens*, *Argemone mexicana* y antagonismo de *Trichoderma* spp. bajo condiciones de laboratorio para el control de *Lasiodiplodia theobromae* en mango. Para esto se prepararon los extractos a base de agua y etanol a dosis de 4 L/ha, 6L/ha, 8 L/ha y 10L/ha sobre la técnica de difusión en placa Petri, donde cada 24 h se tomó el crecimiento micelial hasta que el testigo llenó la placa, estos resultados fueron convertidos a porcentaje de inhibición para conocer su efectividad. Obteniendo mayor inhibición en el extracto etanólico de *A. mexicana* a una dosis de 10 L/ha y 8 L/ha, por otra parte, el extracto etanólico de *H. patens* (estático) no tuvo ningún efecto fungistático sobre *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl.

Por último, también se evaluó *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* determinando su grado de antagonismo en la escala de Bell, ubicándolos en el Grado 3 y 2, concluyendo que las especies de *Trichoderma* spp. tuvieron un mejor efecto inhibitorio sobre *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl.

1. INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los principales cultivos perennes en México, considerado el cuarto productor a nivel mundial, con una superficie cultivada de 2 millones 156 mil toneladas, 3.4% mayor en comparación con 2020, resultado del aumento de 1.2% en la superficie en producción y de 2.1% en su rendimiento; de las cuales la mayor producción se exporta a los Estados Unidos de América, Canadá y Japón (SIAP, 2022).

Sin embargo, este cultivo puede ser afectado por diversos patógenos que provocan enfermedades graves antes y después de la cosecha. Las enfermedades importantes incluyen antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*), pudrición (*Alternaria* spp.), mildiu polvoso (*Oidium mangiferae*), pudrición del extremo del tallo (*L. theobromae*), pudrición (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*), gomosis y mancha negra bacteriana (Munira *et al.*, 2017).

La pudrición del extremo del tallo es una de las enfermedades más importantes causada por varios hongos como *D. dominicana*, *L. theobromae*, *Alternaria* spp. y *Pestalotiopsis* spp. (Munira *et al.*, 2017).

Por otra parte, *L. theobromae* es un hongo cosmopolita y tiene un amplio rango de hospederos, incluidos monocotiledóneas, dicotiledóneas y gimnospermas, especialmente de los trópicos y subtrópicos (Picos, 2017).

En la mayoría de los casos, la enfermedad se ha caracterizado por exudación de goma, marchitez, muerte regresiva, pardeamiento vascular y muerte de todo el árbol (Khanzada *et al.*, 2015).

En los últimos años, los sistemas agrícolas se han visto afectados por el uso de pesticidas para el control de enfermedades, plagas y malezas, lo que ha provocado grandes problemas ambientales y en la salud humana. Entre estas cuestiones, la pérdida de biodiversidad se cita como una de las problemáticas más importantes (Mesa *et al.*, 2019).

Sin embargo, han surgido nuevas iniciativas y técnicas de control biológico derivados de productos naturales obtenidos a partir de plantas y microorganismos como el desarrollo de

bioinsecticidas, bioherbicidas, bioacaricidas, bionematicidas y biofungicidas, catalogados como bioinsumos (Mesa *et al.*, 2019).

Las propiedades de algunas plantas tienen el potencial para disminuir el uso de agroquímicos debido a algunos alcaloides que se encuentran en su composición, a diferencia de los agroquímicos estos no perduran por años en el medio ambiente y no atentan contra la ecología (Castillo, 2004).

La efectividad de los extractos de plantas sobre patógenos es debido a sus compuestos como taninos, antocianinas, saponinas, esteroides, entre otros metabolitos secundarios que hacen posible su eficacia (García y Pérez-Urria, 2009).

Regularmente se buscan plantas como fuente para el desarrollo de biofungicidas, por ejemplo, *A. mexicana* conocida como chicalote, endémica de México (Hernández, 2022).

Otra opción son los antagonistas que contribuyen a reducir los daños causados por enfermedades en los agroecosistemas donde existen las condiciones para su desarrollo y mantenimiento. Para lograr este objetivo, los microorganismos benéficos están equipados con diversos mecanismos de acción que les permiten ejercer efectos biorreguladores. Estas propiedades, junto con la capacidad de reproducirse en abundancia, se encuentran entre las más importantes para considerarlo como un agente de control biológico (Infante *et al.*, 2009).

Comúnmente, las especies de *Trichoderma* spp. son las más utilizadas para el control biológico de fitopatógenos del suelo. Estas especies tienen diferentes modos de acción o mecanismos que incluyen competencia por sustratos, micoparasitismo, antibiosis, inactivación de enzimas patógenas e inducción de resistencia, entre otros (Infante *et al.*, 2009).

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo General

Estudiar el efecto de extractos etanólicos de *Hamelia patens*, *Argemone mexicana* y antagonismo de *Trichoderma* spp. bajo condiciones de laboratorio para el control de *Lasiodiplodia theobromae*.

1.1.2 Objetivos Específicos

Determinar la inhibición de *L. theobromae* con extractos etanólicos de *H. patens* y *Argemone mexicana*.

Determinar el antagonismo *in vitro* de *L. theobromae* contra *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma longibrachiatum*

1.2 Hipótesis

Se espera que al menos un extracto etanólico de las plantas en estudio y/o *Trichoderma* spp. controlen a *Lasiodiplodia theobromae* en laboratorio.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Origen del cultivo

El mango es originario de Asia tropical y pertenece a la familia Anacardiácea, su nombre es de origen portugués y estos fueron quienes lo introdujeron al continente americano. Fue en el siglo XVII cuando llegó a las costas del Golfo de México, plantándose por primera vez en el estado de Veracruz (Zavala, 2021).

2.2 Importancia económica

El cultivo en el sector frutícola es uno de los más rentables en la agricultura nacional, cultivado en 23 estados de la república (SADER, 2021). En México, es uno de los frutos más cotizados, además de ser un producto que genera grandes ganancias por sus exportaciones. Entre los principales estados productores se encuentran Sinaloa con 423,518 ton, Guerrero 404,561 ton, Nayarit 334,915 ton y Chiapas 272384, aportando dos terceras partes del volumen cosechado a nivel nacional (SIAP, 2022).

La mayor parte de la producción nacional de esta fruta es destinada para consumo interno como fruta fresca, las variedades más cultivadas en México son Ataúlfo, Manila, Tommy atkins, Kent, Haden y Criollo (SIAP, 2022).

2.3 Morfología de *Mangifera indica* L.

Es una especie arbórea de porte alto, de 9 a 35 m de altura, con hojas perennes, una copa simétrica y redondeada. Las hojas se encuentran de manera alterna, de forma lanceolada y de textura coriácea; son de color rosa, ámbar o verde pálido cuando son jóvenes y se vuelven verde oscuro cuando están completamente desarrolladas. Los mangos tienen inflorescencias,

que son panículas con varias ramificaciones que emergen de la yema terminal (Castillo, 2020).

Por otra parte, el fruto es succulento, carnoso, de color verde, amarillo o rojizo, que contiene un hueso grande, con una cubierta leñosa; su forma es variable, hay esféricos y aplanados como el mango Manila. (SIAP, 2022)

2.4 Clasificación taxonómica del mango

(ITIS, 2023)

Reino Plantae

Filo Tracheophyta

Clase Magnoliopsida

Orden Sapindales

Familia Anacardiaceae

Género *Mangifera*

Especie *indica* L.

2.5 Condiciones edafoclimáticas

2.5.1 Temperatura

Es la variable más importante ya que tiene mayor dominancia en el crecimiento y desarrollo del mango. Las temperaturas promedio para obtener un buen crecimiento del fruto deben oscilar entre 27°C y 36°C, en cambio, para la maduración entre 30°C y 33°C. Varios estudios coinciden que el estrés producido por temperaturas menores o iguales a 20°C son

primordiales para la inducción e inicio de la floración en el cultivo y el periodo mínimo de temperaturas bajas para que ocurra la floración varía de 21 y 30 días (SENAMHI, 2021).

2.5.2 Luminosidad

La luz influye en el tamaño del fruto, debido que, a menor iluminación se presenta un menor tamaño, asimismo, los frutos que se exponen a la luz desarrollan una coloración rosa-roja debido a la gran concentración de pigmentos antocianinas, más evidentes que los que se encuentran en zonas sombreadas (SENAMHI, 2021).

2.5.3 Altitud

Es cultivable desde 300 hasta 1300 msnm, según la variedad (SENAMHI, 2021).

2.5.4 Precipitación

El requerimiento hídrico es de 10000 a 15000 m³/ha, no obstante, el exceso de lluvia en épocas de cosecha (verano) representan un riesgo climático, ya que favorece el desarrollo de enfermedades que dañan la calidad y producción de la cosecha (SENAMHI, 2021).

2.6 Fitopatógenos que afectan el cultivo

Las plagas se encuentran entre los factores que pueden tener el mayor impacto en la sostenibilidad de la producción del mango en muchas regiones tropicales y subtropicales del mundo. Además, la situación fitosanitaria de esta especie es cada vez más compleja debido a la expansión del cultivo a nuevas regiones, cambios en la gestión del cultivo, actualización de variedades o crecientes intervenciones químicas. También el cambio climático está cambiando los patrones de distribución de los patógenos, la globalización de los mercados

está abriendo nuevas oportunidades para el crecimiento del comercio internacional de mangos y, si no se toman medidas sanitarias adecuadas con urgencia, las plagas y enfermedades representan una amenaza para la propagación (Bricio, 2021).

Los daños que causan dependen de las condiciones climáticas de cada ciclo de cultivo. Si estos son adecuados para los patógenos, la enfermedad puede ser muy destructiva (FPS, 2011).

