

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL



Protección microbiológica contra hongos
fitopatógenos en *Dahlia coccinea*

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

Presenta:

PAULINA CERDA SÁNCHEZ

Bajo la supervisión de:

Dr. SAMUEL RAMÍREZ ALARCÓN

Dr. LUIS FRANCISCO SALOMÉ ABARCA



APROBADA



Chapingo, Estado de México, junio 2026

**PROTECCIÓN MICROBIOLÓGICA CONTRA HONGOS
FITOPATÓGENOS EN *Dahlia coccinea***

Tesis realizada por Paulina Cerda Sánchez bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCION VEGETAL

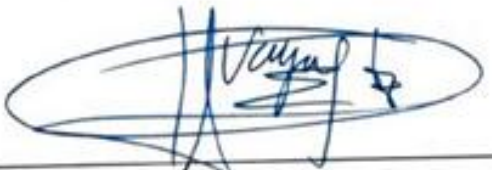
DIRECTOR:


DR. SAMUEL RAMÍREZ ALARCÓN

CODIRECTOR:


DR. LUIS FRANCISCO SALOMÉ ABARCA

ASESOR:


DR. MATEO VARGAS HÉRNANDEZ

ASESOR:


M.C. JOSÉ MERCED MEJÍA MUÑOZ

ÍNDICE

DEDICATORIA.....	VI
AGRADECIMIENTOS	VII
DATOS BIOGRÁFICOS.....	VIII
LISTA DE FIGURAS	IX
LISTA DE TABLAS.....	XII
RESUMEN GENERAL	XIII
ABSTRACT.....	XIV
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1. JUSTIFICACIÓN	2
1.2. OBJETIVO GENERAL.....	2
1.2.1. OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	3
1.3. HIPÓTESIS	3
CAPÍTULO 2. REVISIÓN DE LITERATURA	7
2.1. Dalia.....	7
2.1.1. Origen y distribución	7
2.1.2. Descripción botánica de la Dalia	8
2.1.3. Clasificación taxonómica del género <i>Dahlia</i>	10
2.1.4. Condiciones óptimas de cultivo	10
2.2. Usos de <i>Dahlia coccinea</i> Cav.....	11
2.2.1. Producción de inulina.....	11
2.3. Hongos fitopatógenos en <i>Dahlia coccinea</i>	12
2.3.1. <i>Botrytis</i>	12
2.3.2. <i>Alternaria</i>	13
2.3.3. <i>Fusarium</i>	13
2.4. Protección microbiológica como estrategia de control	14
2.4.1. Hongos endófitos	14
2.4.2. Microorganismos antagonistas.....	15
2.5. LITERATURA CITADA	16
CAPÍTULO 3. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FITOPATOGENOS ASOCIADOS A <i>Dahlia</i> spp.....	22
3.1. INTRODUCCIÓN	23
3.2. MATERIALES Y MÉTODOS	24
3.2.1. Recolección de muestras.....	24

3.2.2. Aislamiento e identificación de los fitopatógenos	25
3.2.3. Purificación de aislados	25
3.2.4. Caracterización morfológica de los aislados fúngicos	25
3.2.5. Identificación molecular de los aislados fúngicos	26
3.2.6. Análisis filogenéticos.....	27
3.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	28
3.3.1. Identificación visual de síntomas de enfermedades fúngicas en <i>Dahlia</i> cultivada en campo.....	28
3.3.2. Caracterización cultural y microscópica de los aislados fúngicos.....	30
3.3.3. Identificación molecular y análisis filogenético	33
3.4. CONCLUSIÓN	36
3.5. LITERATURA CITADA.....	37
CAPÍTULO 4. ACTIVIDAD ANTAGÓNICA <i>in vitro</i> DE HONGOS BENÉFICOS CONTRA <i>Fusarium oxysporum</i> AISLADO del CULTIVO DE DALIA (<i>Dahlia</i> spp.)	42
4.1. INTRODUCCIÓN	43
4.1. MATERIALES Y MÉTODOS	45
4.1.1. Prueba de patogenicidad	45
4.1.2. Confrontamientos duales	46
4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
4.2.1. Prueba de patogenicidad	48
4.2.2. Confrontamientos duales	49
4.3. CONCLUSIONES.....	52
4.4. LITERATURA CITADA	53
CAPÍTULO 5. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO, DESARROLLO Y PATRONES DE INULINA EN <i>Dahlia coccinea</i> EN RESPUESTA A LA INTERACCIÓN DE <i>Fusarium oxysporum</i> Y <i>Trichoderma harzianum</i>	55
5.1. INTRODUCCIÓN	56
5.2. MATERIALES Y MÉTODOS	58
5.2.1. Material vegetal.....	58
5.2.2. Obtención del inóculo de <i>Trichoderma harzianum</i>	59
5.2.3. Obtención del inóculo de <i>Fusarium oxysporum</i>	60
5.2.4. Evaluación periódica de los parámetros de crecimiento de las plantas	60
5.2.5. Extracción de inulina	61
5.2.6. Espectrometría infrarroja media con transformada de Fourier acoplada a reflectancia total atenuada (FTMIR-ATR)	61

