



**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**

**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA  
MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL**



**Desinfestación de la semilla para el control preventivo  
de enfermedades en el cultivo de jamaica (*Hibiscus  
sabdariffa* L.) en el Estado de Guerrero, México**

**T E S I S**

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL GRADO DE**

**MAESTRO EN CIENCIAS**

Presenta:

**JOVANY FELICIANO MORALES**

Bajo la supervisión de:

**DR. CLEMENTE VILLANUEVA VERDUZCO**

Codirección de:

**DRA. EVERT VILLANUEVA SÁNCHEZ**

TEXCOCO DE MORA, EDO MÉXICO, MÉXICO, ABRIL 2022.



**APROBADA**

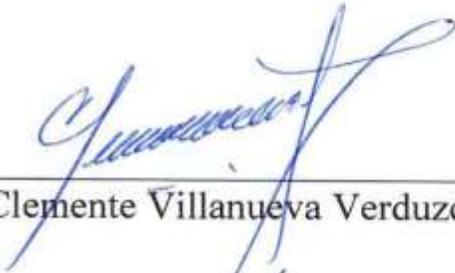


La presente tesis titulada: “**Desinfestación de la semilla para el control preventivo de enfermedades en el cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en el Estado de Guerrero, México**”, realizada por el **C. Jovany Feliciano Morales**, bajo la dirección del **Dr. Clemente Villanueva Verduzco** y codirección de **Dra. Evert Villanueva Sánchez**, ha sido revisada y aprobada por los miembros del jurado, como requisito parcial para obtener el Título de:

### **Maestro en Ciencias en Protección Vegetal**

#### Comité Particular

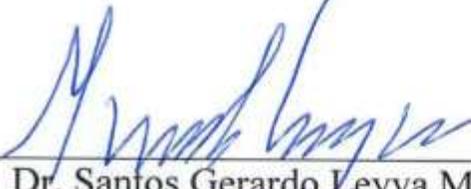
Director:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Clemente Villanueva Verduzco

Codirector:

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Evert Villanueva Sánchez

Asesor:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Santos Gerardo Leyva Mir

Asesor:

  
\_\_\_\_\_  
Dra. Teolincacihuatl Romero Rosales

Asesor:

  
\_\_\_\_\_  
Dr. Mateo Vargas Hernández

Texcoco de Mora, Edo México, México, abril 2022.

<b>CONTENIDO</b>	<b>Pág.</b>
<b>ÍNDICE DE CUADROS</b>	iv
<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	vii
<b>DEDICATORIA</b>	viii
<b>AGRADECIMIENTOS</b>	ix
<b>DATOS BIOGRÁFICOS</b>	x
<b>RESUMEN</b>	xi
<b>ABSTRACT</b>	xii
<b>I. INTRODUCCIÓN</b>	1
1.1 Origen y distribución	1
1.2 Descripción botánica	1
1.3 Producción de jamaica	1
1.4 Usos y derivados de la jamaica	2
1.5 Problemas fitosanitarios	3
1.6 Manejo de enfermedades en el cultivo de jamaica	4
1.7 Planteamiento del problema	7
1.8 Objetivos	8
1.9 Hipótesis	8
<b>2. MATERIALES Y MÉTODOS</b>	9
2.1 Ubicación del experimento	9
2.2 Colecta y Caracterización de Muestras	10
2.2.1 Caracterización de los Municipios en estudio	10
2.2.2 Colecta de semilla de jamaica	11
2.3 Prueba <i>in vitro</i> de sanidad de semilla	12
2.3.1 Identificación morfológica de los patógenos aislados	13
2.4 Desinfestación de semilla	14

2.4.1 Bionsayos <i>in vitro</i> de control preventivo de patógenos en semilla	14
2.4.2 Preparación del inóculo	15
2.4.3 Establecimiento de bioensayos de control preventivo en semillas	16
2.5 Diseño Experimental	19
2.6 Variables de estudio	19
2.7 Análisis estadístico	19
2.7.1 Análisis de Varianza y Pruebas de Comparaciones múltiples	20
<b>3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN</b>	21
3.1 Prueba <i>in vitro</i> de sanidad de semilla	21
3.2 Identificación morfológica	23
3.3 Resultados de tratamientos de desinfestación de semilla	27
3.3.1 Resultados individuales por Municipio y Patógeno	27
3.3.2 Resultados Combinados en promedio de Municipio y Patógenos	46
3.3.2.1 Resultados para el Municipio Ayutla de los Libres	46
3.3.2.2 Resultados para el Municipio Tecoaapa	50
3.3.3 Resultados Combinados en Promedio entre Municipios	53
3.3.4 Análisis de correlaciones	57
<b>4. CONCLUSIÓN</b>	59
<b>6. LITERATURA CITADA</b>	60

## ÍNDICE DE CUADROS

	Pág.
1. Definición de tratamientos en estudio.	15
2. Comparaciones de múltiples de medias de Municipios para el porcentaje de incidencia de hongos en semilla de jamaica según la prueba <i>in vitro</i> de sanidad de semilla, Ayutla y Tecoaapa Guerrero, México.	21
3. Cuadrados medios de los Anova individuales de <i>Coniella diplodiella</i> para tres variables de control en semilla de jamaica de Ayutla y Tecoaapa Gro.	27
4. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de <i>Coniella diplodiella</i> en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, México, 2021.	30
5. Cuadrados medios de los Anova individuales de <i>Corynespora cassicola</i> para tres variables de control en semilla de jamaica de Ayutla y Tecoaapa Gro.	31
6. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de <i>Corynespora cassicola</i> en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, México, 2021.	33
7. Cuadrados medios de los Anova individuales de <i>Curvularia lunata</i> para tres variables de control en semilla de jamaica de Ayutla y Tecoaapa Gro.	34
8. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de <i>Curvularia lunata</i> en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, México, 2021.	36
9. Cuadrados medios de los Anova individuales de <i>Rhizoctonia solani</i> para tres variables de control en semilla de jamaica de Ayutla y Tecoaapa Gro.	37
10. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de <i>Rhizoctonia solani</i> en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, México.	39
11. Cuadrados medios de los Anova individuales de <i>Fusarium languescens</i> para tres variables de control en semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa Gro.	40

12. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de <i>Fusarium languescens</i> en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla, Guerrero, México, 2021.	42
13. Cuadrados medios de los Anova individuales de <i>Phytophthora parasítica</i> para tres variables de control en semilla de jamaica de Ayutla y Tecoaanapa Gro.	43
14. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de <i>Phytophthora parasítica</i> en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla, Guerrero, México, 2021.	45
15. Cuadrados medios del Anova en promedio de seis patógenos para tres variables de control en semilla de jamaica de Ayutla Gro.	46
16. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de patógenos en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla, Guerrero, México, 2021.	48
17. Comparaciones múltiples de medias para seis patógenos en semilla de jamaica para Ayutla, Gro.	49
18. Cuadrados medios del Anova en promedio de seis patógenos para tres variables de control en semilla de jamaica de Tecoaanapa Gro.	50
19. Comparaciones múltiples de medias para ocho tratamientos de control de patógenos en semilla de jamaica para Tecoaanapa Gro.	51
20. Comparaciones múltiples de medias para seis patógenos en semilla de jamaica para Tecoaanapa, Gro.	53
21. Cuadrados medios del Anova en promedio de ocho tratamientos, seis patógenos y dos Municipios para el control en semilla de jamaica.	54
22. Comparaciones múltiples de medias entre Municipios para los porcentajes de germinación, incidencia y mortalidad.	55
23. Comparaciones múltiples de medias entre patógenos, en promedio de Municipios y Tratamientos.	56

24. Comparaciones múltiples de medias en promedio de ocho tratamientos de control de patógenos en semilla de jamaica para Ayutla, Gro. 57
25. Análisis de correlaciones entre variables de control de patógenos en semilla de jamaica para Ayutla y Tecoaapa y la interacción. 58

<b>ÍNDICE DE FIGURAS</b>	<b>Pág.</b>
1. Ubicación del experimento.	9
2. Municipios productores de jamaica Ayutla y Tecoaapa, Estado de Guerrero, México.	10
3. Semilla de jamaica colectada en el Estado de Guerrero.	11
4. Porcentajes de incidencia de hongos patógenos encontrados en semilla por Municipio en Ayutla y Tecoaapa Guerrero, 2021.	22
5. <i>Coniella diplodiella</i>	24
6. <i>Fusarium languescens</i>	24
7. <i>Curvularia lunata</i>	25
8. <i>Rhizoctonia solani</i>	26
9. <i>Aspergillus niger</i>	26

## **DEDICATORIA**

**A mi familia, mi mama Alicia que me apoyo en todo el trayecto de la carrera, mis hermanos Edgar, Leonel y Jasmín.**

**A mi esposa Norma, que me apoyo en todo, así como toda su familia, mis suegros Víctor y Blanca, cuñadas Anahí, Yesenia, Adriana y el cuñado Luis.**

## **AGRADECIMIENTOS**

Agradezco al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) y a la Universidad Autónoma Chapingo, Maestría en Ciencias en Protección Vegetal por proporcionar las herramientas y así poder formarme profesionalmente y concluir con el posgrado.

Este trabajo tiene el propósito de contribuir a los PRONASES, principalmente a la Soberanía Alimentaria y a la Conservación del Medio Ambiente.

Al Dr. Clemente Villanueva Verduzco, por su apoyo, asesoramiento en el desarrollo del proyecto de investigación.

A la Dra. Evert Villanueva Sánchez por su aporte de conocimientos durante la estancia en el LANISAF.

Al Dr. Santos Gerardo Leyva Mir, por su apoyo y aporte para realizar el trabajo de investigación.

Al Dr. Mateo Vargas Hernández, por la asesoría y apoyo en el trabajo de investigación.

A la Dra. Teolincacihuatl Romero Rosales, por su apoyo y aporte para el desarrollo del trabajo de investigación.

Al MC. Antonio Segura Miranda, por su ayuda y asesoría durante la estancia en el posgrado.

## **DATOS BIOGRÁFICOS**



### **Datos personales**

**Nombre:** Jovany Feliciano Morales

**Fecha de nacimiento:** 31-enero-1996

**Lugar de nacimiento:** Pochahuizco Mpio. de Zitlala, Guerrero.

**CURP:** FEMJ960131HGRLRV02

**Profesión:** Ingeniero Agrónomo

**Cedula profesional:** 11664345

### **Experiencia laboral:**

Capacitación a productores en el Proyecto de Desarrollo Territorial (PRODETER) INIFAP-Iguala de la independencia, Guerrero. La primera etapa fue entrevistas a los productores de para conocer las necesidades y las herramientas con que cuentan, y así poder atender y dar soluciones a lo requerido. La diversidad de trabajos que desempeñan cada región de PRODETER son variados por lo que se empleó capacitación acorde a lo arrojado por la encuesta.

## **Desinfestación de la semilla para el control preventivo de enfermedades en el cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en el Estado de Guerrero, México**

### **RESUMEN**

Las enfermedades del cultivo de jamaica pueden provocar pérdidas de hasta un 50 al 100 %. Con el objetivo de evaluar la sanidad de la semilla del cultivo de jamaica proveniente de zonas productoras del Estado de Guerrero y generar aportaciones útiles al manejo de enfermedades, mediante tratamientos preventivos a la semilla, se determinó la carga patogénica, la identificación morfológica y el efecto de tratamientos de desinfestación de semillas en seis patógenos encontrados (*Coniella diplodiella*; *Corynespora cassicola*; *Curvularia lunata*; *Rhizoctonia solani*; *Fusarium languescens* y *Phytophthora parasítica*). Los experimentos *in vitro* incluyeron, patógenos (6), zona productora (2) y tratamientos (8) y fueron conducidos en un diseño experimental completamente al azar. Se registraron datos de germinación, mortalidad e incidencia. La semilla se dejó en el tratamiento durante 1 minuto. Los resultados demostraron que los tratamientos con *T. harzianum* (a una densidad de  $1 \times 10^7$  conidios  $\text{mL}^{-1}$ ), Tecto 60 a dosis de  $0.75 \text{ g L}^{-1}$  de agua y Agua electrolizada acida y neutra inhibieron el crecimiento de los patógenos en las semillas. Se concluye que el tratamiento preventivo en semilla puede ser eficaz para el control preventivo de enfermedades del cultivo de jamaica.

**Palabras clave:** jamaica, desinfestación de semillas, tratamiento preventivo.

## Seed disinfestation for the preventive control of diseases in the cultivation of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in the State of Guerrero, Mexico

### Abstract

Diseases of the roselle crop can cause losses of 50 to 100%. With the objective of evaluating the health of roselle seeds from areas in Guerrero and generating useful contributions to the management of diseases, through preventive treatments to the seed, the pathogenic load, the morphological identification, and the treatment effect of the seed was determined. Disinfestation of seeds in six pathogens found was done (*Coniella diplodiella*; *Corynespora cassicola*; *Curvularia lunata*; *Rhizoctonia solani*; *Fusarium languescens* and *Phytophthora parasitica*). The *in vitro* experiments included pathogens (6), producing zone (2), and treatments (8), and were conducted in a completely randomized experimental design. Germination, mortality, and incidence data were recorded. The seed was left in the treatments for 1 minute. Results showed that the treatments with *T. harzianum* (at a density of  $1 \times 10^7$  conidia mL<sup>-1</sup>); Tecto 60 at a dose of 0.75 g L<sup>-1</sup> of water and acid and neutral electrolyzed water inhibited the growth of pathogens in the seeds. It is concluded that the preventive treatment in the seed can be effective for the preventive control of diseases of the roselle crop.

**Keywords:** diseases, roselle, seed disinfestation, treatment.

# 1. INTRODUCCIÓN

## 1.1 Origen y distribución

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) pertenece a la familia de las malváceas y es originaria de África. El cultivo llegó a México en la época de la Colonia, traída de la isla de jamaica por los españoles, de ahí su nombre en nuestro país, se estiman alrededor de 300 especies de *Hibiscus* en zonas tropicales y subtropicales (Morton, 1987; Gómez-Leyva *et al.*, 2008; Sayago-Ayerdi y Goñi, 2010).

## 1.2 Descripción botánica

*H. sabdariffa* presenta un crecimiento arbustivo; tallo liso o casi liso, de forma cilíndrica, por lo general de color rojo, presenta una raíz pivotante. La altura que puede alcanzar oscila entre 0.5 y los 3 metros. Hojas simples, lobuladas, con un margen aserrado, pedúnculo aserrado. Las flores son solitarias y axilares, los cálices son con mayor frecuencia de color rojo. El fruto es una capsula el cual contiene semillas en forma de riñón. La polinización es autógama (Autofecundación) (Duke, 1983; Morton, 1987).

## 1.3 Producción de jamaica

A nivel mundial se produjeron 97,975 toneladas de jamaica, China ocupó el primer lugar con alrededor de 27.7 % de la producción y México ocupó el séptimo lugar en la producción con el 5.41 % (FAO, 2014). En México aproximadamente se cosechan 18,400, con un rendimiento de 0.43 ton ha<sup>-1</sup> de jamaica deshidratada (INIFAP, 2015; SIAP, 2020). El principal estado productor de jamaica es el Estado de Guerrero, aportando más del 70 % de la producción nacional, con una superficie sembrada de 14,294 ha y un rendimiento de 0.41 ton ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2020).

Más del 60 % de la producción de jamaica en el Estado de Guerrero se concentra entre los municipios de Ayutla de los Libres y Tecoanapa (SIAP, 2020). El consumo de jamaica en México es de alrededor de 14,000 toneladas al año, de las cuales aproximadamente el 50% es importada para satisfacer esta demanda (Da costa *et al.*, 2014).

#### **1.4 Usos y derivados de la jamaica**

En México de los cálices de jamaica se elaboran como derivados mermeladas, licor, jalea, ate, extracto y bebidas refrescantes, entre otros, los cuales son una fuente importante de calcio, magnesio y oligoelementos (Ashaye y Adeleke, 2009; Jung, 2013; Reyes-Luengas *et al.*, 2015).

Del cultivo de jamaica se pueden aprovechar las hojas y los tallos tiernos para su consumo en forma de ensalada (Sukwattanasinit *et al.*, 2016). Salazar-González (2012) encontraron que la actividad antimicrobiana de microcápsulas del extracto acetónico de la jamaica puede ser una alternativa como un conservador de origen natural. Las semillas tostadas son utilizadas como sustituto de un café afrodisiaco. La planta de jamaica almacena una gran cantidad de compuestos fenólicos, ácidos orgánicos, proantocianidinas, flavonoles y antocianinas (Galicía-Flores *et al.*, 2008; Ashaye, 2013). A los extractos derivados de los cálices de jamaica también se les atribuyen diversas propiedades medicinales como efecto diurético, coleréticos, reducción de la presión arterial y estimulación de la peristalsis intestinal (Tsai *et al.*, 2002; Odigie *et al.*, 2003; Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014; Cid-Ortega & Guerrero-Beltrán, 2015). Por la actividad antioxidante de sus antocianinas, también ayuda a la prevención de algunos tipos de cáncer (Chen *et al.*, 2003).

## 1.5 Problemas fitosanitarios de la jamaica

Las enfermedades presentes en el cultivo de jamaica pueden llegar a provocar pérdidas desde un 50 % y en ocasiones hasta del 100 % (Hernández y Romero, 1990; Hassan *et al.*, 2014), por lo que son un factor limitante en la producción de jamaica (Nwaukwu y Ataga, 2012). Se pueden transmitir por diferentes mecanismos, como residuos de cosecha en las que algunas sobreviven en forma de estructuras de resistencia las que hacen que puedan llegar a vivir por un largo tiempo, y que en condiciones favorables germinan causando enfermedades (Ortega-Acosta *et al.*, 2015).

En un estudio previo, utilizando la metodología de técnicas de aislamiento en medio de cultivo PDA e hipoclorito de sodio (NaClO) para desinfectar (Crous *et al.*, 2009). Se reportaron hongos encontrados en semilla colectada en Ayutla de los Libres Gro., una de las zonas productoras del Estado. Los hongos encontrados fueron *C. diplodiella*, *F. languescens*, *C. lunata*, *R. solani* (Feliciano *et al.*, 2019).

Los daños por enfermedades en jamaica con el tiempo se han incrementado en las zonas productoras, influyendo en las pérdidas de este cultivo, por lo que se requiere un manejo fitosanitario eficiente y rentable. El control de enfermedades en jamaica se ha realizado mediante aplicaciones directas al cultivo, pero no se han realizado tratamientos preventivos a semilla (Pérez-Torees, 2009).