2.6.1 *Colletrotrichum gloesporioides*

La antracnosis es la principal enfermedad que afecta seriamente la producción de mango. Las condiciones óptimas para el desarrollo de este hongo son altas precipitaciones y una humedad relativa superior al 82%, esto causa daño a los tejidos vegetales como hojas, tallos y frutos, disminuyendo la producción del 15 al 50%. Este patógeno está latente en frutos maduros y puede expresarse durante el proceso postcosecha. Las hojas jóvenes son más susceptibles donde se observan manchas de forma irregular y las nervaduras muestran necrosis. Cuando las condiciones ambientales son óptimas para el desarrollo del hongo, este forma esporas, prolifera conidios, germina y se adhiere (Martínez, *et al.*, 2019).

2.6.2 *Xanthomonas campestris* pv. *mangiferaeindicae*

Causante de la pérdida de un 10 al 70% de frutos prematuros, generando pérdidas del 10 al 85% y en caso de almacenamiento genera pudrición del 5% hasta la totalidad del producto cosechado. Ocurre en peciolos, yemas, ramas y frutos como lesiones húmedas de color amarillo pálido que luego se agranden y se vuelven de color marrón oscuro a negro, dando lugar a canchales. En caso de infecciones. En caso de una infección extensa, se produce defoliación y coloración amarillenta en las hojas y el fruto se vuelve de color marrón a negro (Martínez, *et al.*, 2019).

2.6.3 *Oidium mangiferae*

El daño principal ocurre en etapa de floración donde las flores quedan cubiertas de un polvo blanco grisáceo con un olor peculiar a moho, éstas no se abren y la inflorescencia cae. Hojas reseca, el cuarteado de frutos y la caída de los más pequeños son otros de los síntomas que causa *Oidium mangiferae*, ocasionando pérdidas de 80 a 90% en la producción e incluso afecta desde el desarrollo inicial de los frutos hasta el amarre (Mendoza, 2018).

2.6.4 *Alternaria* spp.

Comúnmente se encuentra en restos o material vegetal húmedo y pocas veces se desarrolla sobre los frutos que son almacenados después de la cosecha. Los frutos que se almacenan en temperaturas de 10°C por 14 días resultan infectados en más del 80% por el hongo. El patógeno infecta peciolas senescentes formando una gran cantidad de conidias, siendo estos la principal fuente de inóculo. Las lesiones son manchas ovales a circulares y la humedad es esencial para una rápida germinación (Santos, 2019).

2.6.5 *Capnodium* sp.

Es una de las enfermedades de mayor importancia en el cultivo de mango. Es un hongo que obtiene sus recursos de las excreciones de insectos como pulgones y escamas, también genera su crecimiento y desarrollo sin penetrar los tejidos de la planta causando daños indirectos interfiriendo en las funciones de las hojas ya que afecta los procesos de transpiración, respiración y fotosíntesis. Estos daños indirectos repercuten en los procesos fisiológicos del cultivo disminuyendo la producción (Martínez., *et al* 2020).

2.7 *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl j

Las especies de este género son patógenos vegetales de gran importancia en países productores de mango debido a que infectan las plantas en el transcurso de las fases previas y posteriores a la cosecha (Munira *et al.*, 2017).

Se asocia con la muerte regresiva del mango y causa diferentes enfermedades en las plantas con una gran distribución en las zonas tropicales y subtropicales del mundo (Chukunda, 2019).

Es un hongo saprofito pero considerado un patógeno latente, sin embargo, lo podemos encontrar como endófito en tejidos sanos de la planta (Picos, 2017).

2.7.1 Taxonomía

(ITIS, 2023)

Reino Fungi

Filo Ascomycota

Clase Dothideomycetes

Orden Botryosphaeriales

Familia Botryosphaeriaceae

Género *Lasiodiplodia* Ellis & Everh., 1896

Especie *theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl

2.7.2 Morfología

Se caracteriza por formar cuerpos fructíferos llamados picnidios, los cuales pueden ser redondos o piriformes con una abertura apical llamada ostiolo por el cual liberan conidias,

las mismas que se forman sobre células conidiogénicas en conidióforos cortos y que se agrupan en masas mucilaginosas que pueden salir en condiciones de alta humedad relativa o lluvia, unidas unas a otras en forma de cadenas (Santos, 2019).

En condiciones de alta humedad relativa y luz solar, los picnidios se desarrollan en los tejidos infectados de la corteza del mango. Sus hifas inmaduras son septadas, ramificadas y cuando maduran se vuelven de color marrón. Las conidias son hialinas, aceptadas y de color claro, y cuando maduran cambian a un color marrón oscuro, con estrías longitudinales (Santos, 2019).

2.7.3 Condiciones óptimas para su desarrollo

Comúnmente se encuentra en regiones tropicales y subtropicales, logrando desarrollarse en suelos arcillosos o subsuelo impermeable y con alta humedad (Moreira *et al.*, 2021).

La colonización rápida de este patógeno se debe a las temperaturas entre 30 y 35°C, por el contrario, su crecimiento se ve afectado por temperaturas inferiores a 10°C (Robledo *et al.*, 2019). Sin embargo, el microorganismo puede esporular entre 15 y 40°C, siendo favorecido por períodos lluviosos que estimulan la producción masiva de esporas y su diseminación (Moreira *et al.*, 2021)

2.7.4 Síntomas

Este patógeno puede infectar tejido vegetal sano sin mostrar síntomas y comportarse como un endófito. Sin embargo, pueden aparecer síntomas si la planta se expone a cualquier tipo de estrés (Moreira *et al.*, 2021)

Los síntomas de la enfermedad son manchas oscuras con bordes regulares que comienzan en el pedúnculo del fruto, comprometiendo la pulpa, la misma que presentara un color oscuro y una textura acuosa (Santos, 2019).

El secado de la punta, la decoloración y el oscurecimiento de la corteza son los síntomas más comunes. Después hay una defoliación de hojas seguidas de una exudación de goma de las

partes infectadas, estos síntomas se pueden encontrar solos o en combinación (Shahbaz *et al.*, 2009).

Habitualmente la enfermedad inicia en el follaje y en estados avanzados las ramas infectadas presentan un color marrón en el sistema vascular. Por el contrario, en árboles adultos el fitopatógeno se presenta en las ramas jóvenes meses después de haber realizado una mala poda (Bruce, 2019).

Las heridas provocadas por herramientas, insectos, gotas de lluvia y viento son la principal vía de entrada de este patógeno al huésped. Incluso al llegar a infectar a una fruta en el árbol, el patógeno puede permanecer inactivo hasta que madure (Torres, 2023).

2.8 Manejo de la enfermedad

Para mantener y elevar los niveles de producción, al igual que la calidad es importante implementar diferentes medidas para poder prevenir y controlar las enfermedades, para esto existen diferentes métodos de control, aunque algunos de ellos pueden presentar algunas desventajas sobre otros, por ejemplo, el costo, los daños que causan al ambiente, así como a la salud del consumidor y del agricultor (Sedeño, 2021).

2.8.1 Control cultural

Este método consiste esencialmente en intervenir los procesos de los patógenos como la supervivencia, propagación y reproducción, minimizando así el impacto de la enfermedad. Como medidas importantes, se recomienda hacer un saneamiento en toda la plantación y eliminar partes, tejidos o plantas infectadas mediante una poda adecuada al igual que los restos que se encuentran en el suelo puesto que es una fuente importante de inóculo para el fitopatógeno (Moreira *et al.*, 2021).

Otros métodos que se pueden implementar incluyen elegir un área de plantación libre de patógenos, seleccionar el momento de la siembra (vivero) o trasplante (campo), utilizar

materiales de propagación libres de patógenos y quizás uno de los métodos más importantes es evitar dañar la planta, ya que las heridas pueden ser un importante punto de entrada para los patógenos (Moreira *et al.*, 2021).

2.8.2 Control físico

Este método utiliza factores físicos (normalmente temperatura y radiación) para combatir la enfermedad. Aunque no hay estudios que hayan demostrado el uso de este método para controlar la enfermedad causada por *L. theobromae*, la solarización del suelo puede ser una alternativa interesante (Moreira *et al.*, 2021).

2.8.3 Control químico

Se utilizan productos químicos que inhiben el crecimiento de hongos y sus esporas e incluso producen su muerte (Torres, 2023).

Algunos fungicidas utilizados son azoxistrobina, carbendazim, clorotalonil, difeconazole, fosetil-aluminio, piraclostrobina, procloraz, iprodiona, tiofanato de metil (Moreira *et al.*, 2021).

2.8.4 Control biológico

Sugiere el uso de distintos organismos (compuestos o extractos obtenidos de ellos) que solos o en combinación tienen la capacidad de disminuir los efectos mortales que causa un fitopatógeno en la productividad de un cultivo. Este método depende de las interacciones que suceden entre la planta, patógeno, el organismo biocontrolador y el ambiente de tal interacción (Vinchira *et al.*, 2019).

El propósito del uso de microorganismos biocontroladores es reducir la aplicación de agroquímicos y disminuir la presencia del patógeno de una manera amigable con el ambiente (Vinchira *et al.*, 2019).

2.9 Extractos

Algunas de las alternativas empleadas en la agricultura sostenible para el control de plagas, enfermedades y arvenses es la utilización de extractos vegetales, debido a su efectividad y bajo costo (Celis *et al.*, 2009).

Los extractos vegetales son productos a base de sustancias elaboradas por las plantas, las cuales forman parte de sus estrategias defensivas. Estos compuestos les brindan algunas características a los extractos, como; antialimentarios, antimicrobianos, antivirales, repelentes o inhibidores de germinación de semillas (Celis *et al.*, 2009).

Para su elaboración se utilizan las raíces, flores, hojas y semillas, las sustancias que se extraen son piretroides, alcaloides y terpenoides, que interfieren en el desarrollo de las plagas (Jozivan *et al.*, 2008).

Cada planta contiene más de 60 compuestos y pueden tener varias propiedades antifúngicas, comúnmente están presentes como mezclas de compuestos y los patógenos pueden verse afectadas de manera diferente en concentraciones y proporciones específicas (Avalos *et al.*, 2019).

Pueden mejorar la fuerza de las plantas, repeler o suprimir al patógeno. Su eficiencia depende de varios factores y todos ellos no pueden ser controlados, así que los resultados pueden variar en función del estado del cultivo, las condiciones de extracción y la calidad de la planta (Rodríguez *et al.*, 2004).