5.2.7. Cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC)	62
5.2.8. Procesamiento de datos	62
5.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES	63
5.3.1. Análisis de los parámetros de crecimiento en <i>Dahlia coccinea</i>	63
5.3.2. Caracterización infrarroja del perfil de inulinas en raíces tuberosas de <i>Dahlia coccinea</i> 70	
5.4. CONCLUSIONES.....	73
5.5. LITERATURA CITADA	74

DEDICATORIA



“A **Lucky**, por ser mi fiel compañero en toda esta aventura. No hay recuerdo en el que no estés trasnuchando conmigo o ronroneando al despertar de un nuevo día.

Por enseñarme el verdadero significado del amor y la lealtad en medio de la tempestad.

Gracias, fiel compañero de vida”.

AGRADECIMIENTOS

A la **Secretaría de Ciencia, Humanidades, Tecnología e Innovación (SECIHTI)** por otorgarme el financiamiento para realizar mis estudios de maestría en ciencias.

A la **Universidad Autónoma Chapingo en especial al Programa de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal** por la oportunidad otorgada de pertenecer a esta gran institución.

A **todo mi comité asesor**; especialmente al **Dr. Luis Francisco Salomé**, por interesarse en el cultivo de la dalia y por brindarme la oportunidad de trabajar con este ornamento; al **Dr. Mateo Vargas Hernández** y a la **Dra. Lupita**, por su apoyo y su asesoría brindada. Finalmente, al **M.C. José Merced Mejía**, por su enseñanza y guía en la producción de dalias. A cada uno de ustedes, gracias.

A **Izamar Cerda Sánchez**, por ser siempre mi contacto de emergencia, por escuchar a distancia todas mis historias y siempre apoyarme en este proyecto, te quiero mucho Isabel.

A toda **mi familia**, especialmente a mi **Mamá, Ramona Sánchez González** por todas tus bendiciones y fortaleza que me dabas cada que yo tenía que abordar un autobús para cumplir esta meta.

A **Rubén Ruvalcaba Ramírez**, por toda la ayuda brindada y las grandes experiencias vividas como amigos y compañeros de la maestría.

A **Isis Montalvo**, por llegar a llenarme de fe y positividad al culmino de este proceso gracias, amiga.

A mis dos personas importantes **Stephania (Fany)** y **Josue Natan Ornes Olmedo** que me apoyaron en ciertas actividades durante este proceso, por el cariño, la amistad, y el gusto de conocernos, una amistad para toda la vida.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre: Paulina Cerda Sánchez

Fecha de nacimiento: 23 de diciembre de 1996

Lugar de nacimiento: Celaya, Guanajuato.