Se ha identificado que los patógenos asociados a enfermedades como manchado de cáliz en jamaica son: *Corynespora cassicola*, *Coniella diplodiella*, *Aspergillus niger*, *Curvularia lunata*, *Lasiodiplodia* spp., y *Phoma* spp., y la enfermedad de la “pata prieta” causada por *Phytophthora parasítica*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Macrophomina phaseolina* (Correa-Sánchez *et al.*, 2011; Ortega-Acosta *et al.*, 2015; Trujillo-Tapia y Ramírez-Fuentes, 2015).

De las enfermedades de raíz, se describe a *Phytophthora* spp., que provoca la pudrición radicular en la planta, y con ello el marchitamiento generalizado y muerte de plantas; y a *Fusarium* spp., que está asociado con la pudrición seca de la raíz y el cuello de plantas (Hernández y Romero, 1990; Ortega-Acosta *et al.*; 2015).

En el follaje, los hongos *Cercospora* spp. y *Curvularia* spp., afectan al cultivo de la jamaica. Ortega-Acosta (2019) reportan que estos hongos originan manchas foliares de forma circular con borde color rojizo a purpura y el centro color crema o café.

La enfermedad de la pata prieta de la jamaica en el Estado de Guerrero se ha estudiado por Hernández y Romero (1990), Ortega-Acosta *et al.*, (2015a), quienes en su trabajo de investigación encontraron a *Phytophthora parasítica*, *Fusarium oxysporum*, *Phomopsis longicolla*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium solani*, *Fusarium incarnatum* y *Colletotrichum truncatum* en plantas sintomáticas dentro de las 12 localidades muestreadas en el Estado Guerrero.

En México, *Corynespora cassicola* es reportado como el organismo asociado al manchado de hojas y cálices de la jamaica (Ruíz-Ramírez *et al.*, 2015; Ortega-Acosta *et al.*, 2015).

## **1.6 Manejo de enfermedades en el cultivo de jamaica**

Los tratamientos directos en plantas aplicados a intervalos de 7 a 14 días, en los que evaluaron mancozeb, clorotalonil y benomilo, alternados con oxiclورو de cobre, fueron los que presentaron menor severidad de la enfermedad y mayor peso fresco y seco de cálices cosechados (Ortega-Acosta *et al.*, 2019).

Hassan *et al.*, (2014a) evaluaron en condiciones de campo el efecto de microelementos, antioxidantes y antagonistas; encontraron que los microelementos (Cobre y Magnesio), antioxidantes (ácido salicílico, ácido ascórbico y EDTA), un fungicida (Dithane M45) y agentes de control biológico (*Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis*) redujeron significativamente el desarrollo de la enfermedad; siendo, el cobre, el ácido salicílico y *T. harzianum* los que mostraron los mejores resultados contra la enfermedad de la marchitez en jamaica; por otra parte, los microelementos, antioxidantes y agentes de control biológico podrían usarse como estrategias alternativas a los fungicidas como control a la pudrición de la raíz y las enfermedades del marchitamiento en jamaica.

El propósito del biocontrol de enfermedades está en el incremento artificial de agentes benéficos contra patógenos causantes de enfermedades en las plantas, el cual favorece la producción (Hassan *et al.*, 2014b; Veena y Reddy, 2014). *Trichoderma* como agente de biocontrol de enfermedades ha sido de gran importancia en la agricultura por lo que es una alternativa al control químico de enfermedades (Bhale *et al.*, 2013; Ghazanfar *et al.*, 2018). El género *Bacillus* incluye bacterias que han demostrado actividad antagónica y natural contra diversos agentes fitopatógenos en diversos cultivos (Wang *et al.*, 2014; Li *et al.*, 2015), su antagonismo natural es contra una amplia gama de fitopatógenos, en más de 20 cultivos agrícolas (Galindo *et al.*, 2015).

Los tratamientos a semilla son utilizados como método de prevención a enfermedades (Varela & Arana, 2011). En un estudio realizado por Vera *et al.*, (2014) con tratamiento a semilla en el cultivo de trigo evaluó la eficiencia del fluquinconazole contra la enfermedad de mal del pie de trigo, el que mostró eficiencia al reducir la severidad y los síntomas de la enfermedad. Montejo *et al.*, (2014) mencionan que con la utilización de rizobacterias *Bacillus subtilis* y

*Pseudomonas putida* como control biológico contra la mancha bacteriana de las cucurbitáceas, como método de control preventivo en semillas demostraron que existe una reducción en la incidencia de las enfermedades. En otro estudio realizado por Ortellado y Fuente (2013) encontraron que aislados nativos de *Trichoderma* spp., y fungicidas se curan las semillas; se reveló que un fungicida (Carboxin + Thiram) y un agente de control biológico (*Trichoderma harzianum*) es más compatible como tratamiento a semilla contra enfermedades de origen edáfico como *Macrophomina phaseolina* y *Phytophthora* sp.

El Agua Electrolizada (AE) fue desarrollada inicialmente en Japón y utilizada en el área de la salud humana, recientemente está siendo incorporada a la protección vegetal en la agricultura. El AE se produce por la electrolisis de una solución salina mediante la aplicación de un alto voltaje. Ramos *et al.*, 2018 aplicó la SES (Solución Electrolizada de Superoxidación) en huevo de plato como agente descontaminante para reducir la carga bacteriana; y se ha demostrado que también mejora las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los alimentos (Salgado-Escobar *et al.*, 2020). En el cultivo de col china se aplicó agua electrolizada a la semilla y se encontró que tiene efecto sobre la germinación: en pH ácido (3.30) acelera la germinación y en pH alcalino lo contrario, el pH neutro no tiene efectos claros sobre la germinación (Lixin *et al.*, 2010).

En estudios en semillas de jitomate tratadas con agua electrolizada con el objetivo de inactivar esporas de *Fusarium oxysporum* y *Aspergillus* spp., demostraron que es efectiva para reducir la carga patogénica en la semilla, así como también para el control de hongos en postcosecha (Gómez-Jaimes *et al.*, 2017).

## 1.7 Planteamiento del problema

Los patógenos *Corynespora cassicola*, *Coniella diplodiella*, *Curvularia lunata*, *Lasiodiplodia* spp. y *Phytophthora parasítica*, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani* y *Macrophomina phaseolina* causantes de las enfermedades “manchado de cáliz y pata prieta” de jamaica, respectivamente, provocan pérdidas de 50 hasta el 100 %, por lo que los productores de jamaica se ven afectados severamente. Las tecnologías de manejo de tales enfermedades de jamaica generadas han resultado favorables en el control, pero no han sido lo suficientemente efectivas para resolver de fondo el problema, ya que prevalece un constante ataque de tales patógenos. Por otra parte, no se han realizado trabajos de investigación sobre el tratamiento a semilla de siembra como control preventivo de las enfermedades presentes en las zonas productoras de jamaica en México.

El propósito de la presente investigación es evaluar la sanidad de la semilla de jamaica proveniente de zonas productoras del Estado de Guerrero y contribuir a un eficaz y eficiente control preventivo de enfermedades mediante tratamientos preventivos en la semilla de siembra cosechada y utilizada por los propios productores, mediante tratamientos biológicos, químicos y naturales (H<sub>2</sub>O), bajo la consideración de que uno de los mecanismos de diseminación de los patógenos es vía semilla.

## **1.8 Objetivos**

### **Objetivo General**

Determinar la sanidad de la semilla del cultivo de jamaica proveniente de zonas productoras del Estado de Guerrero y generar aportaciones útiles al manejo de enfermedades, mediante tratamientos preventivos a la semilla de siembra.

### **Objetivos particulares**

1. Determinar la sanidad de la semilla de jamaica proveniente diferentes zonas productoras del Estado de Guerrero.
2. Evaluar tratamientos de presiembra a la semilla como medida de control preventiva a enfermedades asociadas al cultivo de jamaica en el Estado de Guerrero.

## **1.9 Hipótesis**

Es posible un manejo preventivo de enfermedades en el cultivo de jamaica mediante tratamientos de desinfestación de semilla en presiembra.

## 2. MATERIALES Y MÉTODOS

### 2.1 Ubicación del experimento

El experimento se realizó en el laboratorio de micología del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, ubicado en Chapingo Estado de México, Carretera Federal México-Texcoco Km 38.5, CP 56230 Texcoco, México, Coordenadas geográficas 19°29'23" N y 98°53'37" O (Figura 1).

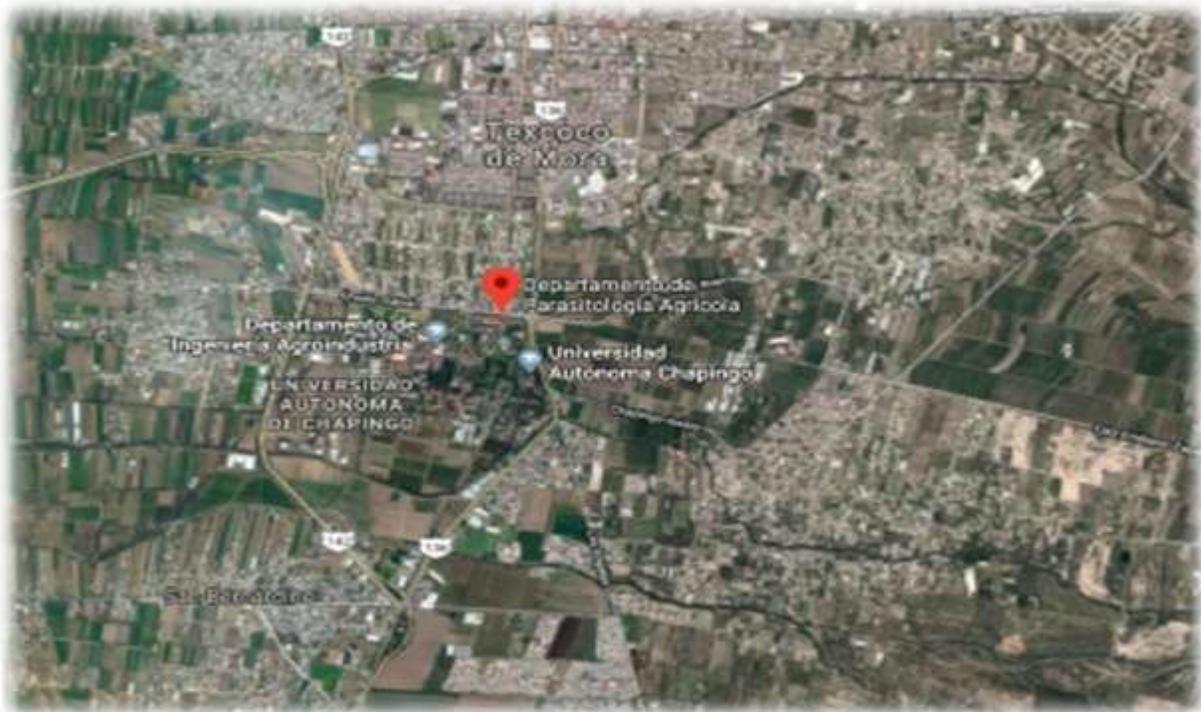


Figura 1. Ubicación geográfica del experimento. Tomada de Google Maps de internet 2021.

## 2.2 COLECTA Y CARACTERIZACIÓN DE MUESTRAS

### 2.2.1 Caracterización de los Municipios en estudio

Los Municipios de Ayutla y Tecoaapa aportan un 70 % del total de producción de jamaica en el Estado de Guerrero (SIAP, 2020).

El Municipio de Tecoaapa se encuentra a 427 msnm con LN 16° 59' 56.44" y LO 99°15'17.4"; y Ayutla de los Libres se encuentra a 376 msnm y LN 16°57'57" y LO 99°05'38" (Figura 2).

Las variedades locales de jamaica que se cultivan en estas zonas son: Tecoaapa, Jersey y Criolla, entre otras.

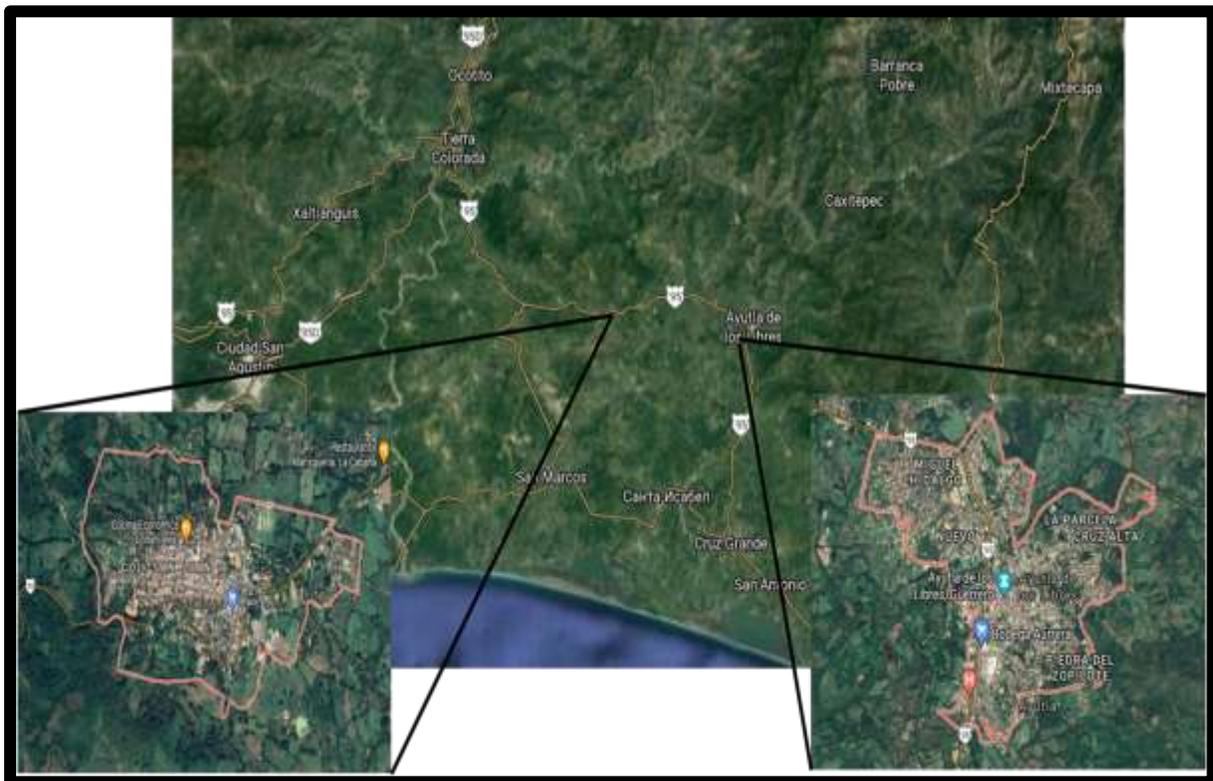


Figura 2. Municipios productores de jamaica Ayutla y Tecoaapa, Estado de Guerrero.

### 2.2.2 Colecta de semilla de jamaica

En el Estado de Guerrero se identificó a los Municipios de Ayutla de los Libres y Tecoaapa con el mayor índice de la enfermedad de la “pata prieta” y “manchado de cáliz” en jamaica (Ortega-Acosta *et al.*, 2015a; Ortega-Acosta *et al.*, 2015b).

La semilla fue colectada tomando en cuenta el historial de los predios con antecedentes en la sintomatología de la enfermedad. La semilla fue colectada de parcelas de cuatro productores que estaban siendo afectados, y corresponde a la variedad criolla local. Se obtuvieron 2 kg de semilla de la colecta, 500 gramos por productor. Las semillas se secaron a cielo abierto a una temperatura ambiente de 32 °C durante una semana (Figura 3).



Figura 3. Semilla de jamaica colectada en el Estado de Guerrero.

### 2.3 PRUEBA *IN VITRO* DE SANIDAD DE SEMILLA

La prueba *in vitro* de sanidad en semillas es un protocolo con métodos específicos que revela la presencia o ausencia de microorganismos que favorecen el desarrollo de enfermedades en semillas (Fernández-Sosa, 2015). Es una metodología factible que nos permite conocer el estado sanitario de un lote de semillas proporcionando información fundamental para el diagnóstico de patógenos que afectan la germinación o el almacenamiento (Poulsen, 2000). Los tratamientos pregerminativos permiten acelerar y homogenizar la germinación (Hernández *et al.*, 2017).

La evaluación de la carga patogénica de la semilla de jamaica recolectada de las zonas con mayor producción e incidencia de enfermedad en Guerrero, con la prueba de sanidad, se realizó mediante la siembra en *in vitro* en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) de 100 semillas de jamaica tomadas al azar. Se desinfectaron previamente en hipoclorito de sodio (NaClO) al 3 % por 5 minutos, luego se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se secaron con papel absorbente esterilizado (Crous *et al.*, 2009). De las semillas desinfectadas fueron sembradas 10 por caja de Petri con medio de cultivo PDA.

Las cajas sembradas se incubaron durante tres días a una temperatura de 23° C, con un fotoperiodo de 24 h de luz: 0 h de oscuridad. Los hongos presentes fueron transferidos a cajas nuevas estériles con medio Papa Dextrosa Agar (PDA), medio de cultivo ampliamente usado para la reproducción y desarrollo de un gran número de especies de hongos (López, 1984). Posteriormente, los hongos fueron transferidos a medio de cultivo Agua-Agar para ser purificados por la técnica de “Punta de hifa” descrita por Valencia-Botín (2002), y finalmente transferidos a medio PDA, para el incremento de los hongos purificados mediante incubación

por tres días con las mismas condiciones anteriores (Crous *et al.*, 2009). El experimento completo se replicó por segunda ocasión para corroborar los resultados.

### **2.3.1 Identificación morfológica de los patógenos aislados**

La identificación morfológica de cada patógeno aislado se realizó en preparaciones con lactofenol, cubre y portaobjetos. Las preparaciones de los aislados presentes en semilla previamente purificados, se llevaron al Microscopio Binocular Biológico CX-31, OLYMPUS® compuesto para su identificación. Todos los aislamientos se identificaron con la ayuda de las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998) y Leslie y Summerell (2006) de acuerdo con la morfología, el color de la colonia y sus estructuras de crecimiento.

## 2.4 DESINFESTACIÓN DE SEMILLA

### 2.4.1 Bionsayos *in vitro* de control preventivo de patógenos en semilla

Un conjunto de experimentos *in vitro* fueron realizados, uno para cada una de las seis especies patógenos siguientes: *Coniella diplodiella*, *Corynespora cassicola*, *Curvularia lunata*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium languescens* y *Phytophthora parasítica* que se sabe dañan la semilla del cultivo de jamaica en los dos Municipios productores, Ayutla de los Libres y Tecoaapa, del Estado de Guerrero, México.