2.10 *Argemone mexicana*

2.10.1 Descripción botánica

Es una maleza anual, originaria de México, pero se puede encontrar distribuida en todos los continentes, crece a orilla de carretera, en terrenos baldíos y también cuando se remueven las tierras de cultivo. Su tallo es ramificado, oblongo, con espinas y cuando se corta exuda una sustancia amarilla, sus flores son amarillas con un diámetro de 2 a 2.5 cm, las hojas son alternas, con un color verde azulado y parecidas a cardos, sin peciolo, dentadas y los márgenes espinosos, además sobre la parte superior de la hoja destacan unas venas de color blanco grisáceo, la fruta es una capsula espinosa, de forma ovoide, con varias semillas, casi esféricas, cubiertas por una delgada red de venas, de color negro y con 1 mm de diámetro, la planta puede llegar a medir hasta 150 cm (Hernández *et al.*, 2022).

2.10.2 Clasificación taxonómica de *Argemone mexicana*

(ITIS, 2023).

Reino: Plantae

Clase: Magnoliopsida

Orden Ranunculales

Familia Papaveraceae

Género *Argemone*

Especie *mexicana*

2.10.3 Importancia

Argemone mexicana es considerada una planta medicinal importante en todo el mundo. Todas las partes y componentes de esta planta se han utilizado para tratar diversos tipos de

enfermedades. Por ejemplo, el aceite de semilla se utiliza como tratamiento para las úlceras, el asma y otras enfermedades (Bojórquez, 2017).

Durante los últimos años el interés de estudio por *A. mexicana* ha crecido debido a sus propiedades medicinales ya que se ha reportado que tiene actividad antimicrobiana, antidiabética, antioxidante y hepatoprotectora. Además, se utiliza para curar verrugas, herpes labial, picazón, llagas e infecciones cutáneas. También se ha informado que la planta se utiliza para el tratamiento de la tos ferina, bronquitis, lepra e ictericia (Lekrya y Bhaskara, 2012).

2.10.4 Actividad antifúngica

Se informó actividad antifúngica tanto para los extractos crudos como para los componentes químicos aislados. Los principales constituyentes químicos de *A. mexicana* que exhiben tal actividad incluyen terpenoides, alcaloides, flavonoides, fenoles, compuestos alifáticos de cadena larga y algunos compuestos aromáticos (Hernández *et al.*, 2022).

2.11 *Hamelia patens*

Es un arbusto ornamental que se encuentra distribuido en áreas tropicales, generalmente empleado en el área de farmacéutica, en algunas investigaciones se ha determinado su función como: antimicrobiano, diurético, antiinflamatorio y antioxidante. Por otra parte, en su contenido se han encontrado cantidades de metabolitos secundarios como saponinas, terpenos, esteroides, taninos, entre otros. Aunque el perfil fitoquímico de las plantas depende de varios factores como la edad fisiológica, el tipo de órgano, las condiciones edafoclimáticas, el momento de corte y el procesamiento de la muestra (Fontanills *et al.*, 2018).

2.11.1 Clasificación taxonómica de *H. patens*

(Martínez, 2016).

Reino Plantae

Filo Magnoliophyta

Clase Magnoliopsida

Orden Rubiales

Familia Rubiaceae

Género *Hamelia*

Especie *patens* Jacq.

2.11.2 Descripción botánica

Se caracteriza por ser un arbusto pequeño que incluye flores tubulares de color rojo o naranja con tendencia a amarillo, con hojas perennes que crece en áreas tropicales y subtropicales, bajo sol y sombra (Noor *et al.*, 2020).

H. patens una vez establecida es tolerante al calor y sequía, además puede desarrollarse en todo tipo de suelos. También es conocido como arbusto de colibrí debido a que estos animales son atraídos por sus flores (Noor *et al.*, 2020).

2.11.3 Propiedades medicinales

Se ha demostrado que *H. patens* contiene diferentes alcaloides, como: isopteropodina, rumberina, palmirina, maruquina y alcaloide A, B Y C, apigenina, efedrina, narirutinas, flavanonas, ácido rosmarínico, especiofilina, taninos, etc. Por lo tanto, se han realizado varios estudios en el área farmacológica donde se ha observado su efecto sobre el sistema

inmunológico, el sistema nervioso central, el sistema vascular, el sistema reproductivo y el sistema gástrico (Kaushik y Singh, 2020). En tales estudios se ha observado que los extractos de *H. patens* son antiinflamatorios, antinociceptivos, antimicrobianos y cicatrizantes (Ahmad *et al.*, 2012).

2.12 Hongos antagonistas

Son compuestos naturales del suelo que se pueden encontrar en material vegetal en estado de descomposición capaces de adaptarse a diferentes ambientes. Uno de los géneros más importantes en el control de plagas es *Trichoderma* spp., que se utiliza en campo e invernaderos contra una amplia variedad de hongos fitopatógenos del suelo y aire. Además, se utilizan con mayor frecuencia porque son fáciles de aislar y cultivar y no tienen ningún efecto sobre las plantas superiores (Gómez *et al.*, 2013).

2.13 *Trichoderma* spp.

Son hongos de vida libre, ubicuos, no patógenos que interactúan con las raíces, el interior de las plantas y el suelo. *Trichoderma* spp. tiene la capacidad de colonizar sitios de infección, como raíces en crecimiento, heridas o tejido senescente (Olivo *et al.*, 2018).

Tiene un amplio número de cepas de hongos filamentosos rizocompetentes, estos los podemos encontrar en una gran variedad de ecosistemas. Algunas especies presentan un olor dulce o a coco producido por un compuesto volátil (6-pentil- α -pirona) y una esporulación de color verde (Brotman *et al.*, 2010).

Su uso potencial como agente de biocontrol de fitopatógenos se debe a su capacidad de producir enzimas como glucanasas, quitinasas, celulasas, proteasas y amilasas que destruyen la pared celular del fitopatógeno (Brotman *et al.*, 2010).

2.13.1 Modo de acción de *Trichoderma* spp.

Cuando se aplica, *Trichoderma* spp. coloniza las raíces y forma una capa protectora sobre ellas, formando una relación simbiótica donde el hongo se alimenta de los exudados de las raíces mientras protege las raíces y reduce o elimina las fuentes de alimento para los fitopatógenos (Gómez *et al.*, 2013).

También es utilizado en el tratamiento de semillas, sustratos de crecimiento de plántula o suelo. Desafortunadamente, aunque el micelio y las clamidosporas tienen buena actividad como agentes de control biológico, no toleran pasos de procesamiento como el secado. Esto hace que los conidios sean menos susceptibles a las influencias ambientales y más fáciles de producir, lo que facilita el proceso de formulación (Olivo *et al.*, 2018).

2.13.2 Clasificación taxonómica de *Trichoderma* spp.

(NCBI, 2023)

Reino Fungi

División Ascomycota

Orden Hypocrea

Familia Hypocraceae

Género *Trichoderma*

2.13.3 Morfología

En su mayoría *Trichoderma* spp. genera gran cantidad de conidios generalmente de color verdes y en algunas ocasiones hialinos, uninucleados y ovoides, con conidióforos ramificados con forma piramidal, tabicados y contienen más de un núcleo. Su

fotosensibilidad favorece su esporulación en varios sustratos naturales o artificiales, formando colonias de color blanco a verde intenso, su color varía de acuerdo con la pigmentación de sus esporas. Dichas colonias suelen ser compactas o sueltas, el micelio es hialino y septado, de ahí se originan los conidióforos en gran medida ramificados y cortos, donde se producen conidias, esféricas, unicelulares, esféricas no septadas, subglobosas y se encuentran en forma de racimos (Vargas, 2014).

2.13.4 Ventajas

(Chiriboga *et al.*, 2015)

- Amplio rango de acción.
- Control eficaz de fitopatógenos como *Pythium* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp. y *Botrytis* sp.
- Aumenta rápidamente su población en el suelo teniendo un control a largo plazo sobre patógenos
- Estimulación de crecimiento en las plantas y raíces mejorando la absorción de nutrientes.
- Ayuda a descomponer la materia orgánica y hace asimilables los nutrientes
- Es una gran alternativa para sustituir los agroquímicos
- Aceleran el proceso de descomposición de materia orgánica

2.13.5 Estimulación de crecimiento

Varias investigaciones reportan la eficiencia del aumento de solubilidad de los nutrientes y su rápida absorción por medio de las raíces al aplicarse al suelo, semillas o superficies de las plantas. Este efecto es posible debido a que *Trichoderma* spp. produce compuestos como sideróforos y ácidos grasos que aumentan la disponibilidad de los nutrientes (Guzmán *et al.*, 2019). Por ejemplo, *T. harzianum* aumenta la disponibilidad de P en el suelo, así como de otros nutrientes (Sood *et al.*, 2020).

Además de mejorar el crecimiento y desarrollo de las raíces también *Trichoderma* spp. otorga tolerancia al estrés abiótico y mejora la absorción de micro y macronutrientes para que haya una mayor productividad en los cultivos al igual que ayuda con la degradación de materia orgánica (Awad-Allah *et al.*, 2023).

2.13.6 Tratamiento de semillas con *Trichoderma* spp.

Se utiliza para el control de hongos fitopatógenos, una vez sembrada la semilla disminuirá la infestación y le dará protección en el nicho. Durante el proceso se deben considerar algunas características en la semilla como la textura, también hay que tomar en cuenta la importancia de un adherente para tener seguro un recubrimiento óptimo de acuerdo con la dosis recomendada de los productos (Valdés, 2014).

Investigaciones refieren que algunas cepas de *Trichoderma* spp. tienen la capacidad de colonizar las raíces a partir de las semillas tratadas, logrando así protegerlas de hongos fitopatógenos. Por ejemplo, al inocular semilleros con *T. harzianum* se logró proteger a las plántulas, disminuyendo las poblaciones de *R. solani* y *Pythium* spp. en el suelo (Valdés, 2014).