CURP: CESP961223MGTRNL04

Profesión: Ing. Biotecnólogo

Cedula profesional: 14776992



FORMACIÓN ACADÉMICA PROFESIONAL

Egresada de la Universidad de Guanajuato en el año 2021 en donde para obtener el título de Ingeniero Biotecnólogo realizó la tesis denominada “Control biológico de la marchitez del chile *Capsicum annuum* mediante microorganismos benéficos”. Posteriormente laboró por tres años en el INIFAP campo experimental bajo en el laboratorio de Biotecnología en el aislamiento e identificación de bacterias. Para finalmente en el año 2024 ingresar a la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Mapa de la distribución de <i>Dahlia coccinea</i> en la república mexicana	8
Figura 2. Morfología de <i>Dahlia coccinea</i>.....	9
Figura 3. Tejido vegetal aéreo sintomático recolectado del cultivo de dalia.	
a) Hoja de dalia con manchas blancas, b) Envés de la hoja con pústulas naranjas polvorientas, c) Lesiones de tipo circular necróticas, d) Botón floral necrosado y e) Perdidas de turgencias en los capítulos florales y f) Raíz tuberosa con micelio algodonoso blanco.....	29
Figura 4. Características macroscópicas y microscópicas del primer aislado de dalia cultivado en medio PDA a). Crecimiento micelial algodonoso blanco-rosado. b) Macro y micro conidios observados al 10x c) Macro y micro conidios observados al 40x.....	30
Figura 5. Características macroscópicas y microscópicas del segundo aislado de dalia cultivado en medio PDA (a). Crecimiento micelial algodonoso de color gris verdoso, (b) Conidios observados al microscopio a 10X (c) Conidios observados al microscopio a 40x.....	31
Figura 6. Crecimiento colonial y estructuras de reproducción de la segunda cepa aislada del cultivo de dalia. a). Crecimiento micelial algodonoso de color gris oscuro con tonalidades café (b) Conidióforos observados al microscopio a 10X (c) Conidios observados al microscopio a 40x.	32
Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa 2%, muestra los amplicones obtenidos por PCR de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) utilizando los primers ITS4/ITS5 de aproximadamente 600 pb. Carril 1 marcador de peso molecular de 100 pb. Carril 2 (<i>Alternaria</i> sp.), carril 3 (<i>Fusarium</i> sp.), carril 4 (<i>Botrytis</i> sp.) y carril 5 testigo negativo.	33
Figura 8. Árbol filogenético para el aislado <i>Fusarium oxysporum</i> (PZ234701). Realizado por el método Máxima Verosimilitud y el modelo de Kimura dos parámetros (1980), basado en secuencias de ITS con 1000 réplicas de Bootstrap.....	34

Figura 9. Árbol filogenético para el aislado <i>Alternaria alternata</i> (PZ234700). Realizado por el método Máxima Verosimilitud y el modelo Kimura dos parámetros (1980), para el fragmento de ITS con 1000 réplicas.....	34
Figura 10. Árbol filogenético para el aislado <i>Botrytis cinerea</i> (PZ234702). Se utilizo el método Máxima Verosimilitud y el modelo de Jukes-Cantor (1969) basado en secuencias de ITS con 1000 réplicas.....	35
Figura 11. Bioensayo para las confrontaciones duales entre <i>Fusarium oxysporum</i> y los antagonistas.	47
Figura 12. Evaluación del Postulado de Koch en raíces tuberosas de <i>Dahlia coccinea</i>. a) Crecimiento micelial blanquecino sobre raíces tuberosas del tratamiento 3, a las 24 h DDI, las cuales fueron inoculadas mediante la técnica de inmersión a una concentración de 1×10^7 conidios/ml b) Raíces tuberosas del testigo inoculadas con Tween 80 mediante la técnica de inmersión, las cuales no presentan lesiones después de 24 h DDI de inoculación.”	48
Figura 13. Evaluaciones del antagonismo dual entre la cepa <i>Fusarium oxysporum</i> y los antagonistas.	49
Figura 14. Diferencia real absoluta de altura entre cada uno de los tratamientos evaluados.	63
Figura 15. Promedios obtenidos para la variable del diámetro del tallo en cada uno de los tratamientos.	64
Figura 16. Promedio del número de flores para cada tratamiento en el cultivo de la <i>Dahlia coccinea</i>.	65
Figura 17. Flores representativas de cada tratamiento en respuesta al periodo experimental. a) Testigo, b) <i>Fusarium</i> , c) <i>Trichoderma</i> , d) Mix.....	66
Figura 18. Promedio del número de botones para cada tratamiento en el cultivo de la <i>Dahlia coccinea</i>	66
Figura 19. Flores representativas de cada tratamiento en respuesta al periodo experimental. a) Testigo, b) <i>Fusarium</i> , c) <i>Trichoderma</i> , d) Mix.....	67
Figura 20. Espectros infrarrojos medio de extractos de inulina extraídos de raíces tuberosas de <i>Dahlia coccinea</i> inoculadas individualmente con	