En cada uno de los seis bioensayos (uno por especie de hongo fitopatógeno), se aplicaron los siguientes ocho tratamientos definidos, como se especifica en el Cuadro 1:

Dos antagonistas, el hongo *Trichoderma harzianum* (Tricho-Bio MR) y la bacteria *Bacillus subtilis* (Serenade MR);

Control químico, dos concentraciones: 0.75 y 1.0 g L<sup>-1</sup> agua de Tecto 60;

Dos formas de agua electrolizada: ácida y neutra, aplicada al 100% de concentración; Todos los tratamientos se dejaron actuar por 2 minutos.

Dos testigos: uno absoluto con solo agua destilada estéril (sin inóculo), y testigo con inóculo (con la correspondiente especie de hongo fitopatógeno, según el respectivo ensayo) pero sin tratamiento control.

Dando un total de ocho tratamientos (Cuadro1).

Cuadro 1. Definición de tratamientos en estudio.

<b>Tratamiento</b>	<b>Ingrediente activo</b>	<b>Nombre comercial</b>	<b>Dosis (g o ml/L agua)</b>
T1	Testigo absoluto (sin inóculo)	Sin Tratamiento	30 ml de agua destilada esterilizada
T2	Testigo con inóculo (según respectivo patógeno)	Sin Tratamiento	30 ml de agua destilada esterilizada
T3	<i>Trichoderma harzianum</i>	Tricho-Bio	300 mL 100 kg <sup>-1</sup> de semilla
T4	<i>Bacillus subtilis</i>	Serenade	500 ml 100 L <sup>-1</sup> de agua
T5	Tiabendazol	Tecto60	0.75 g L <sup>-1</sup> de agua
T6	Tiabendazol	Tecto60	1.0 g L <sup>-1</sup> de agua
T7	Agua Electrolizada Acida	4 Health	30 mL al 100%
T8	Agua Electrolizada Neutra	4 Health	30 mL al 100%

#### 2.4.2 Preparación del inóculo

Las cepas donadas por el Laboratorio de Micología Agrícola del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo fueron aisladas, caracterizadas morfológica y molecularmente por el Dr. Santo Ángel Ortega Acosta, se encuentran registradas en el GenBank de National Center for

Biotechnology Information con clave; *Phytophthora parasítica* (GU111682) y *Corynespora cassicola* (KJ127529).

Las cepas donadas por la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Autónoma de Guerrero, fueron aisladas de semillas, caracterizadas morfológica y molecularmente por el Alumno Jovany Feliciano Morales y las secuenciaciones se encuentran registradas en el GenBank de National Center for Biotechnology Information con clave; *Coniella diplodiella* (MK532913), *Curvularia lunata* (MK532912), *Rhizoctonia solani* (MK532911), y *Fusarium languescens* (MK600382).

Las cuales se encontraban preservadas en aceite mineral y se reactivaron pasándolas a medio de cultivo PDA y posteriormente a medio cultivo Agua-Agar para la purificación por la técnica “punta de hifa” Valencia-Botín (2002), para posteriormente pasar a medio PDA para incrementar en cantidad el inóculo.

#### **2.4.3 Establecimiento de bioensayos de control preventivo en semillas**

Se utilizaron semillas de jamaica provenientes de los municipios de Tecoaapa y Ayutla de los libres del Estado de Guerrero. Las semillas se desinfestaron con hipoclorito de sodio (NaClO) al 3 % durante 5 minutos, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se secaron con papel absorbente esterilizado y se dejaron secar por una hora (Crous *et al.*, 2009; Illa *et al.*, 2019).

Se realizó un bioensayo por especie de hongo patógeno. Se utilizó el diseño experimental completamente al azar, con ocho tratamientos y cuatro repeticiones. La unidad experimental usada fue de 50 semillas dispuestas en una caja de Petri.

En cada bioensayo por especie de hongo patógeno (*C. diplodiella*, *C. cassicola*, *C. lunata*, *F. languescens*, *R. solani* y *P. parasítica*) se utilizó un total de 1600 semillas de jamaica, las cuales se inocularon con una suspensión de  $1 \times 10^7$  conidios  $\text{mL}^{-1}$  de cada uno de los hongos.

***Trichoderma harzianum***. En la aplicación del tratamiento se utilizó como fuente al producto comercial Trico-Bio (MR), para la inoculación de *T. harzianum* a una dosis de  $1 \times 10^7$  esporas viables como Unidades Formadoras de Colonias (UFC), se aplicaron 3 mL del inóculo preparado en  $1 \text{ kg}^{-1}$  de semilla, el equivalente a la dosis comercial de 300 mL en  $100 \text{ kg}^{-1}$  de semilla (Reyes-Tena *et al.*, 2019).

En estudios con semillas de chile se inoculó a *T. harzianum* y se comparó con el control químico (Mancozeb80®) encontrando que *T. harzianum* igualó al control químico (Miguel-Ferrer *et al.*, 2021; Reyes *et al.*, 2022). En tanto, en tratamientos a semilla de maíz con cepas de *T. harzianum*, *T. longibrachiatum*, *T. asperellum*, Castro-del Ángel *et al.*, 2021 encontraron que *T. harzianum* presentó el mejor control de *Fusarium verticilloides*; así también, se reportó actividad bioestimulante de *T. harzianum* en plántulas de maíz (Santana-Baños *et al.*, 2021).

***Bacillus subtilis***. Se utilizó como fuente al producto comercial Serenade MR para la inoculación de *B. subtilis* que contiene la cepa QST713. Es un producto de origen natural para el control de enfermedades producidas por hongos; se utilizó a una dosis de 5 ml en 1 L de agua. Lo equivalente a la dosis comercial de 500 ml en 100 L de agua. Se ha encontrado que productos a base de *B. subtilis* presentan una mayor inhibición micelial de patógenos, como tratamiento para el control de patógenos en semillas (Zarate-Ramos *et al.*, 2022); y que también presenta un efecto positivo en la germinación (García-Radillo, 2019; Reyes *et al.*, 2022).

**Tecto 60 (Tiabendazol).** En la aplicación de este tratamiento químico se utilizaron las dosis de 0.75 y 1 gramo del producto Tecto 60 (tiabendazol) perteneciente al grupo benzimidazol, que es un fungicida sistémico de amplio espectro utilizado para tratamientos preventivos y/o curativos.

En el tratamiento a semilla en soja, para el control de *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium* sp., se recomiendan de 50 a 200 g en 100 kg de semilla; mientras que en el cultivo de trigo para control de carbones como *Tilletia caries* y *T. foetida* se recomienda de 100 a 300 g en 100 kg de semilla (Syngenta, 2017).

**Agua Electrolizada Ácida y Neutra.** El agua electrolizada en la industria es utilizada para la desinfección de productos como hortalizas, fresa, cilantro, lechuga y brócoli, reduciendo significativamente a *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Listeria innocua* y *Erwinia carotovora* (Aguayo *et al.*, 2017). Con el uso de agua electrolizada ácida calentada a 50 °C se incrementa el efecto esterilizante sin reducir el poder de germinación (Carreres, 2012), por lo que es una alternativa para el tratamiento a semillas.

En nuestro caso, el agua electrolizada ácida y neutra al 100 % de concentración aplicada a temperatura ambiente, se utilizaron 30 ml cubriendo totalmente a la semilla durante 1 minuto para todos los patógenos (bioensayos). Se empleó en semillas de jamaica para evaluar su efectividad para inhibir el crecimiento de los patógenos presentes en la semilla.

En un estudio en el cultivo de jitomate se utilizó agua electrolizada como tratamiento a semilla, mostrando efectividad para inactivar esporas de *F. oxysporum* y *Aspergillus* spp. (Vásquez-López *et al.*, 2016).

## **2.5 Diseño Experimental**

El experimento se estableció en un diseño experimental completamente al azar (DCA), con ocho tratamientos y cuatro repeticiones. La unidad experimental fue conformada por 50 semillas de jamaica del ciclo 2020 dispuestas en una caja de Petri. Así, en cada uno de los experimentos (experimento por hongo patógeno) se usaron 1600 semillas.

## **2.6 Variables de estudio**

Fueron registrados datos de las siguientes variables en estudio: porcentaje de germinación, porcentaje de mortalidad y porcentaje de incidencia.

El porcentaje de germinación fue obtenido con la siguiente fórmula (%G) = (número de semillas germinadas/número total de semillas sembradas) \* 100 (Al-Fadhal *et al.*, 2019; Lozano-Ramírez *et al.*, 2006); el porcentaje de mortalidad se obtuvo con la siguiente fórmula (%M) = (número de plántulas muertas/número total de plántulas) \* 100 (Al-Fadhal *et al.*, 2019); y la incidencia con (%I) = (número de plantas enfermas/número total de plantas observadas) \*100 (Madden y Campbell, 1990).

## **2.7 Análisis estadístico**

Los datos obtenidos de las tres variables (Germinación, Incidencia y Mortalidad) expresados en porcentaje fueron analizados utilizando el paquete estadístico SAS 9.4. El análisis estadístico consistió en análisis de varianza (ANOVA), pruebas de comparaciones múltiples de medias de tratamientos, de hongos fitopatógenos y de Municipios (Tukey,  $\alpha = 0.05$ ), de manera individual y en promedio (análisis combinados); y análisis de correlaciones entre variables.

### **2.7.1 Análisis de Varianza y Pruebas de Comparaciones múltiples**

En particular, los análisis de varianza (ANOVAs) y de pruebas de comparaciones múltiples de medias fueron:

**1. ANOVAs Individuales por Municipio y Patógeno.** Se realizaron los análisis individuales para cada Municipio y cada patógeno (12 análisis; 6 patógenos y 2 Municipios). En este análisis solo se probó la hipótesis sobre los tratamientos. Por lo tanto, las comparaciones múltiples de medias de tratamientos son para cada especie de hongo en cada Municipio; de donde resultaron los doce respectivos conjuntos de comparaciones múltiples de medias.

**2. ANOVAs Combinados de Patógenos para cada Municipio.** Fueron dos análisis combinados en promedio de patógenos, uno por cada Municipio; donde se probaron dos hipótesis: una para patógenos y otra para tratamientos. En este ANOVA se usó un modelo de series de experimentos como si fuese un modelo de parcelas divididas, donde los patógenos corresponden a las parcelas grandes y los tratamientos corresponden a las parcelas chicas, anidadas dentro de parcelas grandes.

**3. ANOVA Combinado de Patógenos y Municipios.** Fue un solo análisis a través de todos los datos. Se probaron tres hipótesis: sobre Municipios, sobre patógenos y sobre tratamientos. Se usó un modelo similar al de un diseño en parcelas subdivididas, donde los Municipios corresponden a las parcelas grandes, los patógenos a las parcelas medias y los tratamientos a las parcelas chicas.

### 3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

#### 3.1 PRUEBA *IN VITRO* DE SANIDAD DE SEMILLA

En semilla del cultivo de jamaica procedente de los Municipios de Ayutla de los Libres y Tecoaapa, Guerrero, México fueron encontrados las siguientes cinco especies de hongos fitopatógenos: *Coniella diplodiella*, *Curvularia lunata*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium languescens* y *Aspergillus niger*, asociados a enfermedades de la jamaica.

Los porcentajes de incidencia y sus comparaciones de medias por especie de hongo patógeno encontrado en la semilla de jamaica la zona productora de Guerrero, mediante siembra en medio de cultivo PDA, se muestran en el Cuadro 2 y Figura 4.

Cuadro 2. Comparaciones múltiples de medias de Municipios para el porcentaje de incidencia de hongos en semilla de jamaica según la prueba *in vitro* de sanidad de semilla, Ayutla y Tecoaapa Guerrero, México.

Patógeno	Ayutla	Tecoaapa	Diferencia Significativa Honesta	Significancia
<i>Coniella diplodiella</i>	0.500 a*	0.700 a	0.781	Ns
<i>Curvularia lunata</i>	1.600 a	1.200 a	1.139	Ns
<i>Rhizoctonia solani</i>	0.800 a	1.400 a	1.000	Ns
<i>Fusarium languescens</i>	4.300 a	1.700 b	0.997	*
<i>Aspergillus niger</i>	1.500 b	4.000 a	1.469	*

\*: Medias por hileras con la misma letra no son estadísticamente diferentes. \*: significancia al 5 %.

El porcentaje de incidencia (carga patogénica) de *Coniella diplodiella*, *Rhizoctonia solani* y *Curvularia lunata* en la semilla de jamaica resultó estadísticamente no diferente en Ayutla que en Tecoaapa Guerrero (Cuadro 2);

en tanto que la incidencia de *Fusarium languescens* fue significativamente mayor en la semilla procedente de Ayutla que en la semilla de Tecoanapa. Lo contrario ocurrió con *Aspergillus niger* que mostró mayor incidencia en semilla de Tecoanapa que en Ayutla (Cuadro 2).

La incidencia significativamente mayor de *Fusarium languescens* en semilla de Ayutla que en la de Tecoanapa y siendo *Fusarium* un hongo temible que ocasiona marchitamientos vasculares del cultivo en campo; mientras que lo inverso ocurre con *A. niger* (mayor incidencia en Tecoanapa que en Ayutla) y dado este es considerado como un hongo de almacen que no causa enfermedad en etapas vegetativas del cultivo, es de esperarse que los daños del complejo de hongos del cultivo de jamaica sean mayores en Ayutla que en Tecoanapa.

Los porcentajes de incidencia en semilla por especie de hongo patógeno y por cada Municipio se muestran en la Figura 4.

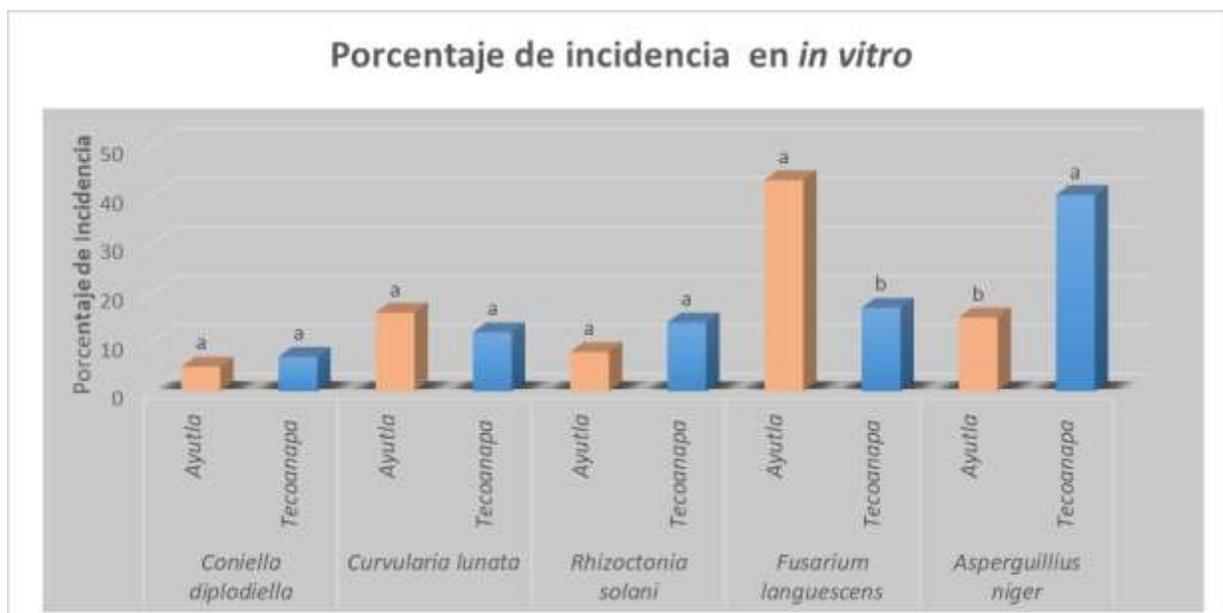


Figura 4. Porcentajes de incidencia de hongos patógenos encontrados en semilla por Municipio en Ayutla y Tecoanapa Guerrero, 2021. \*: Barras con la misma letra para cada especie, no son estadísticamente diferentes.

En estudios anteriores Ruiz-Ramirez *et al.*, (2015) encontraron hongos causantes de problemas fitosanitarios en calices deshidratados de jamaica en almacen, entre los que se encuentran *C. diplodiella*, *C. lunata*, y *A. niguier* aislados en semilla de jamaica. Correa-Sanchez *et al.*, (2011) reporto a *Coniella diplodiella* causante de la enfermedad “mancha acuosa” en el cultivo de jamaica, mismo que fue aislado de semilla.

Los hongos *F. languescens* y *R. solani* causantes de la enfermedad “pata prieta” en jamaica (Ortega-Acosta *et al.*, 2015a) que tienen tambien mecanismo de trasmision por semilla, estan asociados a enfermedades del complejo del Damping off del suelo en cultivos, fueron aislados de la semilla de jamaica colectada en el Estado de Guerrero.

### **3.2 Identificación morfológica**

Según los resultados de identificación de los patógenos presentes en la semilla de jamaica colectada en el Estado de Guerrero, realizada en medio de cultivo PDA en el Laboratorio Nacional de Investigación y Servicio Agroalimentario y Forestal (LANISAF) de Chapingo, se identificó a:

***Coniella diplodiella***. La colonia presentó micelio septado de color hialino en forma arrosada, *Coniella* spp. Se caracteriza por la producción de picnidios de forma globosa con ostiolo circular central, liso, inicialmente hialino, tornándose posteriormente café oscuro, con una masa oscura de conidios centrales, conidios hialinos cuando son inmaduros, llegando a ser marrón claro, inequilaterales, lisos, elipsoidales, rectos a ligeramente curvados, los picnidios en forma, tamaño de los conidios y las colonias observadas concuerdan con las descritas por Barnett & Hunter, (1998) (Figura 5).

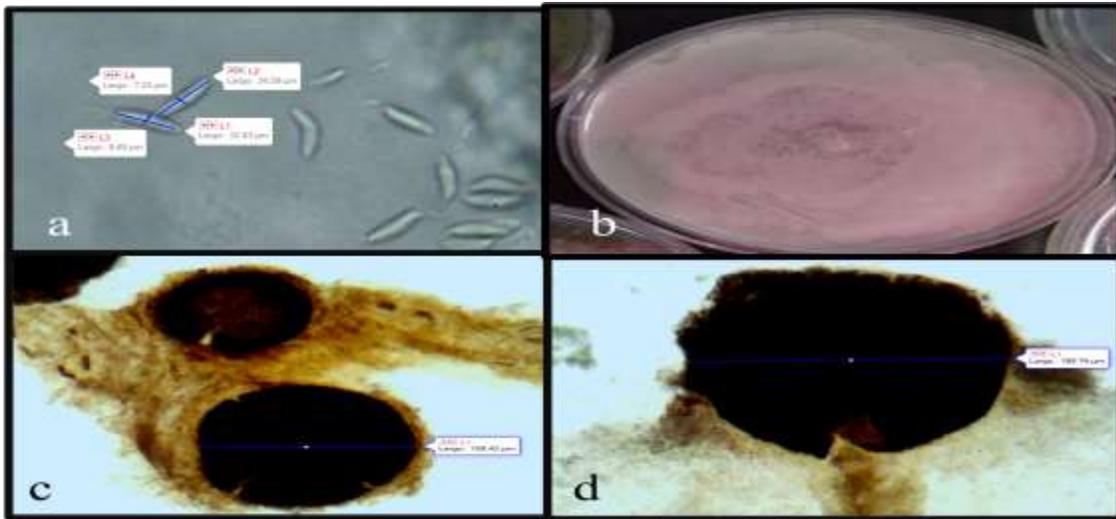


Figura 5. *Coniella diplodiella* a) medición de conidios b) crecimiento en medio de cultivo PDA, c y d) medición de picnidios.