2.13.7 Directamente al suelo en semilleros o a campo abierto

Esta técnica ofrece una mayor protección a los cultivos para el control de hongos en el suelo, puede complementarse con materia orgánica como estiércol y biofertilizantes. Por ejemplo, la utilización de *Trichoderma asperellum* para la disminución de la pudrición del cuello por *Rhizoctonia solani* donde se han obtenido resultados hasta de un 60% de reducción (Valdés, 2014).

2.13.8 Mecanismos de acción

El género *Trichoderma* spp. tiene varios mecanismos de acción encargados de regular el desarrollo de los hongos fitopatógenos, algunos de ellos son la competencia por espacio y nutrientes, el micoparasitismo y la antibiosis. También se presentan otros mecanismos de acción, pero de forma indirecta los cuales inducen mecanismos de defensa fisiológicos y bioquímicos en las plantas, como la inducción de resistencia y la solubilización de elementos nutritivos (Infante *et al.*, 2009).

2.13.9 Competencia

Es el comportamiento desigual de dos o más organismos debido a un mismo recurso, con el objetivo de que la utilización de este por uno de los organismos reduzca la cantidad o espacio disponible para el resto (Infante *et al.*, 2009).

Algunos recursos son el espacio y oxígeno que son variables con la capacidad de alterar la rizosfera y reducir la colonización por microorganismos patógenos (Gómez *et al.*, 2013). De esta manera se da una competencia directa por los mismos recursos que algunos patógenos, la reducción de la enfermedad es posible debido a la colonización que tiene *Trichoderma* spp. en los sitios de unión con los patógenos en la planta (Vargas, 2014).

Para la evaluación de este mecanismo de forma *in vitro* se considera principalmente el espacio considerando la velocidad de crecimiento del antagonista considerando el sustrato, pH y temperatura, etc (Martínez *et al.*, 2013).

2.13.10 Micoparasitismo

Implica una serie de interacciones que ocasionan daños morfológicos como la cobertura del hongo patógeno, penetración y el parasitismo directo por la formación de haustorios y deterioro de una hifa por otra, es decir, es el fenómeno de un hongo que parasita a otro hongo

(Gómez *et al.*, 2013). Se trata de una serie de eventos a nivel molecular y bioquímicos que están involucrados en la interacción entre antagonista y patógeno (Vargas, 2014).

Se resume como el ataque directo de un hongo a otro ya que el parasitismo por *Trichoderma* sp. es destructivo provocando la inhibición del hongo huésped (Vargas, 2014).

Este proceso ocurre en cuatro etapas: crecimiento quimiotrófico (*Trichoderma* spp. detecta sus hospedantes a distancia), reconocimiento (especificidad del antagonista por su sustrato), adhesión y enrollamiento (Martínez *et al.*, 2013).

2.13.11 Antibiosis

Es la actividad inhibidora producida por antibióticos o metabolitos secundarios sobre un microorganismo sensible a estos. *Trichoderma* spp. produce metabolitos secundarios volátiles y no volátiles que sin hacer contacto físico debilitan al patógeno. Algunos compuestos identificados no volátiles son trichodermina, gliotoxina y viridina (Infante *et al.*, 2009).

Las enzimas hidrolíticas, como: celulasas, quitinasas, glucanasas, proteasas y xylaninas son producidas por *Trichoderma* spp. y estas en presencia de un patógeno incrementan su actividad, sin embargo, la producción de enzimas varía de acuerdo con la composición del medio donde se desarrolla y no de la concentración de inóculo (Vargas, 2014).

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Ubicación del experimento

Los bioensayos se llevaron a cabo en el Laboratorio de Fitopatología del Departamento de Parasitología de la Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Unidad Saltillo.

3.2 Obtención del material vegetal y biológico

H. patens se colectó en la localidad de Chapopote, Chalma, Veracruz, México y la especie de *A. mexicana* fue colectada en los campos de la Universidad, de las cuales se seleccionaron plantas que no tuvieran daños por insectos o enfermedades para después ser trasladadas al Departamento de Parasitología en bolsas de papel.

El fitopatógeno se obtuvo de la misma localidad de Veracruz de un árbol de mango manila del cual se colectó una muestra de 50 hojas de diferentes tamaños

3.3 Aislamiento del fitopatógeno

El inóculo del hongo se obtuvo bajo condiciones de asepsia, se cortaron trozos pequeños de las hojas que presentaban síntomas los cuales se desinfectaron en un matraz con hipoclorito de sodio al 3% con una duración de 3 min, después se aplicó un triple lavado con agua destilada estéril con periodos de 1min entre cada uno y por último se colocaron en papel sanitaria estéril para dejarlos secar bajo la campana de flujo laminar.

3.4 Purificación del fitopatógeno

La purificación se llevó a cabo en la campana de flujo laminar donde se realizó una resiembra de inóculos provenientes del aislado en los medios de cultivo PDA (Agar papa dextrosa).

3.5 Identificación del fitopatógeno

Se tomaron muestras de las placas para realizar montajes en los portaobjetos, a los cuales se les colocó una gota de lactofenol para tener una mejor visibilidad al momento de observarlos en el microscopio en los objetivos 4X, 10X y 40X.

3.6 Obtención de los extractos vegetales

Las muestras deshidratadas de *H. patens* y *A. mexicana* fueron colocadas en una licuadora para ser trituradas hasta obtener un polvo fino el cual se almacenó en frascos ámbar, hasta su utilización.

Los extractos se prepararon a base de etanol (Et-OH) y agua, se procedió a pesar 45 g del material vegetal pulverizado y se agregaron 300 mL del solvente en matraces de 500 mL los cuales se sellaron con un tapón de algodón y se cubrieron con papel estraza para evitar el contacto con la luz. El extracto que se preparó a base de agua se mantuvo en agitación durante 7 días en la placa termoagitadora mientras que los extractos a base de etanol se mantuvieron intactos.

Finalizado el tiempo de agitación, se filtraron los extractos con un embudo Buchner y papel Whatman N°1, para después depositarlos en otros matraces esterilizados.

3.7 Actividad inhibidora del extracto

Para evaluar el efecto inhibidor se hizo una mezcla homogénea del medio papa dextrosa agar y el extracto. Después de que el medio estaba solidificado, se colocaron pequeños discos de 0.5 cm con micelio de crecimiento activo en el centro de las cajas Petri.

Se evaluaron cuatro dosis de los extractos; 10 L/ha, 8 L/ha, 6L/ha, 4 L/ha y un testigo. También se realizaron 3 repeticiones por cada tratamiento más un testigo (sin extracto), posteriormente se tomaron las medidas del crecimiento micelial durante cuatro días, hasta

que el testigo llenó por completo la caja. El crecimiento micelial se determinó midiendo del centro de la caja Petri hacia cada punto cardinal, esto se realizó cada 24 horas.

Posteriormente para obtener el porcentaje de inhibición mediante los resultados obtenidos del crecimiento micelial, se utilizó la siguiente fórmula descrita por (Salazar *et al.*, 2012)

$$\% \text{ inhibición} = \frac{(\text{Crecimiento micelial del testigo} - \text{Crecimiento del tratamiento})}{\text{Crecimiento micelial del testigo}} \times 100$$

3.8 Cepas antagonistas

Las cepas utilizadas fueron *Trichoderma harzianum* y *Trichoderma longibrachiatum* que fueron proporcionadas por el laboratorio de fitopatología.

3.9 Cultivos duales de *T. harzianum* y *T. longibrachiatum*

Se reactivaron en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), se esperó el crecimiento micelial y después se evaluó la capacidad de antagonismo mediante la técnica de cultivos duales. Esta técnica consiste en colocar en un extremo de la caja Petri un disco de 4 mm de diámetro del medio de cultivo que contiene al antagonista y en el otro extremo de la caja un disco del mismo tamaño al anterior, pero con el agente fitopatógeno y después se incubaron a una temperatura de 25°C durante seis días.

3.10 Actividad inhibitoria de *T. harzianum* y *T. longibrachiatum*

Para esto se realizó un diseño completamente al azar con cinco repeticiones por cada una de las especies antagonistas y un testigo absoluto del patógeno. Para la unidad experimental se utilizó una caja Petri. La evaluación de los cultivos duales se realizó cada 24 horas y finalizó cuando el antagonista cubrió por completo al patógeno. Los resultados del porcentaje de inhibición de crecimiento se analizaron mediante un análisis de varianza (SAS 9.0) y

comparación de medias de Tukey para determinar las diferencias significativas entre tratamientos.

Para la evaluación del porcentaje de inhibición del crecimiento se utilizó la siguiente fórmula descrita por (Calvo *et al.*, 2012).

$$PIC = [(C1 - C2) / C1] \times 100.$$

Donde:

PIC Porcentaje de inhibición de crecimiento

C1 es el crecimiento radial del testigo (fitopatógeno sin antagonista)

C2 el crecimiento radial del fitopatógeno en los tratamientos en cultivo dual.

Además, el método elegido para determinar la capacidad antagónica de los microorganismos fue la escala de clases de Bell *et al.* (1982), la cual consta de cinco clases:

Cuadro 1. Escala para la determinación de la capacidad antagónica de *Trichoderma* spp.

GRADO	CAPACIDAD ANTAGONICA
1	El antagonista crece completamente sobre el patógeno y cubre totalmente la superficie del medio de cultivo
2	El antagonista crece las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo
3	Antagonista y patógeno colonizan la mitad de la superficie del medio de cultivo y ninguno de los dos domina sobre otro
4	El patógeno coloniza al menos las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo
5	El patógeno crece por encima del antagonista y ocupa casi toda la superficie del cultivo

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Aislamiento e identificación del agente causante de la muerte regresiva del mango

El hongo fue aislado de plantas de mango manila que presentaban síntomas de la enfermedad para después aislarse e identificarse como *L. theobromae*. Durante los primeros días las colonias en el medio de cultivo desarrollaron un micelio algodonoso de color blanco y abundante, después cambió a un tono gris oscuro con centro negro, así como la producción de conidios ovalados, inicialmente hialinos y unicelulares que al madurar adquirieron un septo transversal y un color oscuro debido a la acumulación de melanina, características reportadas por (Hernández *et al.*, 2021 y Yan *et al.*, 2013).