<i>Fusarium oxysporum</i>, <i>Trichoderma</i> y la interacción de <i>Isaria fumosorosea</i> y <i>Beauveria bassiana</i>.	70
Figura 21. Análisis multivariado y por cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC) de extractos inulina obtenidos de raíces tuberosas de <i>Dahlia coccinea</i> inoculadas individualmente con <i>Fusarium</i>, <i>Trichoderma</i> y la interacción de ambos hongos. A: modelado suave independiente de analogía de clases (SIMCA) de extractos inulina obtenidos de raíces tuberosas de <i>Dahlia coccinea</i> (barras negras) inoculadas individualmente con <i>Trichoderma</i> (barras rojas), <i>Fusarium</i> (barras azules) y la interacción de ambos hongos (barras verdes); B: cromatogramas de HPTLC de extractos de inulina obtenidos de raíces tuberosas de <i>Dahlia coccinea</i> (Te) inoculadas individualmente con <i>Trichoderma</i> (Tr), <i>Fusarium</i> (Fu) y la interacción de ambos hongos (In). St = mezcla de estándares; 1, 1-cestosa; 1-nistosa; 1-furanosilnistosa. Ra = rafilina y Da = muestra comercial de inulina de <i>Dahlia sp</i>	72

LISTA DE TABLAS

Tabla 1. Secuencias de referencia utilizadas en el análisis molecular.	
Secuencias correspondientes a la región ITS 4–ITS 5 empleadas para la comparación del aislado en estudio con especies de <i>Fusarium oxysporum</i> , <i>Alternaria</i> sp. y <i>Botrytis</i> sp., incluyendo su número de acceso y referencia bibliográfica.....	27
Tabla 2. Diseño experimental para pruebas de patogenicidad.	46
Tabla 3. Comparación de medias en la biomasa	68

PROTECCIÓN MICROBIOLÓGICA CONTRA HONGOS FITOPATÓGENOS EN

Dahlia coccinea

RESUMEN GENERAL

La dalia, flor nacional de México, es un recurso fitogenético de gran importancia cultural y ornamental por su diversidad en formas, tamaños y colores. Actualmente, su producción se limita principalmente a dos estados, lo que pone en riesgo su conservación. Además, la dalia se ve afectada por enfermedades causadas por fitopatógenos, entre los que destacan especies del género *Fusarium*, que causan daños severos en raíces tuberosas y pérdidas significativas. Por ello, el objetivo de este estudio fue evaluar el potencial de microorganismos benéficos como *Trichoderma harzianum*, *Beauveria bassiana*, *Metarrizium* sp. e *Isaria fumosorosea* como agentes de control biológico alternativos al uso de fungicidas, así como sus efectos en parámetros de crecimiento, desarrollo, calidad floral y producción de inulina en *Dahlia coccinea*. Se recolectaron muestras de la parte aérea de plantas sintomáticas de dos sitios de producción: en Huamantla, Tlaxcala y Texcoco, Estado de México. Se aislaron, purificaron e identificaron cepas de *Alternaria* sp., *Botrytis* sp y *Fusarium oxysporum* mediante criterios morfológicos, moleculares y de patogenicidad para este último. Posteriormente se evaluaron los parámetros de crecimiento y desarrollo, incluida la producción de inulina en *D. coccinea*, mediante evaluaciones periódicas para determinar la interacción entre *F. oxysporum* y *T. harzianum* a campo abierto. Aunque los resultados presentaron variabilidad asociada a la variedad utilizada y a condiciones ambientales, se observó una respuesta positiva de *T. harzianum* frente a *F. oxysporum* principalmente en el incremento de altura de la planta el desarrollo de raíces secundarias de la planta. Sin embargo, su uso disminuyó la producción de inulina en raíces tuberosas. Este estudio constituye el primer reporte de microorganismos fitopatógenos en dalia. Asimismo, demuestra que los agentes de control biológico, aunque generalmente benéficos, pueden generar efectos negativos en el cultivo, por lo que es necesario sistematizar su uso y evitar su aplicación indiscriminada en campo.