***Fusarium languescens*.** En medio de cultivo PDA se caracteriza por presentar micelio que adquiere una coloración rosa a púrpura; produce tres tipos de esporas, macroconidios en forma de canoa, hialinos, multiseptados con 3-5 septos. Los microconidios son uni o bicelulares, hialinos de forma oval, la mayoría sin septos. Las clamidosporas de pared lisa y gruesa, la formación rápida y abundante en medio CLA, generalmente se forman solo en pares, pero también las encontramos en grupos o cadenas, puede ser terminal o intercalar en hifas aéreas, estas se forman abundantemente en las hifas (Leslie y Summerell, 2006) (Figura 6).

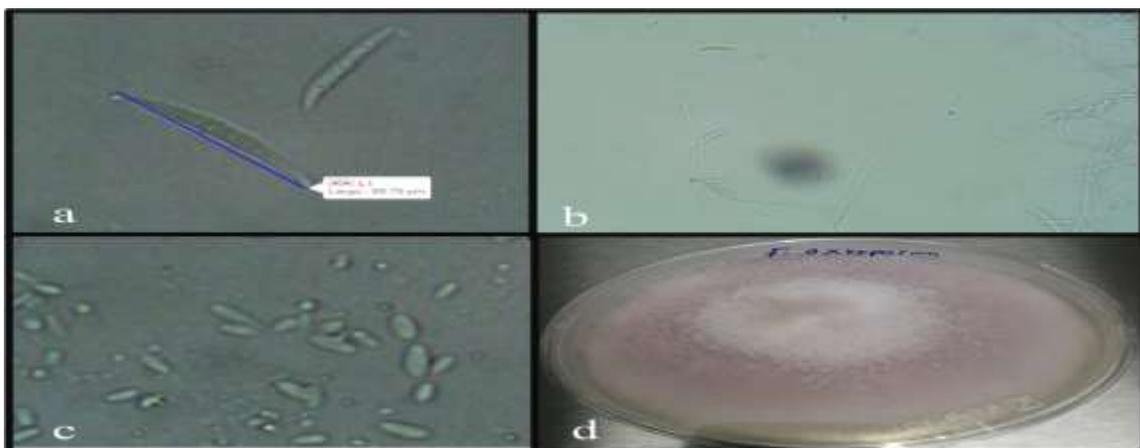


Figura 6. *Fusarium languescens*, a) Macroconidios b) Macroconidios y fiálides c) Microconidios d) crecimiento de *F. oxysporum* en medio de cultivo.

***Curvularia lunata***. Al crecer en medio de cultivo PDA se caracteriza por formar colonias algodonosas, de color blanco a gris que se tornan verde olivo y café a negro a medida que madura. *C. lunata* tiene hifas septadas dematiáceas, conidióforos rectos, cafés o marrón, multicelulares, simples o ramificados, doblados en los puntos donde se originan los conidios, con crecimiento proliferativo simpodial. Los conidios (porosporas) oscuros, de 8 x 20-30  $\mu\text{m}$ , multicelulares, elipsoidales, curvados en la célula central, con tres a cinco septos transversales, las características observadas concuerdan con lo descrito por Barnett & Hunter (1998) (Figura 7).

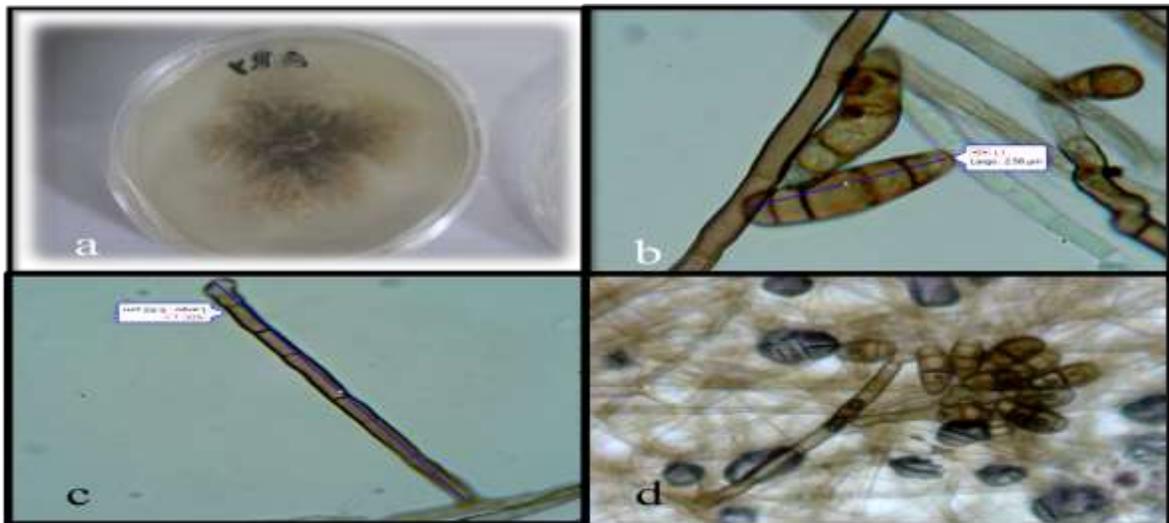


Figura 7. *Curvularia lunata*, a) Crecimiento en medio de cultivo PDA, b) conidio c) conidióforo d) conidióforo y conidios adheridos.

***Rhizoctonia solani***. Crecido en medio de cultivo se caracteriza por producir micelio de color café claro con ramificaciones en un ángulo de 90 grados. Las células del micelio generalmente son largas, con septos y usualmente parten de las hifas principales. Además, se aprecia una pequeña constricción en la base de la ramificación, produce esclerocios, una estructura de consistencia dura y de color marrón oscuro que le permite sobrevivir en el suelo o infectar tejido vegetal por años (Barnett & Hunter, 1998) (Figura 8).

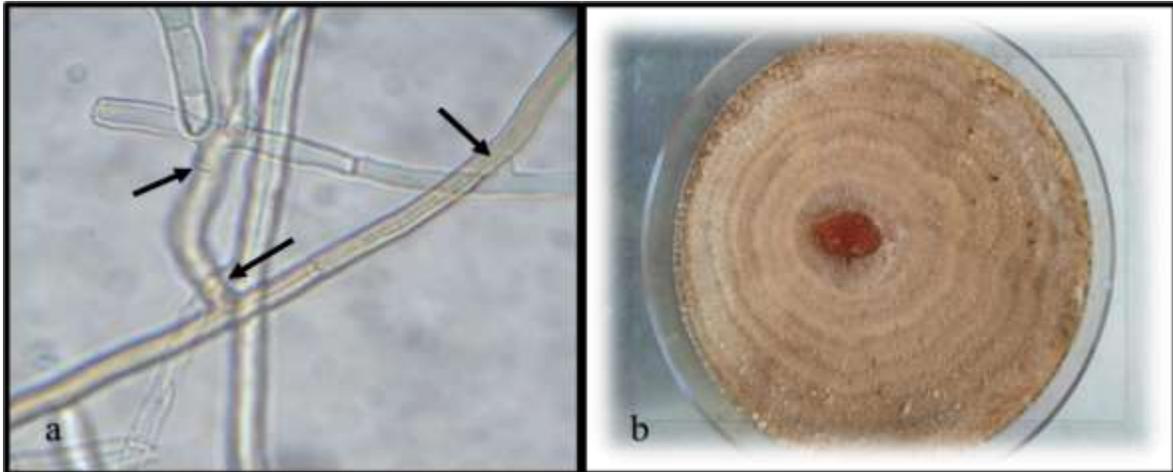


Figura 8. *Rhizoctonia solani*, a) micelio donde se observa la constricción que identifica a *R. solani*, b) crecimiento en medio de cultivo PDA.

***Aspergillus niger*.** Las colonias presentan de inicio micelio blanco algodonoso, posteriormente tornan a un color amarillo claro que con el tiempo se cubre de cabezuelas de color negro, es un hongo filamentoso hialino, saprofito. Conidióforos en posición vertical, simples, que terminan en una inflamación globosa o claviforme, portan fialides en el ápice o se irradian desde el ápice o toda la superficie. Conidios (fialosporas) de una célula, globosos, a menudo de color diverso en masa, en cadenas basípetas secas (Barnert y Hunter, 1998) (Figura 9).

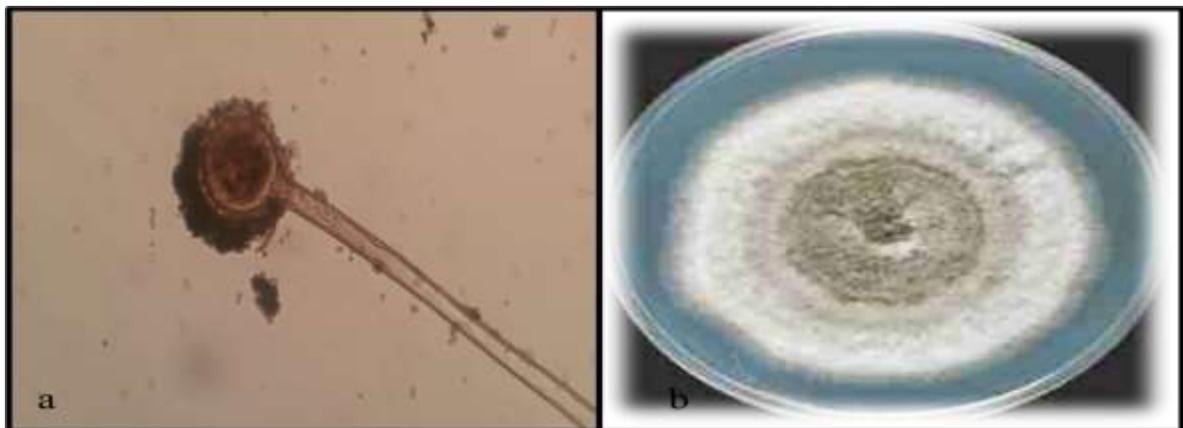


Figura 9. *Aspergillus niger*, a) Conidióforo con los conidios adheridos en forma de cabezuela, b) crecimiento en medio de cultivo PDA.

### 3.3 RESULTADOS DE TRATAMIENTOS DE DESINFESTACIÓN DE SEMILLAS

#### 3.3.1 Resultados Individuales por Municipio y Patógeno

##### A. *Coniella diplodiella*

Según el análisis de varianza hubo diferencias altamente significativas entre tratamientos para los porcentajes de germinación, incidencia y mortalidad en semilla y plántulas de jamaica provenientes del Municipio de Ayutla y de Tecoaapa Guerrero, lo cual indica un efecto diferente de los tratamientos sobre el control de *Coniella diplodiella* (Cuadro 3).

Cuadro 3. Cuadrados medios de los Anova individuales de *Coniella diplodiella* para tres variables de control en semilla de jamaica de Ayutla y Tecoaapa Gro.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Tratamientos	7	17.1998 * 31.3512 **	192.7296** 44.6183 **	12.5650 ** 40.1945 **
Repetición	3	3.7954 ns 8.0445 *	0.9211 ns 2.9345 ns	2.6191 ns 2.2636 ns
Error	21	5.1501 1.6917	1.4942 1.6212	1.9944 1.1305
Total	31	7.7399 9.0038	7.3184 11.4573	4.4417 10.0611
CV %	-- --	2.4545 1.4144	13.9452 11.0660	21.9376 11.8429

Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa. \*: significancia al 5 %. \*\*: significancia al 1 %.

## **Desinfestación de *Coniella diplodiella* en semilla de jamaica**

En el bioensayo de semillas inoculadas con *Coniella diplodiella*, las comparaciones múltiples de medias de tratamientos de desinfestación de semilla de jamaica indicaron que:

En el porcentaje de germinación, todos los tratamientos de desinfestación de semilla fueron significativamente superiores al testigo inoculado, tanto en Ayutla (89.07 % de germinación de semillas) como en Tecoaapa (91.9 % de germinación) con una germinación que varió de 89.35% (Tecto 60; 1g L<sup>-1</sup> en Tecoaapa) a 95.0 % (Agua Electrolizada Neutra al 100 % en Tecoaapa) (Cuadro 4). En Ayutla, todos los tratamientos superaron significativamente al testigo inoculado (89.07 %), no así en Tecoaapa donde *Bacillus subtilis* mostró un porcentaje de germinación de semillas (87.2 %) estadísticamente inferior a todos los tratamientos, incluidos los testigos inoculado y no inoculado con *C. diplodia* (Cuadro 4).

Como era esperado, la incidencia fue significativamente menor en el testigo no inoculado (en teoría debería ser cero, salvo por el porcentaje de semillas muertas).

En Ayutla, en cuanto a % de incidencia, ningún tratamiento superó estadísticamente al testigo inoculado sin tratamiento de desinfestación de semillas; el que, contra lo esperado, presentó una muy baja incidencia de *Coniella diplodiella* (9.6 %). En contraste en Tecoaapa, la desinfestación de semillas con Agua Electrolizada Neutra fue el tratamiento significativamente superior con una inidencia de *C. diplodiella* de 8.4 % que es muy baja comparada con el tratamiento de *Bacillus subtilis* (15.8 %) que mostró la incidencia numéricamente más alta (Cuadro 4).

Respecto al porcentaje de mortalidad, al igual que en incidencia, el tratamiento de desinfestación de semillas estadísticamente mejor, y por lo tanto con el menor porcentaje de mortalidad, fue el de Agua Electrolizada Neutra; tan eficiente fue que mostró en mismo porcentaje de mortalidad que el testigo no inoculado; es decir, la mortalidad correspondió al porcentaje de semillas naturalmente muertas ya presente en el lote colectado de semillas (Cuadro 4).

En conjunto, los resultados arriba presentados sugieren que el agua electrolizada puede contribuir al control preventivo *Coniella diplodiella* mediante tratamiento a la semilla en presiembra.

Estos resultados concuerdan con lo reportado por Buck *et al.*, (2007) quien encontró que el uso de agua electrolizada posee actividad microbiana para el control de enfermedades, donde redujo la germinación de 22 especies de patógenos, entre hongos y bacterias, como son: *Alternaria* spp., *Bortrytis* spp., *Cladosporium* spp., *Colletotrichum* spp., *Curvularia lunata*, *Didymella bryoniae*, *Epicoccum nigrum*, *Fusarium* spp., *Helminthosporium* spp., *Pestalotia* spp., *Phomopsis longicolla*, *Rhodosporidium toruloides*, *Stagonospora nodorum*, *Thielaviopsis basicola*, *Trichoderma spirale*, *Acidovorax avenae* subsp., *Erwinia chrysanthemi*, *Pantoea ananatis*, *Pseudomonas syringae* y *Aspergillus* spp. De su ensayo de germinación *in vitro* reportó que no se presentó germinación en las especies de hongos con paredes delgadas (*B. allii*, *B. cinérea*, *Monilia frutícola*, *Aspergillus* spp., y *Trichoderma* spp.) después de 30 días de incubación, contrario a los hongos que presentan pared gruesa (*Epicoccum nigrum*, *Alternaria panax* y *Curvularia* sp.) que requieren más tiempo de exposición al agua electrolizada, así también las bacterias epifitas (Whangchai *et al.*, 2010; Guentzel *et al.*, 2010; Guentzel *et al.*, 2011).

Cuadro 4. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de *Coniella diploidiella* en presiembra de semillas de jamaica, Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, México, 2021.

Tratamiento	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Testigo no inoculado*	91.350 ab	2.400 b	2.175 b
	93.425 a	5.675 e	4.425 e
Testigo inoculado	89.075 b	9.600 a	7.825 a
	91.925 ab	11.850 bc	9.250 bc
<i>Trichoderma harzianum</i>	92.175 ab	9.400 a	6.825 a
	93.675 a	11.500 bc	8.600 c
<i>Bacillus subtilis</i>	93.425 ab **	9.175 a	7.250 a
	87.250 c	15.825 a	13.225 a
Tecto 60 (0.75 g L <sup>-1</sup> agua)	90.850 ab	9.175 a	7.350 a
	90.1750 bc	13.950 ab	11.750 ab
Tecto 60 (1 g L <sup>-1</sup> agua)	94.425 ab	9.325 a	6.750 a
	89.350 bc	14.425 ab	11.925 a
AEA	95.600 a	9.300 a	6.825 a
	94.850 a	10.425 cd	7.000 cd
AEN	92.750 ab	10.325 a	6.500 a
	95.000 a	8.400 de	5.650 de
DSH <sub>T</sub>	5.3824	2.8992	3.3495
	3.0848	3.0199	2.5218

\*\* : Medias por columna, para cada hilera, con la misma letra no son estadísticamente diferentes.

\* : Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa. DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey. AEA: Agua Electrolizada Ácida. AEN: Agua Electrolizada Neutra.

### B. *Corynespora cassicola*

Existieron diferencias altamente significativas entre los tratamientos para los porcentajes de germinación, incidencia y mortalidad de semillas de jamaica del Municipio de Tecoaapa, por *Corynespora cassicola*; y diferencias altamente

significativas entre tratamientos para el porcentaje de incidencia en semillas del Municipio de Ayutla, lo cual indica el efecto diferente de los tratamientos sobre el control de *Corynespora cassicola*; no así para los porcentajes de germinación y mortalidad, donde no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos (Cuadro 5).

Cuadro 5. Cuadrados medios de los Anova individuales de *Corynespora cassicola* para tres variables de control en semilla de jamaica de Ayutla y Tecoaanapa Gro.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Tratamientos	7	6.9670 ns	22.1549 **	32.8435 ns
		30.2042 **	66.4919 **	54.7891 **
Repetición	3	11.0436	1.5286	30.2633
		3.1358	1.2604	1.1854
Error	21	9.8726	0.7312	23.8228
		3.1448	2.8297	2.6308
Total	31	9.3299	5.6460	26.4830
		9.2541	17.0531	14.2686
CV %	--	3.4411	10.8117	79.5253
	--	1.9455	13.0717	16.0296

Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaanapa. \*: significancia al 5 %. \*\*: significancia al 1 %.