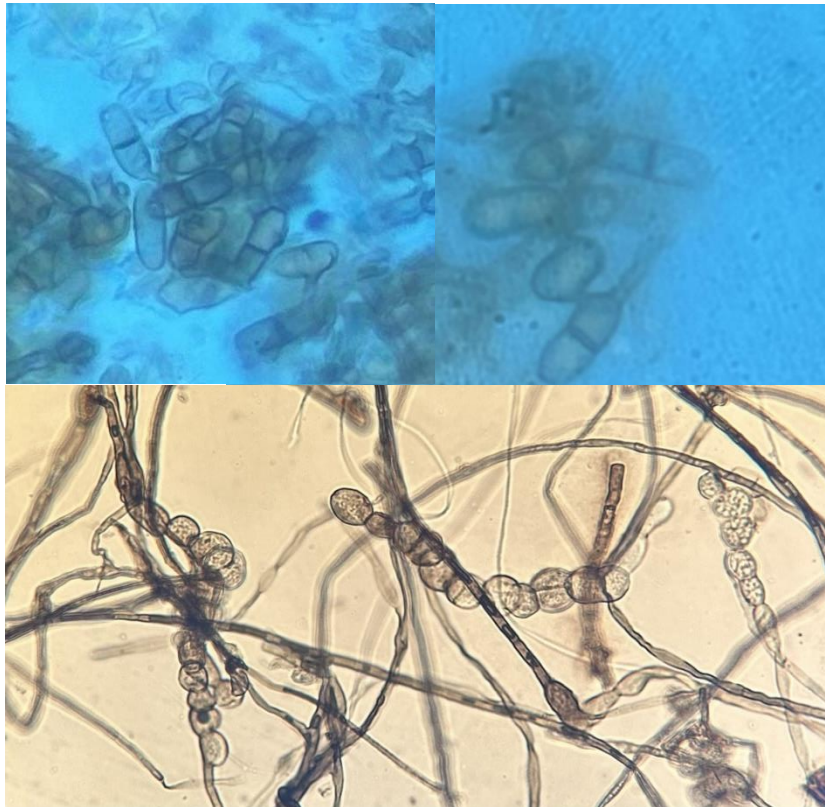


Fig. 1 Caracterización morfológica del aislamiento de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl.

4.2 Evaluación del efecto de control *in vitro* de extractos etanólicos de *Hamelia patens* y *Argemone mexicana* sobre el crecimiento de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon e Maubl.

4.2.1 Inhibición *in vitro* del extracto etanólico estático de *A. mexicana* contra *L. theobromae*.

En la Fig. 2 se observan los resultados obtenidos del extracto etanólico de *A. mexicana* (estático) los cuales muestran que a la dosis de 10 y 8 litros hay un mayor efecto fungistático teniendo una inhibición del crecimiento micelial de más del 70% en comparación con la dosis de 4 litros la cual tuvo una inhibición menor al 50%. A lo cual Hernández *et al.* (2020) utilizaron hojas de *A. mexicana* en extracto acuoso para evaluar su efecto antifúngico en *Sclerotinia sclerotiorum*, las pruebas se llevaron a cabo con tres concentraciones 500, 1000 y 2000 ppm, utilizando el método de dilución del extracto en agar, dentro de estos tratamientos, la concentración de 2000 ppm obtuvo mayor porcentaje de inhibición con una diferencia significativa ($P \leq 0.05$).

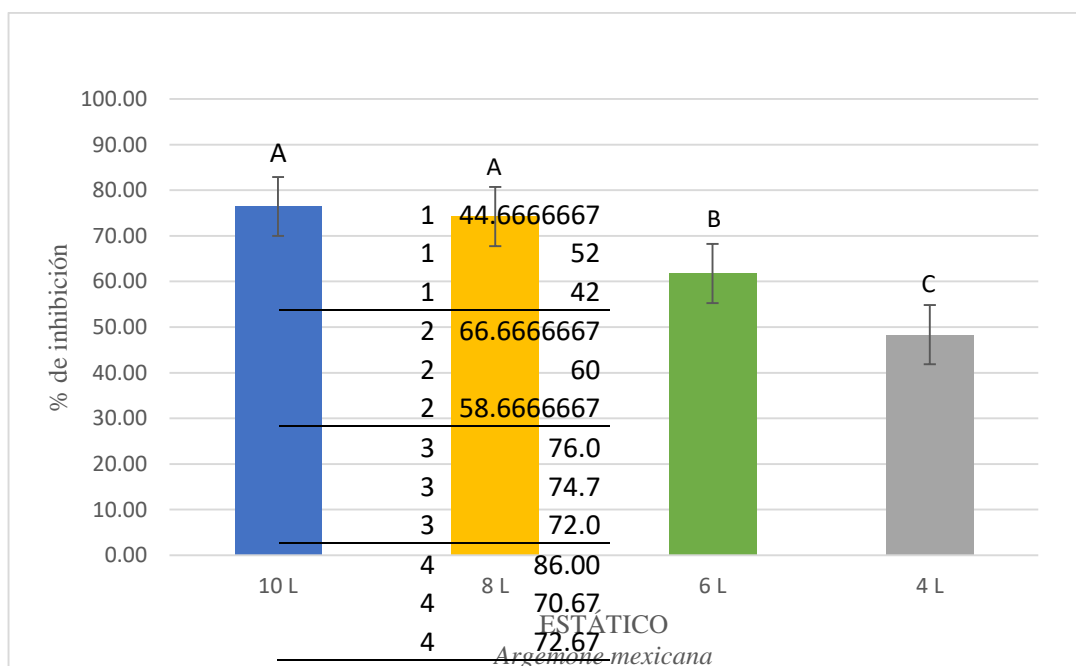


Fig. 2 Porcentaje de inhibición del extracto etanólico de *A. mexicana* (Estático) sobre *L. theobromae*.

Además, Gómez, (2023) realizó una evaluación del porcentaje de inhibición *in vitro* del extracto acuoso de *Argemone mexicana* contra *R. solani* en diferentes tratamientos (25, 125, 250, 425, 750, 1400, 2200 y 3700 ppm) obteniendo resultados satisfactorios de inhibición a partir de la concentración mínima de 25 ppm con un porcentaje arriba del 70% y de 90 % para la concentración de 3700 ppm.

4.2.2 Inhibición *in vitro* del extracto acuoso en movimiento de *H. patens* contra *L. theobromae*.

Por otra parte, en la Fig. 3 se muestra la inhibición del hongo *L. theobromae* a las diferentes dosis con una significancia de $p=0.0010$, donde los tratamientos de 10, 8 y 6 litros del extracto *H. patens* (movimiento) tuvieron un efecto fungistático del 17 al 22%. Por otro lado, la dosis más baja de 4 litros no tuvo ningún efecto sobre el patógeno. Al respecto Segura *et al.* (2015) evaluaron la actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de molle *Schinus molle*, a concentraciones de 25, 30, y 35% sobre *L. theobromae*, obteniendo resultados favorables para las tres concentraciones (76.77 %, 93.16% y 92.62%) concluyendo que a mayor concentración del extracto habrá un aumento en la inhibición del patógeno.

Sin embargo, Gómez, (2023) evaluó el efecto antifúngico del extracto acuoso de *H. patens* sobre el crecimiento de *R. solani* a diferentes concentraciones A (11428.57 y 14285.71 ppm), B (21428.57 y 35714.28 ppm), C (50000 ppm) y D (71428.57 ppm) donde se observaron resultados del 46% de inhibición contra el hongo para el tratamiento A, 73.9 y 74.7% para el tratamiento B. Por último, 90.6% para el tratamiento C y una inhibición total contra *R. solani* para el tratamiento D.

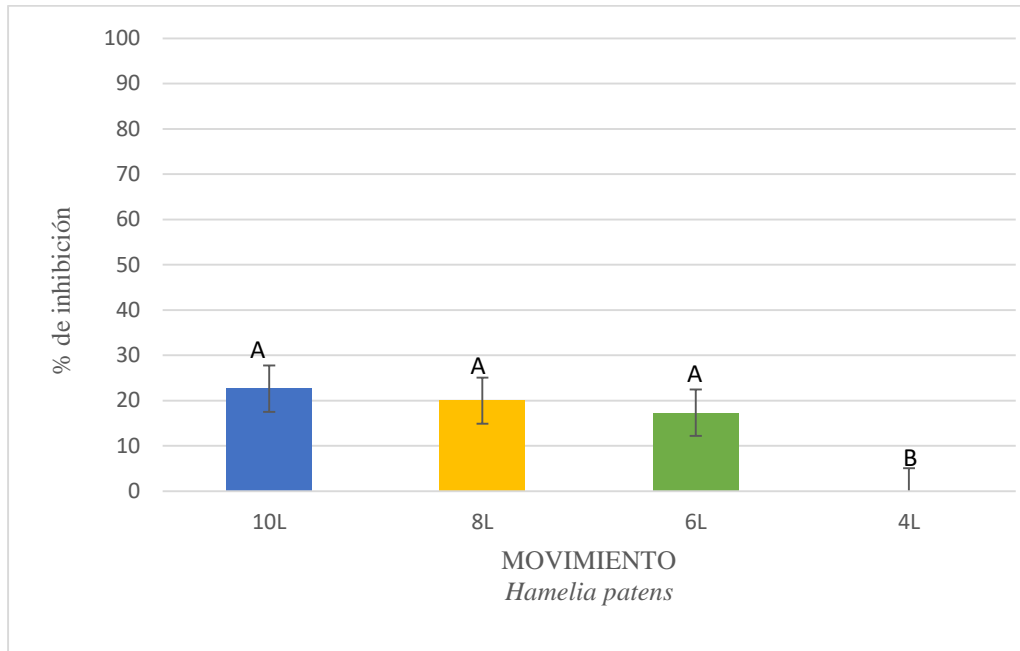


Fig. 3 Porcentaje de inhibición del extracto acuoso en movimiento de *H. patens* sobre *L. theobromae*

4.3 Crecimiento micelial *in vitro* de *L. theobromae* en presencia del extracto de *H. patens* (estático).

Los resultados que se muestran en la Fig. 4 presentan el comportamiento del crecimiento diario del patógeno *L. theobromae* donde se observa un crecimiento superior en los tratamientos en comparación al testigo. También se puede observar que los tratamientos de 4 y 6 litros tuvieron un mayor crecimiento en comparación con los demás tratamientos e incluso con el testigo. A diferencia de Abubacker *et al.* (2013) quienes realizaron un experimento de forma *in vitro* del extracto acuoso de *H. patens* a partir de hojas, flores y frutos para determinar su efecto antifúngico en *Fusarium oxysporum*, *R. solani* y en hongos patógenos que afectan a los humanos; *Aspergillus fumigatus* y *Candida albicans*. Los resultados demostraron que los extractos a partir de hojas, flores y frutos a una concentración del 10% tuvo una inhibición total en *F. oxysporum* y *R. solani* al igual que el extracto de fruta al 5%.