Palabras clave: *Dahlia coccinea*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma harzianum*, control biológico.

Tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo.

Autor: Paulina Cerda Sánchez

Director de Tesis: Dr. Samuel Ramírez Alarcón

MICROBIOLOGICAL PROTECTION AGAINST PLANT-PATHOGENIC FUNGI

IN *Dahlia coccinea*

ABSTRACT

Dahlia, Mexico's national flower, represents a phylogenetic resource of considerable cultural and ornamental importance due to its wide diversity of forms, sizes, and colors. Nowadays, its current production is restricted to only two states within the country, placing the conservation and continuity of this species at risk. Furthermore, dahlia is affected by various diseases caused by phytopathogens, especially from species of the genus *Fusarium*, as they induce severe damage to tuberous roots and can result in significant yield losses. In this context, the objective of the present study was to evaluate the potential of beneficial microorganisms, *Trichoderma harzianum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium* sp., and *Isaria fumosorosea*, as biological control agents and as an alternative to fungicide use, also for their effects on growth parameters, plant development, floral quality and inulin production in *Dahlia coccinea*. To achieve this, symptomatic aerial plant tissues were collected at two production sites: Huamantla, Tlaxcala, and Texcoco, State of Mexico. Isolates of *Alternaria* sp., *Botrytis* sp., and *Fusarium oxysporum* were isolated, purified, and identified using morphological, molecular, and, for the latter, pathogenicity criteria. Subsequently, growth and development parameters, including inulin production in *Dahlia coccinea*, were evaluated through periodic assessments to determine the interaction between *Fusarium oxysporum* and *Trichoderma harzianum* under open-field conditions. Although the results exhibited variability associated with cultivar differences and environmental conditions, a positive response to *Trichoderma harzianum* was observed against *Fusarium oxysporum*, mainly in the increase in plant height and the development of secondary roots of the plant. However, its use decreased inulin production in tuber roots. This study constitutes the first report of phytopathogenic microorganisms associated with dahlia. It also demonstrates that biological control agents, although generally beneficial, can generate negative effects on cultivation, so it is necessary to systematize their use and avoid their indiscriminate application in the field.

Key words: *Dahlia coccinea*, *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma harzianum*, biological control.

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La dalia es una planta de gran importancia a nivel nacional como internacional, su nombre proviene del botánico sueco Andreas Dahl (Jiménez Mariña, 2015). El cultivo de la dalia tiene origen prehispánico, donde era conocida como “Flor de camote” o “xicamiti” derivado de xicami, en referencia a su raíz de tipo tuberosa. Es oficialmente reconocida como flor nacional de México a través de un decreto presidencial el 13 de mayo de 1963 (SEMANART, 2018). Con un aproximado de 43 especies silvestres endémicas de México (Sánchez et al., 2026) que pertenecen al grupo de plantas herbáceas perenes (Santana et al., 2016) de la familia Asteraceae (Carrasco et al., 2019). México cultiva esta planta como ornamental para macetas o como flor de corte (Mejía et al., 2020). Debido a la fascinación que genera esta planta en el mundo entero por su diversidad en formas, tamaño y color de sus flores. Además de poseer propiedades medicinales con un alto potencial para la alimentación y salud gracias a sus características nutricionales y farmacéuticas (Lara et al., 2014) que se encuentran en sus flores y sistema radical compuesto de raíces tuberosas. Dado que en este órgano se almacenan carbohidratos de reserva bajo la forma de inulina y otros fructanos (Santana et al., 2016). Sin embargo, la susceptibilidad que presentan los cultivos ornamentales ante los diversos organismos fitopatógenos (hongos, bacterias, virus y nematodos) puede ir desde afecciones leves hasta problemas graves. Entre estos organismos, los hongos fitopatógenos son los responsables más comunes de enfermedades en este tipo de plantas, afectando directamente su valor estético y el rendimiento de la producción (Toledo Perdomo, 2024).