### Desinfestación de *Corynespora cassicola* en semilla de jamaica

En Ayutla no hubo diferencias estadísticas entre tratamientos para porcentaje de germinación, que osciló entre 93.65 % para el testigo no inoculado y 90.25 % para el agua electrolizada neutra (Cuadro 6).

En el porcentaje de germinación en Tecoaanapa fueron estadísticamente mejores los tratamientos con agua oxigenada, que fueron iguales entre sí (92.675 % agua electrolizada (AE) ácida y 93.35 % (AE) alcalina) y significativamente no diferentes al testigo universal no inoculado; pero superiores al resto de tratamientos.

Los significativamente menores porcentajes de incidencia de *Corynespora cassicola* correspondieron al testigo no inoculado tanto en Ayutla (2.67 %) como en Tecoaapa (4.92 %) (Cuadro 6).

En sus dos dosis, el Tecto 60 (0.75 g L<sup>-1</sup> y 1.0 g L<sup>-1</sup>) presentó la menor incidencia de *Corynespora cassicola* en Ayutla, con 7.07 % y 7.82 %, estadísticamente no diferentes que el agua electrolizada ácida (7.82 %), respectivamente (Cuadro 6). En tanto que en Tecoaapa el agua electrolizada ácida (4.92 %) junto con el testigo no inoculado (8.5 %) fueron estadísticamente no diferentes entre sí, pero superiores al resto de tratamientos (Cuadro 6).

Resalta el hecho de que el Tecto 60, al igual que el *Trichoderma harzianum* controlaron muy bien a *Corynespora cassicola* en la semilla de jamaica colectada en Ayutla; no así en la de Tecoaapa, tal vez porque los productores de Tecoaapa ya han aplicado Tecto 60 y la misma cepa *Trichoderma harzianum* para controlar a *C. cassicola*.

En semilla de jamaica proveniente de Ayutla, la mortalidad por efecto de *Corynespora cassicola* de todos los tratamientos fue estadísticamente no diferentes entre sí y al testigo no inoculado, indicando que este patógeno no ocasiona fuertes problemas en las primeras etapas del cultivo en esta región; mientras que, en Tecoaapa, la significativamente menor mortalidad de semilla ocurrió en el testigo no inoculado (3.3 %). De los tratamientos a semilla inoculada, el tratamiento estadísticamente mejor fue el de AE neutra; y en el resto de los tratamientos, la mortalidad osciló entre 13.5% (Tecto 60; 1g L<sup>-1</sup>de agua) y 12.5 % (*T. harzianum*).

Resultados similares reportado por Hassan y Dann, (2019) quien demostró que el uso de agua electrolizada en el cultivo de aguacate en postcosecha reduce

significativamente a *Colletotrichum siamense* causante de la enfermedad de antracnosis. Resultados equivalentes fueron reportados por Saravanakumar *et al.*, (2021), quien encontró que el agua electrolizada + ácido fumárico + solución antioxidante en pimientos rojos y amarillos recién cortados se reduce a *Listeria monocytogenes* sp., que es un patógeno que se trasmite por los alimentos.

Cuadro 6. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de *Corynespora cassicola* en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, México, 2021.

Tratamiento	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Testigo no inoculado	93.650 a	2.675 d	2.575 a
	94.255 a	4.925 c	3.300 c
Testigo inoculado	91.675 a	8.250 bc	5.425 a
	94.250 a	9.675 b	6.750 bc
<i>Trichoderma harzianum</i>	91.675 a	9.350 ab	6.350 a
	89.850 bcd	15.400 a	12.500 a
<i>Bacillus subtilis</i>	89.175 a	10.500 a	7.075 a
	87.925 d	15.750 a	13.100 a
Tecto 60 (0.75 g L <sup>-1</sup> agua)	91.250 a	7.075 c	4.850 a
	88.250 d	16.350 a	13.225 a
Tecto 60 (1 g L <sup>-1</sup> agua)	92.000 a	7.825 bc	12.425 a
	88.675 cd	16.600 a	13.500 a
AEA	90.825 a	9.100 abc	5.650 a
	92.675 abc	12.900 ab	10.000 ab
AEN	90.225 a	8.500 abc	4.750 a
	93.350 ab	11.350 b	8.575 b
DSH <sub>T</sub>	7.4522	2.0282	11.576
	4.206	3.9897	3.847

\*\* : Medias por columna, para cada hilera, con la misma letra no son estadísticamente diferentes.  
 \* : Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa. DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey; AEA: Agua Electrolizada Ácida; AEN: Agua Electrolizada Neutra.

### C. *Curvularia lunata*

Existieron diferencias altamente significativas entre los tratamientos para los porcentajes de germinación, incidencia y mortalidad para los Municipios de Ayutla y Tecoaapa, que indica un efecto diferente de los tratamientos sobre el control de *Curvularia lunata* (Cuadro 7).

Cuadro 7. Cuadrados medios de los Anova individuales de *Curvularia lunata* para tres variables de control en semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa Gro.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Tratamientos	7	29.6021 ** 37.4367 **	28.0853 ** 49.4785 **	10.455 ** 45.7685 **
Repetición	3	2.4883 ns 8.2778 ns	0.7828 ns 2.5008 ns	0.7208 ns 3.3541 ns
Error	21	6.2569 4.7687	1.7585 3.1822	2.3444 2.7094
Total	31	11.1637 12.4849	7.6088 13.5703	4.0187 12.4948
CV %	--	2.7244 2.4109	15.0318 13.4127	23.4658 15.3834

Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa. \*: significancia al 5 %. \*\*: significancia al 1 %.

### Desinfestación de *Curvularia lunata* en semilla de jamaica

En la semilla proveniente de Ayutla hubo estadísticamente mayor germinación con *Trichoderma harzianum* (95.00 %), al igual que con el agua electrolizada neutra (94.82 %); en contraste, el menor porcentaje de germinación correspondió al testigo inoculado (87.42 %). En Tecoaapa el tratamiento con

significativamente mayor germinación fue el agua electrolizada ácida (95.00 %) y el peor fue *Bacillus subtilis* (86.35 %) (Cuadro 8).

De acuerdo con el porcentaje de incidencia, en Ayutla todos los tratamientos de desinfestación de semilla de jamaica fueron estadísticamente no diferentes al testigo inoculado sin tratamiento (9.5 %) al igual que en el caso de mortalidad (6.65 %).

En cambio, en Tecoaapa, los tratamientos con menor incidencia de daño de *Curvularia lunata* fueron los de agua electrolizada ácida (11.32 %) y agua electrolizada neutra (11.52 %), que los ubica como los tratamientos estadísticamente superiores. Lo mismo ocurrió con la mortalidad, pues con el agua electrolizada ácida (AEA) hubo 8.32 % y con el AE neutra un 8.42 % (Cuadro 8).

En estudios realizados por Buck *et al.*, (2007) de aplicación de agua electrolizada sobre las 22 especies de hongos, encontró que *C. lunata* por ser un hongo pigmentado y poseer una pared gruesa, el tiempo de tratamiento requerido es más prolongado y que el agua electrolizada por tener actividad fungicida al degradar la pared al contacto. Resultados equivalentes presentó Fujiwara *et al.*, (2009) donde en aplicaciones de agua electrolizada controlaron mildiú polvoso (*Sphaerotheca fuliginea*) en pepino, en tanto que Guentzel *et al.*, (2011) demostró factible el control sobre *B. cinérea* en plantas de fresa con agua oxigenada.

Estudios realizados por Hirayama *et al.*, (2016) demostraron que el agua electrolizada neutra aplicada en sistema de riego por aspersion es efectiva en el control de la enfermedad y reduce la enfermedad significativamente la antracnosis causada por *Curvularia frutícola*. García-Ordaz reportó la efectividad de fungicidas aplicados a la enfermedad mancha foliar causada por *Curvularia eragrostidis*, donde tiabendazol inhibió el crecimiento.

Cuadro 8. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de *Curvularia lunata* en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, México, 2021.

Tratamiento	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Testigo no inoculado*	93.000 ab**	2.725 b	3.325 b
	92.325 abc	6.075 d	4.400 c
Testigo inoculado	87.425 b	9.500 a	6.650 ab
	90.925 abcd	14.150 abc	11.000 ab
<i>Trichoderma harzianum</i>	95.000 a	10.650 a	7.475 a
	89.925 abcd	15.100 abc	12.750 a
<i>Bacillus subtilis</i>	91.675 ab	11.400 a	9.000 a
	86.350 d	16.150 a	13.775 a
Tecto 60 (0.75 g L <sup>-1</sup> agua)	93.325 ab	9.250 a	6.925 ab
	88.750 bcd	15.675 ab	12.925 a
Tecto 60 (1 g L <sup>-1</sup> agua)	89.500 ab	8.750 a	6.325 ab
	87.425 cd	16.400 a	14.000 a
AEA	89.750 ab	8.400 a	5.675 ab
	95.000 a	11.325c	8.325 b
AEN	94.825 a	9.900 a	6.825 ab
	93.925 ab	11.525 bc	8.425 b
DSH <sub>T</sub>	5.9326	3.1451	3.6315
	5.1793	4.2309	3.9039

\*\* : Medias por columna, para cada hilera, con la misma letra no son estadísticamente diferentes.

\* : Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa. AEA: Agua Electrolizada Ácida; AEN: Agua Electrolizada Neutra; DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

#### D. *Rhizoctonia solani*

Existieron diferencias altamente significativas en los tratamientos para los porcentajes de germinación, incidencia y mortalidad en semilla de los Municipios de Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, lo cual indica que el efecto de los tratamientos

de desinfectación sobre *R. solani* fue diferente para controlar el patógeno en presembrado (Cuadro 9).

Cuadro 9. Cuadrados medios de los Anova individuales de *Rhizoctonia solani* para tres variables de control en semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa Gro.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Tratamientos	7	77.755 **	27.9926 **	16.6545 **
		31.9063 **	61.6183 **	45.5050 **
Repeticiones	3	13.3058 ns	2.6154 ns	1.0519 ns
		2.7144 ns	0.3312 ns	0.8108 ns
Error	21	16.5986	1.1739	1.4360
		3.0940	1.5179	1.8234
Total	31	30.0895	7.3693	4.8353
		9.5632	14.9741	11.5890
CV %		4.4764	12.4095	19.7156
		1.9304	9.4003	13.3698

Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa. \*: significancia al 5 %. \*\*: significancia al 1 %.

### Desinfestación de *Rhizoctonia solani* en semilla de jamaica

En la semilla de Ayutla y Tecoaapa, respecto a germinación (%), los mejores tratamientos fueron Tecto 60 (0.75 y 1.0 g L<sup>-1</sup> agua), el agua electrolizada (ácida y neutra), ya que igualaron estadísticamente al testigo no inoculado con *R. solani*, con excepción de *Bacillus subtilis* (87.82 %) que mostró la menor germinación junto con el testigo inoculado (86.25 %); mientras que en incidencia, ningún tratamiento resultó eficiente, aunque numéricamente sobresalen *Trichoderma* y el agua electrolizada (ácida y neutra); y en cuanto a menor mortalidad de semillas, solo los tratamientos con Tecto 60 registraron estadísticamente menor mortalidad

(10.32 % y 12.00 %, con 0.75 g L<sup>-1</sup> y 1 g L<sup>-1</sup>, respectivamente) que el testigo no inoculado (Cuadro 10).

Estudios realizados por Yi *et al.*, (2022) demostraron el efecto de *Bacillus* en el control de la enfermedad mancha ocular aguda del trigo causada por *R. cereales* con una eficacia del 88.28 %. Resultados similares reportaron Hussain *et al.*, (2021) quienes demostraron que *Bacillus* presentó actividad antagónica contra *R. solani*.

Las rizobacterias promotoras de crecimiento vegetal como *Bacillus* con potencial para inducir el crecimiento de las plantas por su producción de ácido indol-3acético, también son capaces de suprimir significativamente la actividad de *R. solani* (Mehmood *et al.*, 2021; Hussain *et al.*, 2022).

Se ha encontrado que *T. harzianum* y *B. subtilis* tienen potencial de control contra *F. oxysporum* y *R. solani* (Singh *et al.*, 2021). Por otra parte, al parecer no existe reporte del uso de agua electrolizada para inhibir el crecimiento de *R. solani*.

Cuadro 10. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de *Rhizoctonia solani* en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, México.

Tratamiento	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Testigo no inoculado*	94.000 a	3.600 d	3.000 c
	92.750 a	6.350 d	4.175 d
Testigo inoculado	81.250 ab**	9.400 bc	6.675 b
	86.250 c	19.075 a	14.675 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	89.175 ab	12.575 a	9.575 a
	93.025 a	11.000 c	8.225 c
<i>Bacillus subtilis</i>	94.175 a	9.925 b	6.750 ab
	87.825 bc	16.075 b	13.675 a
Tecto 60(0.75 g L <sup>-1</sup> agua)	93.050 a	7.075 c	4.450 bc
	91.675 ab	13.325 bc	10.325 bc
Tecto 60 (1 g L <sup>-1</sup> agua)	94.175 a	8.100 bc	4.500 bc
	90.000 abc	15.900 b	12.000 ab
AEA	89.675 ab	8.750 bc	6.425 b
	93.925 a	12.150 c	9.400 bc
AEN	92.600 a	10.425 ab	7.250 ab
	93.475 a	10.975 c	8.325 c
DSH <sub>T</sub>	9.6628	2.5698	2.8422
	4.1718	2.9221	3.2027

\*\* : Medias por columna, para cada hilera, con la misma letra no son estadísticamente diferentes.

\* : Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa; DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey; AEA: Agua Electrolizada Acida y AEN: Agua Electrolizada Neutra.

### E. *Fusarium languescens*

Hubo diferencias altamente significativas en los tratamientos para los porcentajes de germinación, incidencia y mortalidad de semilla de jamaica proveniente de los Municipios de Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, México, lo que demuestra que el

efecto de los tratamientos es diferente sobre el control de *Fusarium languescens* (Cuadro 11).

Cuadro 11. Cuadrados medios de los Anova individuales de *Fusarium languescens* para tres variables de control en semilla de jamaica proveniente de Ayutla y Tecoaapa Guerrero, México.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Tratamientos	7	30.8728 * 15.3941 *	33.5156 ** 59.6645 **	20.9549 ** 38.8912 **
Repeticiones	3	23.9508 ns 0.4554 ns	3.5894 ns 0.0394 ns	3.9461 ns 0.5270 ns
Error	21	10.5339 5.0411	2.7461 2.9594	2.2313 5.3075
Total	31	16.4250 6.9351	9.7757 15.4812	6.6252 12.4283
CV %	--	3.5907 2.4859	17.9941 11.8260	22.0179 20.1978

Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa, Guerrero. \*: significancia al 5 %. \*\*: significancia al 1 %.

### Desinfestación de *Fusarium languescens* en semilla de jamaica

En porcentaje de germinación de la semilla de jamaica proveniente de Ayutla Guerrero, todos los tratamientos de desinfestación de *F. languescens* resultaron estadísticamente no diferentes que el testigo no inoculado (94.75 %), con germinaciones que fluctuaron entre 88.42 % (Tecto 60, 1 g L<sup>-1</sup> de agua) y 93.75 % (agua electrolizada ácida), lo que indica su alta eficiencia. La única excepción fue el tratamiento con *Bacillus subtilis* cuyo porcentaje de germinación (86.75 %) es estadísticamente similar al testigo inoculado sin tratamiento protectorio (88.35 %). En cuanto a incidencia en semilla de Ayutla, solo el tratamiento con Tecto 0.75 g L<sup>-1</sup> de agua mostró un porcentaje de incidencia (7.32 %) estadísticamente

menor al testigo inoculado sin desinfección (12.25 %); este mismo tratamiento (Tecto 0.75 g L<sup>-1</sup> de agua) también fue el único que presentó una mortalidad significativamente menor (4.85 %) que el testigo inoculado sin tratamiento (9.32%) (Cuadro 12).

En la semilla de jamaica de Tecoaapa, en el porcentaje de germinación, ningún tratamiento de desinfección de *F. languescens* superó significativamente al testigo inoculado sin tratamiento; sugiriendo que *Fusarium* no afecta drásticamente la germinación de la semilla; lo que está en congruencia con que todos los tratamientos lograron una reducción significativa de la incidencia del hongo (16.75 % de incidencia con *Bacillus subtilis* a 10.97 % con Tecto 60 a 0.75 g L<sup>-1</sup> de agua), con respecto al testigo inoculado sin tratamiento (21.65 %); de estos resultados también resalta que solo los tratamientos con Tecto 60 registraron incidencias bajas como la del testigo no inoculado, indicando que Tecto 60 fue muy efectivo para la desinfección de *Fusarium* en la semilla de Tecoaapa. La mortalidad más baja, estadísticamente igual a la del testigo no inoculado correspondió a los tratamientos con Tecto 60 (8.57 % para 0.75 g L<sup>-1</sup> de agua y 9.75 % para 1 g L<sup>-1</sup> de agua) (Cuadro 12).

El testigo no inoculado (sin tratamiento) presentó el menor porcentaje de incidencia y mortalidad en Ayutla y Tecoaapa; sin embargo, el tratamiento a semilla con Tecto 60 a dosis 0.75 g L<sup>-1</sup> de agua fue el mejor tratamiento para Ayutla y Tecoaapa ya que presentó menor porcentaje incidencia; lo mismo ocurrió en cuanto a mortalidad de semilla con los dos tratamientos de Tecto 60 (Cuadro 12).

Estudios realizados por Whangchai & Uthaibutra, (2017) al evaluar el efecto del agua electrolizada encontraron que es efectiva para el control de *Fusarium* en el cultivo de piña. Ortiz-Martínez *et al.*, (2021) analizaron la efectividad de

fungicidas para el control de marchitez de los cítricos causada por *Fusarium* sp., encontraron que el tiabendazol fue eficaz para inhibir el crecimiento micelial del patógeno. En el control de enfermedades del cultivo de papa, (Vatankhah *et al.*, 2019) encontraron que la aplicación de tiabendazol resultó eficaz para inhibir el crecimiento de *F. oxysporum* y *F. solani*.

Cuadro 12. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de *Fusarium languescens* en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, México, 2021.

Tratamiento	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Testigo no inoculado*	94.750 a	3.250 c	2.675 c
	90.600 ab**	8.850 d	6.950 c
Testigo inoculado	88.350 ab	12.250 a	9.325 a
	87.825 b	21.650 a	16.650 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	90.600 ab	12.175 a	8.925 a
	89.425 ab	14.425 bc	11.900 abc
<i>acillus subtilis</i>	86.750 b	9.175 ab	6.575 ab
	88.850 ab	16.750 b	13.350 ab
Tecto 60 (0.75 g L <sup>-1</sup> agua)	91.325 ab	7.325 b	4.850 bc
	93.000 ab	10.975 cd	8.575 bc
Tecto 60 (1 g L <sup>-1</sup> agua)	88.425 ab	10.325 ab	8.775 a
	93.350 a	13.325 bc	9.175 bc
AEA	93.750 ab	9.500 ab	7.250 ab
	90.325 ab	14.325 bc	11.325 abc
AEN	89.150 ab	9.675 ab	5.900 abc
	89.175 ab	16.075 b	13.325 abc
DSH <sub>T</sub>	7.6977	3.9303	3.5429
	5.3251	4.0801	5.464

\*\* : Medias por columna, para cada hilera, con la misma letra no son estadísticamente diferentes.

\* : Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa; AEA: Agua Electrolizada Acida; AEN: Agua Electrolizada Neutra y DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

## F. *Phytophthora parasítica*

Hubo diferencias altamente significativas entre tratamientos para los porcentajes de germinación, incidencia y mortalidad para el Municipio de Tecoaapa y entre tratamientos para los porcentajes de incidencia y mortalidad en Ayutla, no así para germinación en Ayutla lo cual indica que los tratamientos pudieron controlar a *Phytophthora parasítica*, excepto para germinación en Ayutla (Cuadro 13).

Cuadro 13. Cuadrados medios de los Anova individuales de *Phytophthora parasítica* para tres variables de control en semilla de jamaica, Ayutla y Tecoaapa, Guerrero, México.

Fuente de Variación	Grados de libertad	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Tratamientos	7	9.1333 ns 22.5388**	965.9562 ** 930.5562 **	784.4474 ** 787.2883 **
Repeticiones	3	1.3312 ns 0.5211	13.9987 ns 12.3820 *	8.4161 ns 31.0704 **
Error	21	7.2291 2.9397	3.1837 3.9966	4.1597 2.7318
Total	31	7.0883 7.1312	221.6306 214.0312	180.7656 182.6322
CV %	--	2.9723 1.8967	4.3860 4.4742	5.4274 4.1678

Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa, Guerrero. \*: significancia al 5 %. \*\*: significancia al 1 %.

### Desinfestación de *Phytophthora parasítica* en semilla de jamaica

En consistencia con el análisis de varianza, en Ayutla, las comparaciones de medias no se encontró diferencias significativas entre tratamientos para germinación de semillas, incluidos los testigos no inoculado e inoculado sin tratamiento. En incidencia y mortalidad todos los tratamientos fueron estadísticamente no diferentes al testigo inoculado sin tratamiento de

desinfestación, a excepción de Tecto 60 ( $0.75 \text{ g L}^{-1}$ ) que mostró menor incidencia y mortalidad que el testigo inoculado con *Phytophthora parasitica* sin tratamiento de desinfestación.

En Tecoaapa el agua electrolizada ácida fue el único tratamiento de desinfestación de semilla con germinación estadísticamente mayor al testigo no inoculado; mientras que el tratamiento con *Trichoderma harzianum* (46.42 %) fue el único con en incidencia significativamente menor que el testigo inoculado sin desinfestación; lo mismo ocurrió con la mortalidad, donde el tratamiento con *Bacillus subtilis* igualó al efecto positivo (41.90 %) de *Trichoderma harzianum*, presentando ambos tratamientos una mortalidad significativamente menor que el testigo inoculado (Cuadro 14)

Las comparaciones múltiples de medias de tratamientos indican que el agua electrolizada ácida presento el mayor porcentaje de germinación, sin embargo, los tratamientos fueron estadísticamente no diferentes entre sí, e iguales al testigo para Ayutla, para Tecoaapa el agua electrolizada ácida fue el mejor tratamiento que presento mayor porcentaje de germinación. El tratamiento con Tecto 60 a dosis de  $0.75 \text{ g L}^{-1}$  de agua para Ayutla y *T. harzianum* para Tecoaapa fueron los mejores tratamientos que presentaron menor porcentaje de incidencia. El tratamiento con Tecto 60 a dosis de  $0.75 \text{ g L}^{-1}$  de agua para Ayutla y *T. harzianum* y *B. subtilis* para Tecoaapa fueron los mejores tratamientos que presentaron el menor porcentaje de mortalidad (Cuadro 14).

Al evaluar la efectividad de *T. harzianum* y *T. viride*, hongos ampliamente usados en el control de enfermedades, Barboza (2022) demostró que inhibe el crecimiento de *P. cinnamomi* mediante micoparasitismo. Por su parte, Moon *et al.*, (2021), demostraron que *Bacillus velezensis* controla la enfermedad de raíz causada por *Phytophthora* spp. y promueve el crecimiento de raíces. También se ha

demostrado que *B. velezensis* puede controlar a *P. parasítica* var. *Nicotianae* al inducir resistencia (Qiu *et al.*, 2022).

Cuadro 14. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de *Phytophthora parasítica* en presiembra de semilla de jamaica, Ayutla, Guerrero, México, 2021.

Tratamiento	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Testigo no inoculado	91.575 a	3.350 c	4.075 c
	90.925 ab	7.225 c	5.400 c
Testigo inoculado	90.000 a	46.325 a	44.200 a
	89.000 bc	52.925 a	47.525 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	88.850 a	45.900 a	41.925 a
	89.075 bc	46.425 b	40.925 b
<i>Bacillus subtilis</i>	92.350 a	46.325 a	42.025 a
	86.425 c	49.250 ab	41.900 b
Tecto 60(0.75 g L <sup>-1</sup> agua)	89.250 a	37.475 b	34.150 b
	89.675 bc	49.725 ab	46.825 a
Tecto 60 (1 g L <sup>-1</sup> agua)	90.025 a	50.075 a	45.750 a
	91.500 ab	51.500 a	45.825 a
AEA	92.600 a	48.325 a	44.600 a
	94.075 a	49.575 ab	44.000 ab
AEN	89.000 a	47.675 a	43.900 a
	92.500 ab	50.825 ab	44.750 ab
DSH <sub>T</sub>	6.3769	4.2319	4.8373
	4.0665	4.7415	3.9201

\*\* : Medias por columna, para cada hilera, con la misma letra no son estadísticamente diferentes.

\* : Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa; AEA: Agua Electrolizada Ácida; AEN: Agua Electrolizada Neutra; DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

### 3.3.2 Resultados Combinados en promedio de Municipio y Patógenos

#### 3.3.2.1 Resultados para el Municipio de Ayutla de los Libres

El Anova detectó que hubo diferencias altamente significativas entre tratamientos y entre patógenos para los porcentajes de germinación, incidencia y mortalidad; no así entre patógenos para el porcentaje de germinación. La alta significancia estadística de la interacción patógeno x tratamiento para todas las variables indica que el efecto de los tratamientos de desinfestación de la semilla de jamaica de Ayutla no es mismo en todos los patógenos (Cuadro 15).

Cuadro 15. Cuadrados medios del Anova en promedio de seis patógenos para tres variables de control en semilla de jamaica de Ayutla, Guerrero, México, 2021.

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Germinación (%)</b>	<b>Incidencia (%)</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
Patógenos	5	20.50 ns	5464.985 **	5189.053 **
Repetición	3	1.36 ns	4.346 ns	1.209 ns
Pat x ep	15	10.91 ns	3.818 *	9.161 ns
Tratamientos	7	50.76 **	507.794 **	319.439 **
Pat x Trat	35	24.15 **	119.488 **	111.696 **
Error	126	9.27	1.847	5.998
Total	191	13.8192	185.155	172.709
CV %	--	3.337	9.696	21.131

Pat: Patogeno, Trat: Tratamiento, Rep: Repetición, \*: significancia al 1 %; \*\*: significancia al 5 %, ns: Diferencias no significativas.

## **Efecto de tratamientos de desinfestación de semillas**

Las comparaciones múltiples de medias de tratamientos indicaron que en el testigo inoculado (sin tratamiento de desinfestación) se presentó el menor porcentaje de germinación; y que, todos los tratamientos de desinfestación de semilla fueron estadísticamente no diferentes entre sí e iguales al testigo universal no inoculado, para germinación; sobresaliendo numéricamente el tratamiento con agua electrolizada acida, que también es el tratamiento más barato, que no deja residuos en la cosecha y ambientalmente inocuo. Lo anterior indica que todos los tratamientos preventivos aplicados en semilla fueron mejores para germinación que no aplicar ningún tratamiento de desinfestación a la semilla de siembra en jamaica del Estado de Guerrero (Cuadro 16).

El Tecto 60 a  $0.75 \text{ g L}^{-1}$  de agua, fue el tratamiento estadísticamente mejor con menor mortalidad (12.895 %) de semillas y plántulas, y también con menor incidencia (10.429 %) de daños. Estos resultados concuerdan con lo reportado por Reyes *et al.*, (2022) en cuanto al beneficio de aplicar biocontrol, y el uso de agua electrolizada que ha resultado eficaz en la inhibición de patógenos en hortalizas (Lixin *et al.*, 2010; Vásquez-López *et al.*, 2016; Gómez-Jaimes *et al.*, 2017), por lo que son una alternativa en pretratamiento a semilla, dado que el objetivo es reducir el efecto de los patógenos sobre las semillas y plántulas de jamaica. Resultados similares fueron reportados por Alburquerque-Andrade *et al.*, (2019) para el control de *R. solani*, *F. oxysporum* con tiabendazol que inhibió el crecimiento y desarrollo de estos patógenos.

Cuadro 16. Comparaciones múltiples de medias de ocho tratamientos de control de patógenos en presiembra de semilla de jamaica de Ayutla, Guerrero, México, 2021.

Tratamiento	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Testigo no inoculado	93.054 a*	3.000 c	2.970 c
Testigo inoculado	87.962 b	15.887 a	13.350 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	91.245 a	16.675 a	13.512 a
<i>Bacillus subtilis</i>	91.258 a	16.320 a	13.112 a
Tecto 60 (0.75 g L <sup>-1</sup> agua)	91.508 a	12.895 b	10.429 b
Tecto 60 (1 g L <sup>-1</sup> agua)	91.425 a	15.733 a	14.087 a
AEA	92.033 a	15.562 a	12.737 a
AEN	91.425 a	16.083 a	12.520 ab
DSH <sub>T</sub>	2.709	1.209	2.179

\*: Medias por hilera, con la misma letra no son estadísticamente diferentes. DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey. AEA: Agua Electrolizada Ácida y AEN: Agua Electrolizada Neutra.

### Efecto de hongos fitopatógenos sobre semilla de jamaica

El porcentaje de germinación de la semilla de jamaica de Ayutla en presencia de los seis hongos (*C. diplodiella*, *C. cassicola*, *C. lunata*, *R. solani*, *F. languescens* y *P. parasítica*) fueron estadísticamente no diferentes, con una germinación que vario de 90.387 % en presencia de *F. languescens* a 92.456 % con *C. diploidea* (Cuadro 17), contra el 93.054 % de germinación en el testigo no inoculado (Cuadro 16).

En presencia *P. parasítica* el porcentaje de incidencia (40.681 %) y mortalidad (37.578 %) de semillas de jamaica estadísticamente superior a las otras cinco

especies, que fueron estadísticamente no diferentes entre sí (con incidencia entre 7.909 % de *C. cassicola* y 9.209 % de *F. languescens* (Cuadro 17), contra un 3.0 % del testigo no inoculado (Cuadro 16)) y mortalidad de entre 6.078 % de *Rhizoctonia solani* y 6.784 % de *Fusarium languescens*, contra un 2.97 % del testigo.

*P. parasítica*, es un Oomiceto causante de varias enfermedades en cultivos y a nivel de plántula (Morales *et al.*, 2012; Ramírez-Gil, 2016). Ortega-Acosta *et al.*, (2015) reportaron que la mayor incidencia de la enfermedad de la pata prieta de la jamaica se registra en Ayutla y Tecoanapa. El control de estos patógenos en el cultivo con aplicaciones de clorotalonil y benomilo alternado con oxiclورو de cobre presentaron menor incidencia de los patógenos en el ciclo del cultivo (Ortega-Acosta *et al.*, 2019); por lo que con el pretratamiento a semilla es posible reducir la incidencia de estos patógenos.

Cuadro 17. Comparaciones múltiples de medias para seis patógenos en semilla de jamaica de Ayutla, Guerrero.

Patógeno	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
<i>Coniella diplodiella</i>	92.456 a*	8.765 b	6.437 b
<i>Corynespora cassicola</i>	91.309 a	7.909 b	6.137 b
<i>Curvularia lunata</i>	91.812 a	8.821 b	6.525 b
<i>Rhizoctonia solani</i>	91.012 a	8.731 b	6.078 b
<i>Fusarium languescens</i>	90.387 a	9.209 b	6.784 b
<i>Phytophthora parasítica</i>	90.456 a	40.681 a	37.578 a
DSH <sub>T</sub>	2.682	1.587	2.458

\*: Medias por hileras con la misma letra no son estadísticamente diferentes. DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

### 3.3.2.2 Resultados para el Municipio de Tecoaapa

Existieron diferencias altamente significativas entre patógenos y tratamientos para los porcentajes de germinación, incidencia y mortalidad en la semilla de jamaica de Tecoaapa (Cuadro 18), indicando que hay patógenos más agresivos que otros, y tratamientos mejores que otros para el manejo preventivo por desinfestación de semilla, en contra de los patógenos estudiados. También, la interacción Patógeno x Tratamiento fue altamente significativa para las tres variables (Cuadro 18); lo que indica que los tratamientos no afectaron de igual manera a los patógenos.

Cuadro 18. Cuadrados medios del Anova en promedio de seis patógenos para tres variables de control en semilla de jamaica de Tecoaapa Gro.

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Germinación (%)</b>	<b>Incidencia (%)</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
Patógenos	5	12.268 **	5361.136 **	4629.004 **
Repeticiones	3	3.079 ns	4.377 ns	6.421 ns
Pat x Rep	15	4.013 ns	3.014 ns	6.557 **
Tratamientos	7	91.583 **	594.072 **	462.162 **
Pat x Trat	35	15.449 **	123.671 **	110.054 **
Error	126	3.446	2.684	2.722
Total	191	1746.8986	35689.276	30692.721
CV (%)	--	2.041	8.936	10.883

Rep: Repetición; Pat: Patógenos; Trat: Tratamientos; \*: significancia al 1 %; \*\*: significancia al 5 %, ns: Diferencias no significativas.

## Tratamientos de desinfestación de semillas de jamaica

Contra los fitopatógenos que ocasionan los problemas fitosanitarios del cultivo de jamaica, los tratamientos significativamente mejores para mayor porcentaje de germinación y menores porcentajes de incidencia y mortalidad fueron los de agua electrolizada ácida y neutra (Cuadro 19) con la ventaja adicional de que son más baratos, ambientalmente amigables y sin el riesgo de que los patógenos desarrollen resistencia.

Cuadro 19. Comparaciones múltiples de medias para ocho tratamientos de control de patógenos en semilla de jamaica para Tecoaapa, Guerrero.

Tratamiento	Germinación (%)	Incidencia (%)	Mortalidad (%)
Testigo no inoculado	92.375 ab	6.516 e	4.775 c
Testigo inoculado	90.029 c	21.554 a	17.641 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	90.829 bc	18.975 cd	15.816 b
<i>Bacillus subtilis</i>	87.437 d	21.633 a	18.170 a
Tecto (60 0.75 g L <sup>-1</sup> agua)	90.254 c	20.000 bc	17.287 a
Tecto 60 (1 g L <sup>-1</sup> agua)	90.050 c	21.358 ab	17.737 a
AEA	93.475 a	18.450 d	15.008 b
AEN	92.904 a	18.191 d	14.841 b
DSH <sub>T</sub>	1.652	1.458	1.468

\*: Medias por hileras con la misma letra no son estadísticamente diferentes. AEA: Agua Electrolizada Ácida y AEN: Agua Electrolizada Neutra. DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey

Resultados similares se observaron en el cultivo de jitomate con la aplicación de agua electrolizada para inhibir el crecimiento de *Fusarium* sp. Similarmente, su uso en lechuga, brócoli, cilantro y fresa presentó efectos benéficos como tratamiento poscosecha, sin riesgo a la salud y de que los patógenos generen resistencia al producto (Veena y Reddy, 2014; Jeyaseelan *et al.*, 2012). Así mismo, coinciden con lo reportado por Michel-Aceves *et al.*, (2019) quien indicó que

*Trichoderma* sp., es un agente biocontrolador de *P. parasítica* y *F. oxysporum* en particular mostrando potencial antagónico y agresivo contra tales patógenos, que también causan enfermedades en el cultivo de jamaica.

En los porcentajes de mortalidad y de incidencia, el mejor tratamiento para el tratamiento de biocontrol fue el de *Trichoderma harzianum*, estadísticamente no diferente a los dos tratamientos de agua electrolizada (Cuadro 19).

### **Efecto de hongos fitopatógenos sobre semilla de jamaica**

El mayor porcentaje de germinación y los menores porcentajes de incidencia y mortalidad se presentaron con el patógeno *Coniella diplodiella*; mientras que la menor germinación y la mayor incidencia y mortalidad ocurrió con *Phytophthora parasítica* (Cuadro 20).

El control de los patógenos en semillas es ampliamente utilizado para reducir preventivamente los problemas de enfermedades. La utilización de *T. harzianum* y *B. subtilis* tienen la capacidad antagónica de colonizar y frenar los patógenos (Michel-Aceves *et al.*, 2019). La utilización de agua electrolizada ayudó a inhibir los patógenos como alternativa a la utilización de productos químicos (Whangchai *et al.*, 2010).

Cuadro 20. Comparaciones múltiples de medias para seis patógenos en semilla de jamaica de Tecoaapa, Guerrero.

<b>Patógeno</b>	<b>Germinación (%)</b>	<b>Incidencia (%)</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
<i>Coniella diplodiella</i>	91.956 a*	11.506 d	8.978 c
<i>Corynespora cassicola</i>	91.150 ab	12.868 cd	10.118 bc
<i>Curvularia lunata</i>	90.578 ab	13.300 bc	10.700 bc
<i>Rhizoctonia solani</i>	91.115 ab	13.106 c	10.100 bc
<i>Fusarium languescens</i>	90.318 b	14.546 b	11.406 b
<i>Phytophthora parasítica</i>	90.396 ab	44.681 a	39.656 a
DSH <sub>T</sub>	1.627	1.410	2.08

\*: Medias por hileras con la misma letra no son estadísticamente diferentes. DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

### 3.3.3 Resultados Combinados en Promedio entre Municipios

Se presentaron diferencias altamente significativas ( $\alpha= 0.01$ ) entre municipios, patógenos y tratamientos para los porcentajes de germinación, incidencia y mortalidad, con excepción de municipios en porcentaje de germinación donde no hubo diferencias estadísticas. También resultaron altamente significativas las dos interacciones simples Municipio x Patógeno, Municipio x Tratamientos y la interacción triple Municipio x Patógeno x Tratamiento, indicando que los patógenos y los tratamientos no se comportan de la misma manera entre Municipios, respectivamente (Cuadro 21).