Por otra parte, Díaz, (2023) reporta que el extracto etanólico de *H. patens* a diferentes concentraciones (700, 1400 y 2100 ppm) no mostró un efecto inhibitorio frente a *F. oxysporum*.

También Calderón, (2023) evaluó el crecimiento micelial *in vitro* de *Alternaria alternata* en presencia de los extractos concentrados de *H. patens* a una dosis de 2 L/ha en el cual se obtuvo un comportamiento en la promoción del crecimiento micelial resultando superior al crecimiento del testigo.

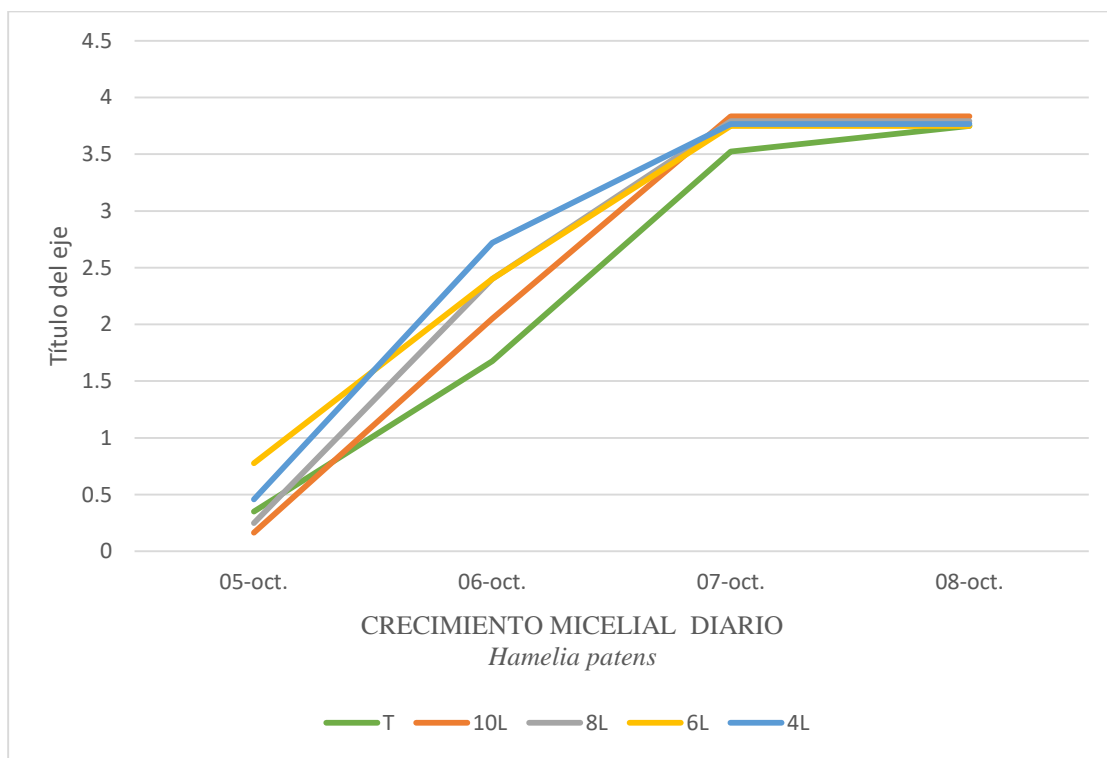


Fig. 4 Crecimiento micelial *in vitro* del patógeno *L. theobromae* en presencia del extracto de *H. patens* (Estático) a la dosis de 4,6,8 y 10 litros.

4.4 Comparación del porcentaje de antagonismo de *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* sobre de *L. theobromae*.

Trichoderma spp. es uno de los agentes de biocontrol más utilizados en fitopatógenos, ejerciendo un control de forma indirecta (competencia por nutrientes, estimulación de desarrollo vegetal, inducción de resistencia y antibiosis) o directa (micoparasitismo). En el transcurso de las interacciones del micoparasitismo se inicia la síntesis de enzimas líticas (glucanasa, quitinasa o proteasa) que degradan la pared celular del patógeno Awad-Allah *et al.* (2023). En la Fig. 6 se observa que *T. longibrachiatum* obtuvo un mayor crecimiento micelial con un efecto antagónico por arriba del 60% sin embargo, *T. harzianum* con un crecimiento menor fue la que obtuvo un mayor porcentaje de conidios. Al respecto Quoc *et al.* (2023) evaluaron diferentes aislados de *Trichoderma* spp. contra *F. oxysporum* donde se reportó un efecto antagónico del 61.3-65.5% tras 72 horas de inoculación. Por otra parte, Velasco, (2023) determinó el porcentaje de inhibición en cultivos duales con cepas de *Trichoderma* spp. contra de *Botrytis cinerea* obteniendo un porcentaje de inhibición del 60.25 % para *T. harzianum* mientras que *T. longibrachiatum* solo alcanzó el 35% de inhibición.

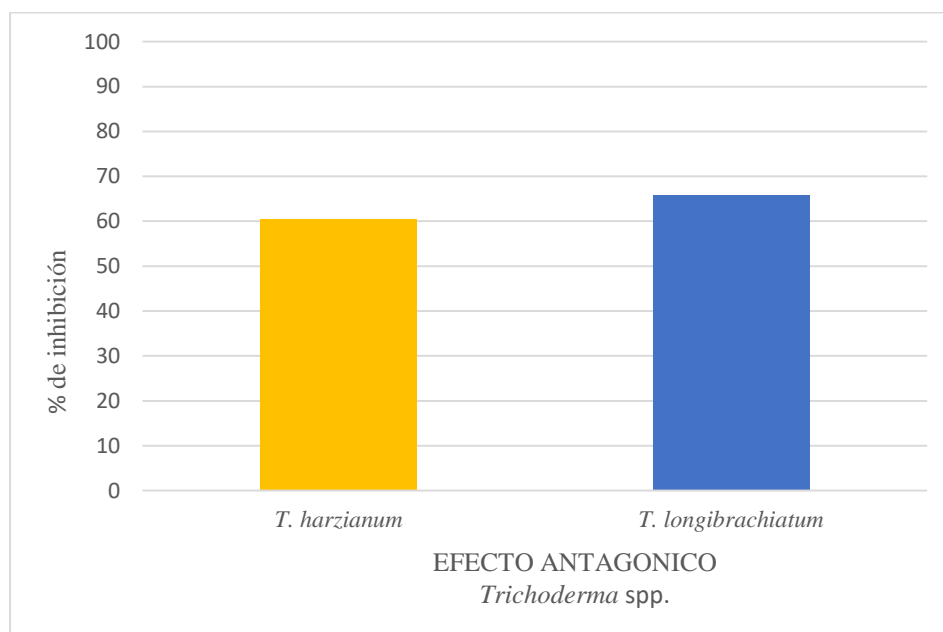


Fig. 5 Comparación del porcentaje de inhibición de los antagonistas *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* sobre de *L. theobromae*.

4.5 Determinación del grado de antagonismo de *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* contra *L. theobromae* utilizando la escala de clases de Bell *et al.* (1982).

De acuerdo a la evaluación *in vitro* como se muestra en la Fig. 6 *T. longibrachiatum* se ubica en el Grado 3 (Antagonista y patógeno colonizan la mitad de la superficie del medio de cultivo y ninguno de los dos domina sobre otro) y como segunda evaluación *in vitro* en la Fig. 7 *T. harzianum* se encuentra en el Grado 2 (El antagonista crece las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo). Calvo *et al.* (2012) evaluaron de forma *in vitro* la capacidad antagonista de seis cepas de *Trichoderma* spp. contra *B. cinerea* donde determinaron dos variables; competencia por sustrato y el efecto antibiótico. La competencia por sustrato se evaluó mediante la escala de Bell donde dos cepas alcanzaron el Grado 1 (El antagonista crece completamente sobre el patógeno y cubre totalmente la superficie del medio de cultivo) y el resto en el Grado 2 (El antagonista crece las dos terceras partes de la superficie del medio de cultivo), por otra parte, todos los aislamientos tuvieron un efecto inhibitorio mayor al 80% sobre *B. cinerea*.

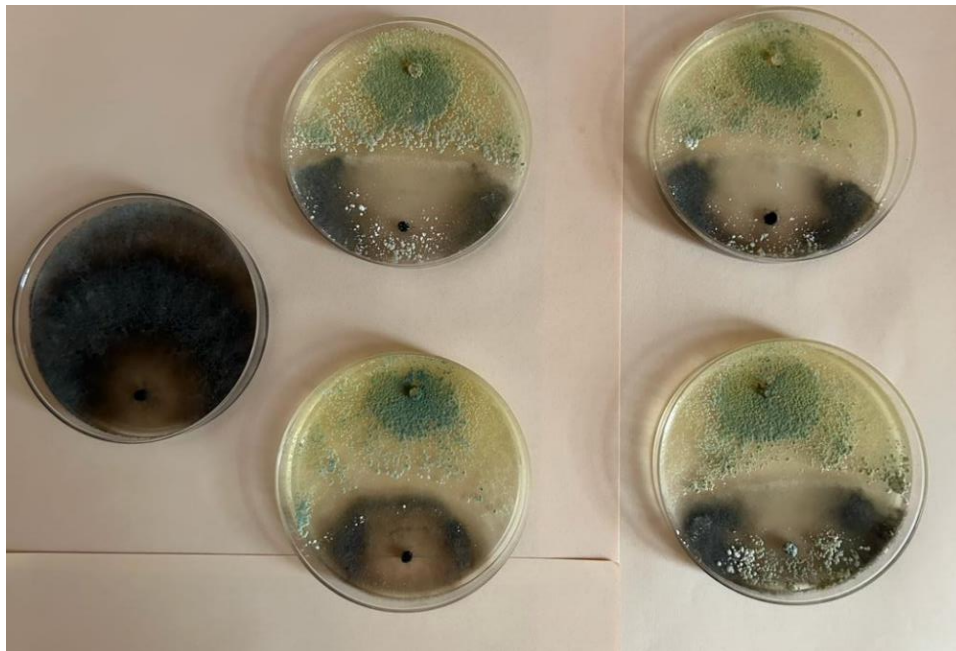


Fig. 6 Determinación del grado de antagonismo de *T. longibrachiatum* contra *L. theobromae*

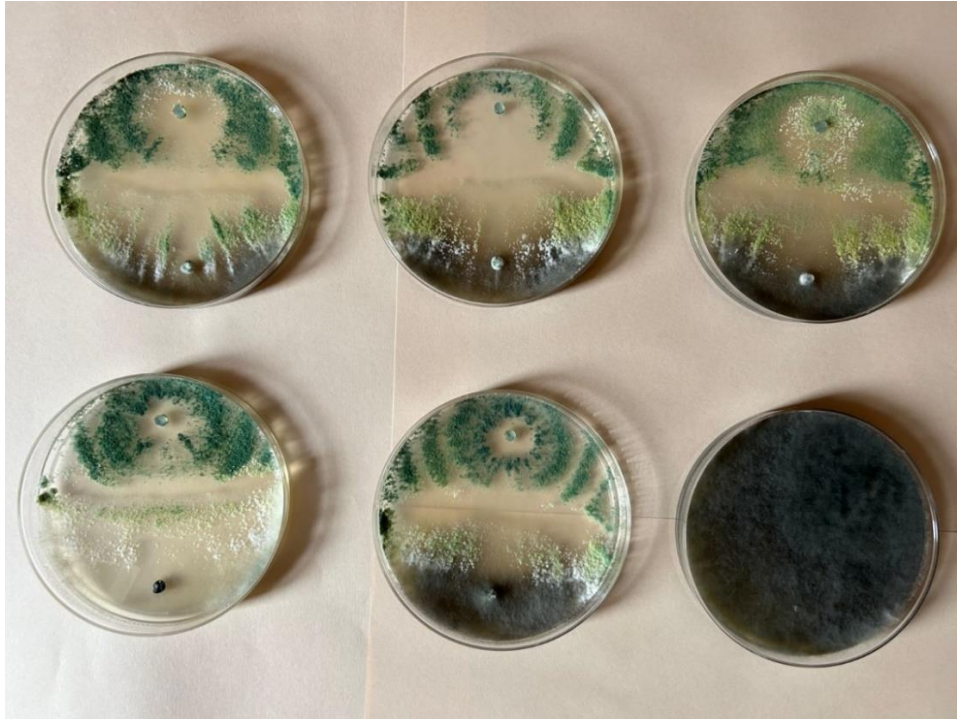


Fig. 7 Determinación del grado de antagonismo de *T. harzianum* contra *L. theobromae*.

5. CONCLUSIONES

En condiciones *in vitro* los extractos etanólicos de *A. mexicana* (Estático) y los acuosos de *H. patens* (Movimiento) fueron eficientes a dosis altas como fungistáticos sobre *L. theobromae*.

El extracto etanólico de *H. patens* (Estático) no tuvo un efecto fungistático, al contrario, actuó como un inductor de crecimiento.

Por último, *T. harzianum* produjo un mayor porcentaje de conidios, del cual se obtuvo resultados antagónicos favorables contra *L. theobromae*.

6. LITERATURA CITADA

- Abubacker, MN, Sathya, C., & Prabakaran, R. (2013). Potenciales antifúngicos in vitro de extractos acuosos de hojas, flores y frutos de *Hamelia patens* Jacq. (Rubiaceae). Biosci. Biotecnología. Res. Asia, 10, 699-704.
- Ahmad, A., Pandurangan, A., Singh, N., & Ananad, P. (2012). A mini review on chemistry and biology of *Hamelia patens* (Rubiaceae). Pharmacology Journals, 4 (29), 1-4.
- Ávalos, A., & Pérez-Urria, E. (2009). Metabolitos secundarios de plantas, 2 (3), 122 p.
- Avalos, A., Morales, L.M & Rojas, X. (2019). Potencial antifúngico de extractos vegetales sobre el crecimiento in vitro de *Colletotrichum gloeosporioides* Penz. Agricultura Tropical, 5(2), 39-45.
- Awad-Allah, E., Mohamed, I., Awad-Allah., & Ibrahim, H. (2023). *Trichoderma* species: an overview of current status and potential applications for sustainable agriculture. Indian Journal of Agriculture Research, 57 (3), 273-282 p.
- Bojórquez, J. V. (2017). Actividad fungicida in vitro de extractos orgánicos contra patógenos del tomate (*Solanum lycopersicum*). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo, 31 p.
- Bricio, I. (2021). Enfermedades que afectan al cultivo de mango (*Mangifera indica* L.) y su control preventivo, en Ecuador. Tesis de Licenciatura. Universidad Técnica de Babahoyo, 4 p.
- Brotman, Y., Kapuganti, J. G., & Viterbo, A. (2010). Trichoderma. Current Biology, 20(9), 390-391.
- Bruce, R., Arce, B., Granda, C., Alva, J., & San Martín Zapata, C. E. (2019). Manejo integrado del cultivo de mango kent. Ministerio de Agricultura y Riego. Instituto Nacional de Innovación Agraria, 63 p.

- Calderón, J. L. (2023). Bioprotección de *Solanum lycopersicum* L. contra *Alternaria alternata* (Fr). Keissl. asociado a tizón temprano en invernadero. Tesis de Licenciatura. Universidad Agraria Antonio Narro, 31 p.
- Calvo, JA., Rivera, G., Orozco, E., Orozco, R. (2012). Aislamiento y evaluación in vitro de antagonistas de *Botrytis cinerea* en mora. *Agronomía Mesoamericana*, 23 (2) 225-231 p.
- Castillo, J. (2020). Polinización, aborto de óvulo y embrión como posibles causas de la producción de frutos sin semilla en mango (*Mangifera indica* L.) 'Ataulfo'. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo, 18-20 p.
- Celis, A., Mendoza, C., & Pachón, E. (2009). Review: plant extracts used as biocontrol in management of plagues, diseases and weeds. *Temas Agrarios*, 14 (1), 5-16 p.
- Chiriboga, H., Gómez, G., & Garcés, K. (2015). Protocolos para formulación y aplicación del bio-insumo: *Trichoderma* spp. para el control biológico de enfermedades. Instituto Interamericano de Cooperación para la Agricultura, 8p.
- Chukunda, F. A., & Onyeizu, U. R. (2019). Influence of culture media, temperature and light/darkness on the mycelial growth of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.). *Journal of Agricultural Sciences*, 9(1), 114 p.
- Díaz, A. A. (2023). Extractos de *Argemone mexicana* y *Hamelia patens* para el control de *Fusarium oxysporum* Schltdl agente causal de la marchitez vascular del tomate *Solanum lycopersicum* L. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, 31 p.
- Fontanills, Y. R., Ávila, A. L. V., Campos, C. C., Trujillo, M. M., del Castillo, M. S., & Hernández, Y. P. (2018). Composición fitoquímica y actividad antibacteriana de extractos de hoja de *Hamelia patens* Jacq. *Biotecnología Vegetal*, 18(1), 37-45 p.
- FPS. (2011). IV Jornada de transferencia de tecnología en el cultivo de mango. *Memorias de Capacitación*, 7-9 p.

- Gómez, F. (2023). Extractos botánicos para el control de la costra negra de la papa *Rhizoctonia solani* en papa *Solanum tuberosum* L. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, 32-43 p.
- Gómez, H. R., Soberanis, W. R., Tenorio, M.C., & Torres, E. (2013). Manual de producción y uso de hongos antagonistas. Servicio Nacional de Sanidad Agraria SENASA, 6-8 P.
- Guzmán, P., Porras, M.D, Olmedo, V., & Herrera, A. (2019). Trichoderma species: versatile plant symbionts. *Phytopathology*, 109 (1), 6-16 p.
- Hernández, H. F., Gracia, J. F., Fuentes, S. E. V., Rodríguez, A. P., Domínguez, A. A., & Monteón-Ojeda, A. (2021). Report of *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon and Maubl. in citrus trees in Tamaulipas. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas*, 12(39), 500-508 p.
- Hernández, I., Prieto, J., Madariaga, A., Campos, R.G, Jiménez, R., & Hernández, A.D. (2020). Biological activity in vitro of the aqueous extract of *Argemone mexicana* L. in a phytopathogenic fungus: *Sclerotinia sclerotiorum*. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*, 6 (12), 14 p.
- Hernández, S. I., Juárez, M. A., Campos, M. R. G., Aguirre, A. G., & Hernández, F. A. D. (2022). *Argemone mexicana* contiene metabolitos secundarios que controlan hongos fitopatógenos. *Boletín de Ciencias Agropecuarias del ICAP*. Publicación semestral, Vol. 8, No. 15, 6-10 p.
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). *Trichoderma* mechanisms of action against phytopathogen fungi. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14-21 p.
- ITIS (Sistema Integrado de Información Taxonómica). https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=18915#null Consultado en 20 del octubre de 2023.
- Jozivan, F., Dinix, E., Xavier, L., Martins, A., & Costa, T. (2008). Extractos vegetales en el control de plagas. *Revista Verde de Agroecología e Desenvolvimento Sustentável*, 3(3), 1-5 p.