Cuadro 21. Cuadrados medios del Anova en promedio de ocho tratamientos, seis patógenos y dos Municipios para el control en semilla de jamaica.

<b>Fuente de Variación</b>	<b>Grados de libertad</b>	<b>Germinación (%)</b>	<b>Incidencia (%)</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
Municipios	1	9.817 ns	1787.531 **	1223.367 **
Repeticiones	3	4.574 ns	8.631 *	2.777 ns
Municipio x Rep	3	8.758 ns	0.091 ns	4.854 ns
Patógenos	5	144.622 **	10813.10 **	9801.638 **
Mun x Pat	5	19.269 ns	13.020 **	16.419 **
Mun x Pat x Rep	30	223.860 ns	3.416 *	7.859 **
Tratamientos	7	679.367 **	1060.857 **	744.703 **
Mun x Trat	7	316.998 **	41.009 **	36.898 **
Mun x Pat x Trat	70	1386.168 **	121.579 **	110.875 **
Error	252	6.360	2.266	4.360
Total	383	11.478	190.185	169.461
CV (%)		2.768	9.305	15.612

Mun: Municipios; Rep: Repeticiones; Pat: Patógenos; Trat: Tratamientos; \*: significancia al 1 %, \*\*: significancia al 5 %; ns: Diferencias no significativas.

## **Comparaciones de medias de Municipios, Patógenos y Tratamientos**

### **Efecto de municipios en promedio de patógenos y tratamientos**

En el municipio de Tecoaapa los porcentajes de incidencia y mortalidad fueron estadísticamente superiores a los de Ayutla; no así el porcentaje de germinación, donde ambos municipios fueron estadísticamente no diferentes (Cuadro 22).

Ortega-Acosta *et al.*, (2015) encontró variabilidad genética *P. parasítica* en las regiones jamaíqueras de Ayutla y Tecoaapa, Guerrero. La implicación de la existencia de variabilidad genética en los patógenos es que los segregantes

resistentes tienen mayor valor adaptativo y cuando llegan a predominar en la población ésta adquiere resistencia a los tratamientos dirigidos a controlar el patógeno (Godoy, 2014; Carmona y Sautua, 2017).

Cuadro 22. Comparaciones múltiples de medias entre Municipios para los porcentajes de germinación, incidencia y mortalidad.

<b>Municipio</b>	<b>Germinación (%)</b>	<b>Incidencia (%)</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
Ayutla	91.239 a*	14.019 b	11.590 b
Tecoanapa	90.919 a	18.334 a	15.159 a
DSH <sub>T</sub>	0.555	0.098	0.715

\*: Medias por hileras con la misma letra no son estadísticamente diferentes; DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

### **Efecto de patógenos en promedio de municipios y tratamientos**

En los bioensayos individuales de inoculación de seis patógenos en semilla de jamaica, se encontró que en presencia de *Coniella diplodiella* hubo significativamente mayor porcentaje de germinación (92.206 %) y menor incidencia (10.135 %), lo que indica que los tratamientos de desinfestación de semilla fueron en promedio más efectivos frente a *C. diplodiella*; aunque para incidencia *Coniella diplodiella* y *Corynespora cassicola* fueron estadísticamente no diferentes en el porcentaje de incidencia. El patógeno que presentó significativamente mayor porcentaje de mortalidad fue *Phytophthora parasitica*, demostrando la poca eficiencia de los tratamientos sobre este hongo (Cuadro 23). En promedio, los tratamientos aplicados presentaron con mayor control sobre los hongos *Coniella diplodiella*, *Corynespora cassicola*, *Curvularia lunata* y *Rhizoctonia solani* (Cuadro 23).

Cuadro 23. Comparaciones múltiples de medias entre patógenos, en promedio de Municipios y Tratamientos.

<b>Tratamiento</b>	<b>Germinación (%)</b>	<b>Incidencia (%)</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
Testigo no inoculado	92.714 a*	4.758 e	3.872 c
Testigo inoculado	88.995 d	18.720 ab	15.495 a
<i>Trichoderma harzianum</i>	91.037 b	17.825 bc	14.664 ab
<i>Bacillus subtilis</i>	89.347 cd	18.977 a	15.641 a
Tecto 60 (0.75 g L <sup>-1</sup> agua)	90.881 bc	16.447 d	13.858 b
Tecto 60 (1 g L <sup>-1</sup> ) agua	90.737 bc	18.545 ab	15.912 a
AEA	92.754 a	17.006 cd	13.872 b
AEN	92.164 ab	17.137cd	13.681 b
DSH <sub>T</sub>	1.573	0.939	1.302

\*: Medias por hileras con la misma letra no son estadísticamente diferentes. DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

### **Efecto de tratamientos en promedio de municipios y patógenos**

El agua electrolizada ácida fue estadísticamente similar en porcentaje de germinación que el testigo no inoculado; con lo que superó significativamente al resto de los tratamientos (Cuadro 24).

El agua electrolizada ácida y neutra, fueron estadísticamente no diferentes entre sí y con el tratamiento Tecto 60 0.75 g L<sup>-1</sup>, como los mejores tratamientos para el control preventivo de patógenos en presiembra de la semilla de jamaica, con la menor incidencia y mortalidad de semillas y plántulas, por hongos fitopatógenos de los Municipios de Ayutla y Tecoaapa Guerrero (Cuadro 24). Estos resultados son consistentes con los presentados por Vásquez-López *et al.*, 2016; Gómez-Jaimes *et al.*, 2017) quienes encontraron que el agua electrolizada presentó mayor porcentaje de germinación en comparación con los demás tratamientos; así como

con lo reportado por Salgado-Escobar *et al.*, (2020) que demostraron que el agua electrolizada también mejora las propiedades fisicoquímicas y funcionales de los alimentos, por lo que también se cree que hay un efecto positivo sobre las semillas para su germinación; y negativo sobre los patógenos al inhibir su crecimiento.

Cuadro 24. Comparaciones múltiples de medias entre patógenos, en promedio de Municipios y Patógenos.

<b>Patógeno</b>	<b>Germinación (%)</b>	<b>Incidencia (%)</b>	<b>Mortalidad (%)</b>
<i>Coniella diplodiella</i>	92.206 a	10.135 c	7.707 b
<i>Corynespora cassicola</i>	91.229 ab	10.389 c	8.128 b
<i>Curvularia lunata</i>	91.195 ab	11.060 bc	8.612 b
<i>Rhizoctonia solani</i>	91.064 ab	10.918 bc	8.089 b
<i>Fusarium languescens</i>	95.353 b	11.878 b	9.095 b
<i>Phytophthora parasítica</i>	90.426 b	42.681 a	38.617 a
DSH <sub>T</sub>	1.468	0.993	1.507

\*: Medias por hileras con la misma letra no son estadísticamente diferentes. AEA: Agua Electrolizada Ácida; AEN: Agua Electrolizada Neutra; DSH<sub>T</sub>: Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

### 3.3.4 Análisis de correlaciones

En los municipios de Ayutla y Tecoanapa se encontró una correlación alta, positiva, directa y significativa ( $r=0.983^{**}$  y  $r=0.996^{**}$ , respectivamente), entre el porcentaje de incidencia y el porcentaje de mortalidad en jamaica; lo que indica que a mayor porcentaje incidencia hay mayor porcentaje de mortalidad y viceversa. En contraste, en el Municipio de Tecoanapa se encontraron correlaciones bajas y negativas, pero altamente significativas entre porcentaje de incidencia y mortalidad con el porcentaje de germinación ( $r= 0.2576^{**}$ ;  $r= 0.2722^{**}$ ), lo que indica que a mayor incidencia y mortalidad hay menor germinación de semillas (Cuadro 25).

Cuadro 25. Análisis de correlaciones entre variables de control de patógenos en semilla de jamaica para Ayutla y Tecoaapa y la interacción.

	<b>Porcentaje Germinación</b>	<b>Porcentaje Incidencia</b>	<b>Porcentaje Mortalidad</b>
<b>Porcentaje Germinación</b>	1 1	- 0.12949 ns -0.2576 **	- 0.12220 ns -0.2722 **
<b>Porcentaje Incidencia</b>	---	1 1	0.98371 ** 0.9960 **
<b>Porcentaje Mortalidad</b>	---	---	1 1

Hilera 1: Municipio de Ayutla; Hilera 2: Municipio de Tecoaapa; \*\*: significancia al 1%.

#### IV. CONCLUSIONES

La prueba de sanidad *in vitro* de semilla de jamaica proveniente de Ayutla de los Libres y Tecoaapa Guerrero, México, revela que se encontraron presentes los patógenos *Coniella diplodiella*, *Curvularia lunata*, *Rizoctonia solani*, *Fusarium languences* y *Aspergillus niger*. En Ayutla de los Libres, se encuentra *Fusarium languens* el cual muestra el mayor porcentaje de incidencia en semillas; contrario a *Coniella diplodiella* y *Aspergillus niger* que presentan mayor incidencia en Tecoaapa.

Los patógenos localizados en Tecoaapa presentaron mayor patogenicidad, con más porcentajes de incidencia y mortalidad.

*Phytophthora parasítica*, *Rhizoctonia solani*, *Fusarium languens* y *Curvularia lunata* son los patógenos que presentaron mayor patogenicidad.

Aplicaciones preventivas en semilla tuvieron efecto positivo en el control de los patógenos causantes de enfermedades del cultivo. Los tratamientos con *Trichoderma harzianum*, Tecto 60 a dosis de 0.75 g L<sup>-1</sup>, agua electrolizada ácida y neutra resultan eficientes para inhibir el crecimiento de los patógenos en *in vitro* (*Coniella diplodiella*, *Corynespora cassicola*, *Curvularia lunata*, *Rizoctonia solani*, *Fusarium languences* y *Phytophthora parasítica*), porque se logra mayor porcentaje de germinación, y menores porcentajes de incidencia y mortalidad en semilla.

Existió correlación positiva y significativa entre el porcentaje de incidencia y mortalidad indicando que, a mayor incidencia, mayor mortalidad, y por ende menor porcentaje de germinación.

## V. LITERATURA CITADA

- Aguayo, E., Gómez, P., Artes, H. F., y Artes, F. 2017. Tratamientos químicos desinfectantes de hortalizas de IV gama: ozono, agua electrolizada y acido peracético. *Agrociencia Uruguay*. 21(1). 7-14. ISO 690.
- Alburqueque-Andrade, D., & Gusqui-Mata, R. (2018). Eficacia de fungicidas químicos para el control in vitro de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas. *Arnaldoa*, 25(2), 489-498.
- Al-Fadhal, F. A., AL-Abedy, A. N., & Alkhafije, D. A. (2019). Isolation and molecular identification of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* isolated from cucumber (*Cucumis sativus* L.) and their control feasibility by *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. *Egyptian Journal of Biological Pest Control*, 29(1), 1-11.
- Amadi, J. E., y Adeniyi, D. O. 2009. Mycotoxin production by fungi isolated from stored grains. *African Journal of Biotechnology* 8(7): 1219-1221.
- Ashaye, O. A. (2013). Studies on moisture sorption isotherm and nutritional properties of dried Roselle calyces. *International Food Research Journal*, 20(1), 509.
- Ashaye, O. A., & Adeleke, T. O. (2009). Quality attributes of stored Roselle jam. *International Food Research Journal*, 16(3), 363-371.
- Barnett HL and Hunter BB. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth Edition. APS Press. St. Paul, Minesota, USA. 218p.
- Barboza, A. (2022). Especies nativas de *Trichoderma* aisladas de plantaciones de aguacate con actividad inhibitoria contra *Phytophthora cinnamomi*. *Bioteconología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 1-13.

- Bhale, U. N., Wagh, P. M., & Rajkonda, J. N. (2013). Antagonistic confrontation of *Trichoderma* spp against fruit rot pathogens on Sapodilla (*Manilkara zapota* L.). *Journal of Yeast and Fungal Research*, 4(1), 5-11.
- Buck, J. W., Van Iersel, M. W., Oetting, R. D., & Hung, Y. C. (2007). In vitro fungicidal activity of acidic electrolyzed oxidizing water. *Plant Disease*, 86(3), 278-281.
- Carmona, M. y Sautua, F. 2017. La problemática de la resistencia de hongos a fungicidas. Causas y efectos en cultivos extensivos. *Agronomía y Ambiente*. 37(1).
- Carreres, R. 2012. Fusariopsis del arroz. *Agrícola vergel*. (354). 42-45.
- Castro-del Ángel, E., Sánchez-Arizpe, A., Galindo-Cepeda, M. E., & Badillo, M. E. V. (2021). *Trichoderma* SPECIES EFFECT ON THE INCIDENCE BY *F. verticillioides* IN FOUR MAIZ GENOTYPES. *Tropical and Subtropical Agroecosystems*, 24, 67.
- Cid-Ortega, S., & Guerrero-Beltrán, J. A. (2012). Propiedades funcionales de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Temas selectos de ingeniería de alimentos*, 6(2), 47-63.
- Chen, C. C., Hsu, J. D., Wang, S. F., Chiang, H. C., Yang, M. Y., Kao, E. S., & Wang, C. J. (2003). *Hibiscus sabdariffa* extract inhibits the development of atherosclerosis in cholesterol-fed rabbits. *Journal of agricultural and food chemistry*, 51(18), 5472-5477.
- Correa-Sánchez, E., Ortiz-García, C. F., Torres-de la Cruz, M., Muñoz, B., del Carmen, C., Rivera-Cruz, M. D. C., & Hernández-Salgado, J. H. (2011).

- Etiología de la mancha acuosa de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Tabasco, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 29(2); 165-167.
- Crous P. W., Verkley, G. J. M., Groenewald, J. Z., and Samson, R. A. 2009. Fungal Biodiversity. CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht. The Netherlands. 269p.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I. and Heinrich, M. (2014). *Hibiscus sabdariffa* L. Una revisión fitoquímica y farmacológica. *Química de los alimentos*, 165, 424-443.
- Duke, J. A. (1983). Handbook of energy crops. Purdue University. Center for new crops & plants products.
- FAO. 2014. Organización de las Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. <http://www.fao.org/agriculture/estadistics/>. Consultado de Enero 2021.
- Fernández-Sosa, R., Carballo-Carballo, A., Villaseñor-Mir, H. E., & Hernández-Livera, A. (2015). Calidad de la semilla de trigo de temporal en función del ambiente de producción. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*. 6(6); 1239-1251.
- Fujiwara, K., Fujii, T., & Park, J. S. (2009). Comparison of foliar spray efficacy of electrolytically ozonated water and acidic electrolyzed oxidizing water for controlling powdery mildew infection on cucumber leaves. *Ozone: science & engineering*. 31(1), 10-14.
- Galicia-Flores, L. A., Salinas-Moreno, Y., Espinoza-García, B. M., & Sánchez-Feria, C. (2008). Caracterización fisicoquímica y actividad antioxidante de extractos de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) nacional e importada. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 14(2), 121-129.

- Galindo, E., Serrano-Carreón, L., Gutiérrez, C. R., Balderas-Ruíz, K. A., Muñoz-Celaya, A. L., Mezo-Villalobos, M., & Arroyo-Colín, J. (2015). Desarrollo histórico y los retos tecnológicos y legales para comercializar Fungifree AB®, el primer biofungicida 100% mexicano. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 18(1), 52-60.
- García-Ordaz, H. A., Chan-Cupul, W., Buenrostro-Nava, M. T., & Valadez-Ramírez, P. In vitro effectiveness of chemical fungicides against *Curvularia eragrostidis* (Henn) J. A. Mey, causal agent of leaf spot disease in pineapple. *Scientia Agropecuaria*. 12 (3); 429-434.
- García-Radillo, P., Montaña-Arias, N. M., Ignacio-Cruz, J. L., Santoyo-Pizano, G., & Sánchez-Yáñez, J. M. (2019). Crecimiento de *Zea mays* inoculado con *Bacillus cereus* y *Micromonospora echinospora* con fertilizante nitrogenado al 50%. *Journal of the Selva Andina Research Society*, 10(1), 16-24.
- Ghazanfar, M. U., Raza, M., Raza, W., & Qamar, M. I. (2018). *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: a review. *Plant Protection*, 2(3).
- Godoy, C. V., Xavier, S. A., Koga, L. J., y Molina, J. P. E. 2014. Resistencia a fungicidas en soja. Libro de resúmenes del 3° Congreso Argentino de Fitopatología. 43-47.
- Gómez-Jaimes, R., Villarreal-Barajas, T., Vázquez-López, A., Arteaga-Garibay, R. I., & Osuna-García, J. A. (2017). Actividad esporicida de la solución electrolizada con pH neutro en hongos de importancia poscosecha. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 8(SPE19), 3993-4007.

- Gómez-Leyva, J. F., Acosta, L. M., Muraira, I. L., Espino, H. S., Ramírez-Cervantes, F., & Andrade-González, I. (2008). Multiple shoot regeneration of roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) from a shoot apex culture system. *International Journal of Botany*, 4: 326-362.
- Guentzel, J. L., Lam, K. L., Callan, M. A., Emmons, S. A., & Dunham, V. L. (2010). Postharvest management of gray mold and brown rot on surfaces of peaches and grapes using electrolyzed oxidizing water. *International Journal of Food Microbiology*, 143(1-2), 54-60.
- Guentzel, J. L., Callan, M. A., Lam, K. L., Emmons, S. A., & Dunham, V. L. (2011). Evaluation of electrolyzed oxidizing water for phytotoxic effects and pre-harvest management of gray mold disease on strawberry plants. *Crop Protection*, 30(10), 1274-1279.
- Hassan, N., Elsharkawy, M. M., Shimizu, M., & Hyakumachi, M. (2014a). Control of root rot and wilt diseases of roselle under field conditions. *Mycobiology*, 42(4), 376-384.
- Hassan, N., Shimizu, M., & Hyakumachi, M. (2014b). Occurrence of root rot and vascular wilt diseases in roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Upper Egypt. *Mycobiology*, 42(1), 66-72.
- Hassan, M. K., & Dann, E. (2019). Effects of treatment with electrolyzed oxidizing water on postharvest diseases of avocado. *Agriculture*, 9(11), 241.
- Hernández, M. J. y Romero, C. S. 1990. Identificación del agente causal de “pata prieta de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*, L.), y pruebas de fungicidas para su control bajo condiciones de invernadero. *Revista Chapingo* (67-68)50-54.

- Hernández, M. S. R., Novo, S. M. A., Mesa, P. A., Ibarra, M., y Hernández, D. R. 2017. Capacidad de *Trichoderma* spp. como estimulante de la germinación en maíz (*Zea mays* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Revista de Gestión del Conocimiento y el Desarrollo Local 4(1):19-23.
- Hernández-Morales, J., Ayala-Escobar, V., Ordoñez-Joachin, M. M., y Alanis-Martínez, E. I. 2006. Etiología del síntoma ojo de gallo del follaje de jamaica en Guerrero, México", Memorias del XXXIII Congreso Nacional de Fitopatología, 93-93.
- Hernández, M. J., Alanis, M. I., y Valadez, M. E. 2004. Variabilidad genética de *Phytophthora parasítica* D., agente causal de la pata prieta de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) mediante RARD y RAMPnr. Memorias del XXXI Congreso Nacional de Fitopatología. Veracruz, Veracruz. Numero de resumen: L-70.
- Hirayama, Y., Asano, S., Watanabe, K., Sakamoto, Y., Ozaki, M., Okayama, K. O., & Tojo, M. (2016). Control of *Colletotrichum fructicola* on strawberry with a foliar spray of neutral electrolyzed water through an overhead irrigation system. Journal of General Plant Pathology, 82(4), 186-189.
- Hussain, T., Khan, A. A., & Khan, M. A. (2021). Biocontrol of soil borne pathogen of potato tuber caused by *Rhizoctonia solani* through Biosurfactant based *Bacillus* strain. Journal of Nepal Agricultural Research Council, 7, 54-66.
- Hussain, T., Khan, A. A., & Mohamed, H. I. (2022). Potential Efficacy of Biofilm-Forming Biosurfactant *Bacillus firmus* HussainT-Lab. 66 Against *Rhizoctonia solani* and Mass Spectrometry Analysis of its Metabolites. International Journal of Peptide Research and Therapeutics, 28(1), 1-15.

- Illa, C., Torassa, M., Pérez, M. A., & Pérez, A. A. (2020). Efecto de biocontrol y promoción del crecimiento en maní por *Trichoderma harzianum* y *Bacillus subtilis* en condiciones controladas y campo. *Revista mexicana de fitopatología*, 38(1), 119-131.
- Instituto Nacional de Investigaciones Forestal, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP). 2015. Agenda técnica Agrícola de Guerrero. En línea disponible: [http://www.inifap.gob.mx/Documents/agendas\\_tecnologicas/12\\_Guerrero\\_2015\\_SIN.pdf](http://www.inifap.gob.mx/Documents/agendas_tecnologicas/12_Guerrero_2015_SIN.pdf) (Consultado 23/01/22).
- Imathiu, S. M., Hare, M. C., Ray, R. V., Back, M., & Edwards, S. G. 2009. Evaluation of pathogenicity and aggressiveness of *F. langsethiae* on oat and wheat seedlings relative to known seedling blight pathogens. *European Journal of plantg pathology*, 126 (2), 203-2016.
- Jeyaseelan, E. C., Tharmila S., and Niranjan K. (2012) Antagonistic activity of *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. against *Pythium aphanidermatum* isolated from tomato damping off. *Archives of Applied Science Research* 4:1623-1627.
- Jung, E., Kim, Y. y Joo, N. (2013). Propiedades fisicoquímicas y actividad antimicrobiana de Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Revista de ciencia de la alimentación y la agricultura*, 93 (15), 3769-3776.
- Khaliq, A., Alam, S., Khan, I. U., Khan, D., Naz, S., Zhang, Y., & Shah, A. A. (2020). Integrated control of dry root rot of chickpea caused by *Rhizoctonia bataticola* under the natural field condition. *Biotechnology Reports*, 25, e00423.
- Leslie, J. F., y Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Ed. Wiley-Blackwel.

- Li, Y., Gu, Y., Li, J., Xu, M., Wei, Q. y Wang, Y. (2015). El agente de biocontrol *Bacillus amyloliquefaciens* LJ02 induce resistencia sistémica contra el oídio de las cucurbitáceas. *Fronteras en Microbiología*, 6, 883.
- Lixin, D., Chuan, H., Shumei, Z., Wei, C., & Jian, D. (2010). The Effect of Electrolyzed Water on Chinese Cabbage Seeds Germination [J]. *Journal of Agricultural Mechanization Research*, 2, 043.
- Lozano-Ramírez, N., Mezzalama, M., Carballo-Carballo, A., & Hernández-Livera, A. (2006). Efectos de fungicidas en la calidad fisiológica de la semilla de trigo harinero (*Triticum aestivum* L.) y su eficacia en el control de *Fusarium graminearum* Schwabe [*Gibberella zae* (Schwein.) Petch.] y *Bipolaris sorokiniana* (Sacc.) Shoemaker [*Cochliobolus sativus* S. Ito y Kurib.]. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 24(2), 115-121.
- Madden, L. V., & Campbell, C. L. (1990). Nonlinear disease progress curves. In *Epidemics of plant diseases* (pp. 181-229). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Marine, S. C., Newark, M. J., Korir, R. C., & Everts, K. L. (2016). Evaluation of rotational biopesticide programs for disease management in organic cucurbit production. *Plant disease*, 100(11), 2226-2233.
- Maya, N. R., Albarrán, T. E., Maya, N. J., Sains, P. J. M., Gallegos, A. J. A. 2009. Reacción de genotipos de frijol a *Fusarium* spp., y *Rhizoctonia solani* bajo condiciones de campo e invernadero. *Agric. Téc. Méx* vol.35 no.4 México. ISSN 0568-2517.
- Mehmood, S., Muneer, M. A., Tahir, M., Javed, M. T., Mahmood, T., Afridi, M. S., & Chaudhary, H. J. (2021). Deciphering distinct biological control and growth promoting potential of multi-stress tolerant *Bacillus subtilis* PM32

for potato stem canker. *Physiology and Molecular Biology of Plants*, 27(9), 2101-2114.

Michel-Aceves, A. C., Hernández-Morales, J., Toledo-Aguilar, R., Sabino-López, J. E., y Romero-Rosales, T. 2019. Capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. nativa contra *Phytophthora parasitica* y *Fusarium oxysporum* aislados de cultivos de jamaica. *Revista fitotecnia mexicana*. 42 (3), 235-241.

Miguel-Ferrer, L., Romero-Arenas, O., Andrade-Hoyos, P., Sánchez-Morales, P., Rivera-Tapia, J.A., and Fernández-Pavía, S. P. 2021. Antifungal activity of *Trichoderma harzianum* and *T. koningiopsis* against *Fusarium solani* in seed germination and vigor of Miahuateco chili seedlings. *Mexican Journal of Phytopathology* 39(2): 228-247.

Montejo, G. J., Campos, J. M., & Núñez, Y. R. (2014). Control biológico de enfermedades mediante el tratamiento de semillas de cucurbitáceas con rizobacterias promotoras del crecimiento de las plantas (PGPR). *Agrisost*, 20(1), 12-27.

Montero, T. V., Guerrero, A. B. Z., Anaya-López, J. L., Martínez-Martínez, T. O., Olvera, L. G., y González, Ch. M. M. 2013. Diversidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* (Kuhn) de Chile en México. *Rev. Mex. Cienc. Agríc* vol.4 no.7. ISSN 2007-0934.

Moon, J. H., Won, S. J., Maung, C. E. H., Choi, J. H., Choi, S. I., Ajuna, H. B., & Ahn, Y. S. (2021). *Bacillus velezensis* CE 100 inhibits root rot diseases (*Phytophthora* spp.) and promotes growth of Japanese cypress (*Chamaecyparis obtusa* Endlicher) seedlings. *Microorganisms*, 9(4), 821.

- Morales, A. A. F., Martínez, M. L., Ariosa, M. D., y Toledo, V. 2012. Detección y prácticas de manejo de la enfermedad pata prieta causada por *Phytophthora nicotinae* en el cultivo de tabaco. *Agroecología*. 7(1), 73-80.
- Morton, J. F. (1987). Roselle *Hibiscus sadariffa* L. in: Morton JF *Fruits of warm climates*, Miami FL. pp 281-286.
- Nwaukwu, I. A., & Ataga, A. E. (2012). FUNGI ASSOCIATED WITH *Hibiscus sabdariffa* LINN (YAKWA) SEED FROM PLATEAU STATE. *Scientia africana*, 11(1), 125-129.
- Odigie, I. P., Ettarh, R. R., & Adigun, S. A. (2003). Chronic administration of aqueous extract of *Hibiscus sabdariffa* attenuates hypertension and reverses cardiac hypertrophy in 2K-1C hypertensive rats. *Journal of ethnopharmacology*, 86(2-3), 181-185.
- Ortega-Acosta, S. Á., Hernández-Morales, J., Sandoval-Islas, J. S., Ayala-Escobar, V., Soto-Rojas, L., & Alejo-Jaimes, A. (2015a). Distribución y frecuencia de organismos asociados a la enfermedad " pata prieta" de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Guerrero, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 33(2), 173-194.
- Ortega-Acosta, S. A., Hernández-Morales, J., Ochoa-Martínez, D. L., Ayala-Escobar, V. (2015b). First Report of *Corynespora cassiicola* Causing Leaf and Calyx Spot on Roselle in Mexico. *Plant Disease* 99(7):1041. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/full/10.1094/PDIS-04-14-0438-PDN>.
- Ortega-Acosta, S. Á., Ochoa-Martínez, D. L., Leyva-Mir, S. G., Velasco-Cruz, C., Mora-Aguilera, J. A., & Hernández-Morales, J. (2019). Control químico del manchado de hojas y cálices de jamaica en Guerrero, México. *Summa Phytopathologica*, 45, 38-43.

- Ortellado, B. M. F., & Fuente, A. L. O. (2013). Compatibilidad *in vitro* de aislados nativos de *Trichoderma* spp. con fungicidas para el tratamiento de semillas. *Investigación agraria*, 15(1), 15-22.
- Ortiz-Martínez, L. E., Robles-Yerena, L., Leyva-Mir, S. G., Camacho-Tapia, M., & Juárez-Rodríguez, L. (2021). *Fusarium* sp., causal agent of vascular wilt in citrus and its sensitivity to fungicides. *Mexican Journal of Phytopathology*, 40(1).
- Pérez-García, A., Romero, D., & De Vicente, A. (2011). Plant protection and growth stimulation by microorganisms: biotechnological applications of *Bacilli* in agriculture. *Current opinion in biotechnology*, 22(2), 187-193.
- Pérez-Torres, B. C. 2009. Entomofauna asociada el cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en el Municipio de Chiautla, Puebla. *Acta Zoológica Mexicana* 25 (2): 239-247.
- Poulsen, K. 2000. Análisis de semillas. Técnicas para la escarificación de semillas forestales. Serie técnica. Manual técnico. 36, 1.
- Qiu, Y., Yan, H. H., Sun, S. M., Wang, Y. Q., Zhao, X. R., & Wang, H. Y. (2022). Use of *Bacillus velezensis* SDTB022 against tobacco black shank (TBS) and the biochemical mechanism involved. *Biological Control*, 165, 104785.
- Ramdial, H., Hosein, F., Rampersad, S. N. 2016. First Report of *Fusarium incarnatum* Associated With Fruit Disease of Bell Peppers in Trinidad. *Plant Disease*. Vol., 100. Núm. 3. Pág. 5526. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/10.1094/PDIS-05-15-0550-PDN>.
- Ramos, S. A. R., Buendía, J. A. C., & Orejel, J. C. R. (2018). Efecto de la Solución Electrolizada de Superoxidación con pH neutro sobre ovoproductos

líquidos contaminados con *Escherichia coli* O157: H7. *Avances de Investigación en Inocuidad de Alimentos*, 1(1).

Reyes-Tena, A., Rodríguez-Alvarado, G., Santillán-Mendoza, R., Díaz-Celaya, M., & Fernández-Pavía, S. P. (2019). Marchitez causada por *Fusarium solani* en chile chilaca (*Capsicum annuum* L.) en Michoacán. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 37(1), 43-47.

Reyes, F. C., Quiroz, D. C., Ceja, J. E. S., Sánchez, A. R., & Reyes, J. T. S. (2022). Efectos del pretratamiento con *Trichoderma* y *Bacillus* en la germinación de semillas de *Agave victoriae-reginae* T. Moore. *Revista Mexicana de Ciencias Forestales*, 13(69), 56-72.

Romero-Rodríguez, J. A., Rangel Lucio, J. A., Rojas-Ramos M., Rodríguez-Guerra, R., Robles-Yerena L. 2013. IDENTIFICACIÓN Y PATOGENICIDAD DE HONGOS EN SEMILLA DE PAPAYA (*Carica papaya* L.). *Ciencia y Tecnol. Agrop. México*. Vol.1, Núm. 2: 12-19 (2013).

Ruiz-Ramírez, R., Hernández-Morales, J., Ayala-Escobar, V., Soto-Rojas, L., Leyva-Mir, S. G., & Hernández-Ruiz, J. (2015). Hongos asociados a Cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) deshidratados y almacenados en Guerrero, México. *Revista Mexicana de fitopatología*, 33(1), 12-30.

Salazar-González, C., Vergara-Balderas, F. T., Ortega-Regules, A. E., & Guerrero-Beltrán, J. Á. (2012). Antioxidant properties and color of *Hibiscus sabdariffa* extracts. *International Journal of Agriculture and Natural Resources*. 39 (1), 79-90.

Salgado-Escobar, I., Hernández-Rodríguez, G., López, Y. D. C. S., Ugarte, M. J. M., & Ramírez, D. G. (2020). Eficacia de métodos de desinfección y los

efectos sobre las propiedades nutraceuticas en cilantro y fresa. *Revista mexicana de ciencias agrícolas*, 11(2), 327-337.

Santana-Baños, Y., Hernández, A. A., Guamche, L. H., Regalado, Y. R., & del Busto-Concepción, A. (2021). Respuesta de plántulas de tomate a la aplicación de *Trichoderma viride* y extracto acuoso de nim. *Manglar*, 18(4), 375-379.

Saravanakumar, K., Sathiyaseelan, A., Mariadoss, A. V. A., Chelliah, R., Shin, S., Park, S., & Wang, M. H. (2021). Slightly acidic electrolyzed water combination with antioxidants and fumaric acid treatment to maintain the quality of fresh-cut bell peppers. *LWT*, 147, 111565.

SAS, Institute. 2013. SAS User's Guide: Statistics, Version 9.4 Second Edition. SAS Institute. Cary, NC.

Sayago-Ayerdi, S. G., & Goñi, I. (2010). *Hibiscus sabdariffa* L: Fuente de fibra antioxidante. *Archivos latinoamericanos de nutrición*, 60(1), 79-84.

Syngenta. 2017. Tecto 60. Ficha técnica. [https://www.syngenta.com.mx/sites/g/files/zhg501/f/media/2019/09/09/tecto\\_60.pdf?token=1568059886](https://www.syngenta.com.mx/sites/g/files/zhg501/f/media/2019/09/09/tecto_60.pdf?token=1568059886). Consultado el 20/01/2022.

Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2020. Cierre de Ciclo de producción agrícola. Fuente: <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>. Consultado 23/01/2022.

Singh, S., Balodi, R., Meena, P. N., & Singhal, S. (2021). Biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*, *Bacillus subtilis* and *Pseudomonas fluorescens* against *Meloidogyne incognita*, *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani*. *Indian Phytopathology*, 74(3), 703-714.

- Sukwattanasinit, T., Burana-Osot, J., & Sotanaphun, U. (2016). Simple and rapid spectrophotometric method for quality determination of roselle (*Hibiscus sabdariffa*). Thai Journal of Pharmaceutical Sciences (TJPS), 40(4).
- Trujillo-Tapia, M. N., & Ramírez-Fuentes, E. (2015). Fitopatógenos asociados al manchado del cáliz de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.). *Revista Iberoamericana de Ciencias*, 2(4), 57-62.
- Tsai, P. J., McIntosh, J., Pearce, P., Camden, B., & Jordan, B. R. (2002). Anthocyanin and antioxidant capacity in Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) extract. *Food research international*, 35(4), 351-356.
- Valencia-Botin, A. J. 2002. Etiología de la enfermedad “ojo de pescado” en pitahaya (*Hylocereus undatus* H). Tesis de maestría en ciencias. Colegio de postgraduados, Montecillo, edo., de México. 62p.
- Varela, S. A., & Arana, V. (2011). Latencia y germinación de semillas. Tratamientos pregerminativos. *Sistemas Forestales Integrados*, 3, 1-10.
- Vásquez-López, A., Villarreal-Barajas, T., & Rodríguez-Ortiz, G. (2016). Eficacia del agua electrolizada neutra sobre la incidencia de pudrición fúngica en frutos de tomate (*Solanum lycopersicum* L.). *Revista de protección alimentaria*, 79 (10), 1802-1806.
- Vatankhah, M., Saberi-Riseh, R., Moradzadeh Eskandari, M., & Afzali, H. (2019). Evaluation of some fungicides for the control of *Fusarium* dry rot of potato. *Journal of Crop Protection*, 8(3), 275-285.
- Veena, G. A., and Reddy, N. P. E. (2014) Mycoparasitism of *Trichoderma* spp. On *Rhizoctonia bataticola*, the causal agent of dry root rot of chickpea. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 5:195196.

- Vera, C., Madariaga, R., & Moya-Elizondo, E. (2014). Uso de fluquinconazole como tratamiento a la semilla para el control de mal del pie (*Gaeumannomyces graminis* var. *tritici*) en trigo. *Chilean Journal of Agriculture and Animal Sciences*, 30.
- Wang, X., Wang, L., Wang, J., Jin, P., Liu, H. y Zheng, Y. (2014). La resistencia inducida por *Bacillus cereus* AR156 a *Colletotrichum acutatum* se asocia con la preparación de las respuestas de defensa en frutos de níspero. *PLoS One*, 9 (11), e112494.
- Whangchai, K., Saengnil, K., Singkamanee, C., & Uthaibutra, J. (2010). Effect of electrolyzed oxidizing water and continuous ozone exposure on the control of *Penicillium digitatum* on tangerine cv. 'Sai Nam Pung' during storage. *Crop Protection*. 29(4), 386-389.
- Whangchai, K., & Uthaibutra, S. K. J. (2017). Effect of acidic electrolyzed oxidizing water treatments on the control of postharvest disease and pathogenesis related protein production in pineapple fruit. *Journal of Advanced Agricultural Technologies* Vol, 4(3).
- Yi, Y., Luan, P., Liu, S., Shan, Y., Hou, Z., Zhao, S., & Li, R. (2022). Efficacy of *Bacillus subtilis* XZ18-3 as a Biocontrol Agent against *Rhizoctonia cerealis* on Wheat. *Agriculture*, 12(2), 258.
- Zárate-Ramos, A., Quero-Carrillo, A. R., Miranda-Jiménez, L., Nava-Díaz, C., & Robles-Yerena, L. (2021). Fungicides and *Bacillus subtilis* against fungi isolated from commercial seed of Side oats grama (*Bouteloua curtipendula*). *Mexican Journal of Phytopathology*, 40(1).