- Kaushik, C., & Singh, M. V. (2020). An updated phytopharmacological review on *Hamelia patens* Jacq. *Int. J. Pharmacology Journals*, 7, 52-61 p.
- Lekhya, C., & Bhaskara, KV. (2012). Ethanobotanical and current ethanopharmacological aspects of *Argemone mexicana* Linn: an overview. *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 3(1) 2143-2148 p.
- Martínez, A. L., (2016). Obtención y caracterización de extracto etanólico de *Hamelia patens* Jacq. para aplicación tópica. Tesis de Maestría. Universidad de San Carlos de Guatemala. Facultad de Ciencias Químicas y Farmacia. 55 p.
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas. *Revista de Protección Vegetal*, 28 (1), 1-11 p.
- Martínez, D. (2019). Implementación de un manejo integrado de plagas y enfermedades, bajo las normas de bpa, en un cultivo de mango variedad keitt (*Mangifera indica* L), ubicado en el municipio de Tibacuy, Cundinamarca. Trabajo de Pasantía, 19-20 p.
- Martínez, J., Fajardo, A., Esquivel, J., González, D., Prieto, A., & Rincón, Daniela. (2020). Manejo integrado del cultivo de mango *Mangifera indica* L. *Revista Ciencias Agropecuarias*, 6 (1), 51-78 p.
- Mendoza, A. (2018). Aplicación de fungicidas en el control de oídium (*Oidium mangiferae* Berthet) en mango cultivar haden en el valle de ICA. Tesis para optar el grado de Magister en Agronomía. Universidad Nacional “San Luis Gonzaga” de ICA, 37-39 p.
- Mesa-Vanegas, A. M., Marín, A., & Calle-Osorno, J. 2019. Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actualidades Biológicas*, 41(111), 32-44 p.
- Moreira, A., Cedeño, Á., Canchignia, F., & Garcés, F. (2021). *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maul [(sin.) *Botryodiplodia theobromae* Pat] en el cultivo de cacao: síntomas, ciclo biológico y estrategias de manejo. *Scientia Agropecuaria*, 12(4), 653-58 p.

- Munira, M. S., Azmi, A. R., Yong, S. Y. C., & Nur Ain Izzati, M. Z. (2017). Characterization of *Lasiodiplodia theobromae* and *L. pseudotheobromae* causing fruit rot on pre-harvest mango in Malaysia. *Plant Pathol Quar*, 7(2), 202-213.
- NCBI. National Center for Biotechnology Information. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov>. Consultado el 07 de noviembre de 2023.
- Noor, G., Ahmad, M. A., Ahsan, F., Mahmood, T., Arif, M., & Khushtar, M. (2020). A phytochemical and ethnopharmacological recapitulation on *Hamelia patens*. *Drug Research*, 70(05), 188-198p.
- Olivo, G., Francho, G., Botelho, P., Luna, C., & Avallone, L. (2018). Development of *Trichoderma* sp. formulations in encapsulated granules (CG) and evaluation of conidia shelf-life. *Biological Control*, 21-29 p.
- Pani, S., Kumar, A., & Sharma, A. (2021). *Trichoderma harzianum*: an overview. *Bulletin of Environment, Pharmacology and Life Science*, 10(6), 32-39 p.
- Picos, P. (2017). Caracterización fenotípica, genotípica y secretómica de *Lasiodiplodia* spp. patogénicas en frutos de papaya en México. Tesis para obtener el grado de Doctor en Ciencias. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A. C, 35- 50 p.
- Quoc, K., Thuy, CT., Do Thi, X., Thanh, L., Ngoc Huu, T., Thanh Xuan, LN., Sakagami, JI., & Le Vinh, T. (2023). Evaluation of the antagonistic potential of *Trichoderma* spp. against *Fusarium oxysporum*, F.28.1A. *Journal of Plant Protection Research*, 63 (1) 13–26 p.
- Robledo, J., Aguirre, C. A., & Castaño, J. (2019). Guía ilustrada de enfermedades en poscosecha de frutas y verduras y sus agentes causantes en Colombia. Academia Colombiana de Ciencias Exactas, Físicas y Naturales, 128 p.
- SADER. (2021). El mango, producto estrella en México. [gob.mx. https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-mango-producto-estrella-en-mexico](https://www.gob.mx/agricultura/articulos/el-mango-producto-estrella-en-mexico) Consultado el 15 de octubre del 2023.
- Salazar, E.; R. Hernández, A; Tapia, A. & L. Gómez-Alpízar. (2012). Identificación molecular del hongo *Colletotrichum* spp., aislado de banano (*Musa* spp) de altura en

- la zona de Turrialba y determinación de su sensibilidad a fungicidas 64 poscosecha. *Agronomía Costarricense*, 36 (1): 53-68 p.
- Santos, R. (2019). Enfermedades fungosas en frutos de mango (*Mangifera indica* L.) En post – cosecha en Piura, 2017. Tesis de licenciatura, Universidad Nacional de Piura, 6-12 p.
- Sedeño, JC. (2021). Formación de un consorcio bacteriano para el manejo orgánico de *Lasiodiplodia pseudotheobromae*, agente causal de la pudrición en frutos de mango. Tesis de Maestría. Universidad Veracruzana, 19-21 p.
- Segura, S., Rodríguez, M., & Chico, J. (2015). Actividad antifúngica del extracto etanólico de las hojas de *Schinus molle* sobre el crecimiento de *Lasiodiplodia theobromae* en condiciones de laboratorio. *Revista Científica de la Facultad de Ciencias Biológicas. Universidad Nacional de Trujillo*, 35 (2), 47-52 p.
- SENAMHI. (2021). Mango, ficha técnica agroclimática. https://repositorio.senamhi.gob.pe/bitstream/handle/20.500.12542/1418/Mango-ficha-t%C3%A9cnica-agroclim%C3%A1tica_2021.pdf?sequence=1&isAllowed=y Consultado el 11 de octubre del 2023.
- Shahbaz, M., Iqbal, Z., Saleem, A., & Anjum, M. A. (2009). Association of *Lasiodiplodia theobromae* with different decline disorders in mango (*Mangifera indica* L.). *Pak. J. Bot*, 41(1), 359-360.
- SIAP. (2022). Panorama agroalimentario <https://online.pubhtml5.com/aheiy/gryd/#p=1> Consultado el 15 de octubre del 2023
- Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiw, M., Ramakrishnan, M., Landi, M., Araniti, F., & Sharma, A. (2020). *Trichoderma*: the “secrets” of a multitalented biocontrol agent. *Plants*, 9 (762), 4 p.
- Torres, N. (2023). Diversidad genética de *Lasiodiplodia theobromae* (Pat.) Griffon & Maubl. en pitahaya y sensibilidad a fungicidas de diferentes modos de acción. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior Politécnica de Chimborazo, 6-8 p.

- Valdés, E. (2014). Caracteres principales, ventajas y beneficios agrícolas que aporta el uso de *Trichoderma* como control biológico. *Revista Agroecosistemas*, 2(1), 256-258 p.
- Vargas, R. (2014). Antagonismo de *Trichoderma koningiopsis* y *Trichoderma harzianum* sobre *Fusarium oxysporum* f.sp. cepae y *Phoma terrestris* in vitro. Tesis de Licenciatura. Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, 27-32 p.
- Velasco, A. L. (2023). Alternativas biológicas para el control in vitro del moho gris *Botrytis cinerea* de la fresa fragaria x ananassa Dutch. Tesis de Licenciatura. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, 29 p.
- Vinchira, D. M., & Moreno, N. (2019). Control biológico: camino a la agricultura moderna. *Revista Colombiana de Biotecnología*, 21(1), 2-5 p.
- Yan, J. Y., Xie, Y., Zhang, W., Wang, Y., Liu, J. K., Hyde, K. D., & Bai, X. J. (2013). Species of Botryosphaeriaceae involved in grapevine dieback in China. *Fungal Diversity*, 61(1), 221-236.
- Zavala, J. (2021). Análisis de las variables y de los indicadores de competitividad del mango mexicano en el mercado mundial. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo, 15 p.

ANEXOS

Cuadro 2. Varianza del extracto etanólico de *A. mexicana* contra el crecimiento micelial de *L. theobromae*.

Fuente	DF	suma de cuadrados	cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	1736.498029	578.832676	19.49	0.0005
Tratamiento	3	1736.498029	578.832676	19.49	0.0005
Error	8	237.596304	29.699538		
Total correcto	11	1974.094333			

R-cuadrado: 0.879643

Coefficiente de Variación: 8.426980

Cuadro 3. Varianza del extracto acuoso en movimiento de *H. patens* contra el crecimiento micelial de *L. theobromae*.

Fuente	DF	suma de cuadrados	cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	3	864.540003	288.180001	15.98	0.0010
Tratamiento	3	864.54000	314.1888898	17.14	0.0010
Error	8	144.293341	18.036668		
Total correcto	11	1008.833343			

R-cuadrado: 0.856970

Coefficiente de Variación: 27.90025

Cuadro 4. Varianza del antagonismo *Trichoderma* spp. contra el crecimiento micelial de *L. theobromae*.

Fuente	DF	suma de cuadrados	cuadrado de la media	F-Valor	Pr > F
Modelo	4	5856.699404	1464.174851	56.19	0.0002
Tratamiento	4	5856.699404	1464.174851	56.19	0.0002
Error	5	130.279386	26.055877		
Total correcto	9	5986.97879			

R-cuadrado: 0.978240

Coefficiente de Variación: 6.407541