Por lo tanto, es indispensable desarrollar estrategias para el control de las enfermedades; sin embargo, la agricultura tradicionalmente ha dependido del uso intensivo de productos químicos. No obstante, el empleo de microorganismos como agentes de control biológico surge como una alternativa sostenible y eficaz para el control de dichas enfermedades (Ibarra et al., 2006). Entre los organismos

más utilizados destacan hongos, bacterias, virus, insectos benéficos y algunos elicitores, los cuales actúan mediante diferentes mecanismos (Victoria Arrellano, 2015). Específicamente los hongos endófitos, los cuales pueden habitar en las plantas sin causar síntomas aparentes de enfermedad, generando una relación entre el endófito y su planta hospedera (Sánchez et al., 2013). De manera similar, existen los hongos antagonistas que resultan importantes para el control biológico de los fitopatógenos. Debido a que presentan diferentes mecanismos de acción que les permiten el control de los fitopatógenos presentes en el suelo (Infante et al., 2009). Por lo anterior, el objetivo principal de esta investigación fue evaluar el potencial de protección de microorganismos benéficos (*Trichoderma harzianum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium sp* e *Isaria fumosorosea*) contra hongos fitopatógenos y sus efectos sobre parámetros agronómicos en la producción de *Dahlia coccinea* y la producción de inulina en las raíces tuberosas.

Aunque las Dalias se caracterizan por su alto valor estético, este se ve amenazado por plagas y enfermedades. Estas pueden ser causadas por hongos, bacterias, virus y nematodos.

1.1. JUSTIFICACIÓN

Las plantas ornamentales tienen un gran valor económico en México. Tan solo en el 2023 los floricultores mexicanos produjeron 4,978 millones de flores generando un valor de 9 mil 36 millones de pesos (SIAP, 2024). Esto es posible debido a la amplia diversidad en cultivos ornamentales que posee México, de las cuales, algunas de ellas son endémicas; Destacando principalmente la dalia, una flor cuyo centro de origen es mexicano, donde los aztecas la domesticaron, cultivaron, y cruzaron, por ende, la evolución de la flora en nuestro país ha permitido la formación de más de 43 especies en forma natural (SEMARNAT, 2018). Sin embargo, a pesar de que la dalia sea considerada como flor nacional, en México se conoce poco sobre su manejo agronómico, usos y beneficios del cultivo. Por ende, es importante señalar que preservar la amplia diversidad genética que posee México es vital, dado que en ella se encuentran especies que se pueden adaptar a las nuevas condiciones climáticas adversas provocadas por el cambio climático en la actualidad; así como tolerantes a plagas y enfermedades (SADER, 2017). Por tal razón, el objetivo general fue evaluar el potencial de protección de microorganismos benéficos (*Trichoderma harzianum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium* sp. e *Isaria fumosorosea*) contra hongos fitopatógenos y sus efectos sobre los parámetros de desarrollo y calidad en la producción de *Dahlia coccinea*.

1.2 OBJETIVO GENERAL

Evaluar el potencial de protección de microorganismos benéficos (*Trichoderma harzianum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium* sp. e *Isaria fumosorosea*) contra hongos fitopatógenos y sus efectos sobre parámetros agronómicos en la producción de *Dahlia coccinea* Cav.

1.2.1 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Aislar e identificar los fitopatógenos presentes en el cultivo de *Dalia* mediante la recolección y análisis de muestras vegetales con síntomas visibles de enfermedad, con el fin de generar un registro que contribuya al conocimiento fitosanitario de este cultivo
- Evaluar el potencial antagónico *in vitro* de microorganismos en confrontaciones duales contra los diferentes fitopatógenos aislados del cultivo de *dalia* con el fin de identificar posibles agentes de control biológico.
- Evaluar parámetros de desarrollo y calidad de flor de *D. coccinea* mediante evaluaciones periódicas para determinar la respuesta y la interacción de los fitopatógenos y microorganismos antagonistas.
- Caracterizar el perfil de inulinas en las raíces tuberosas de *D. coccinea* en respuesta a la infección por los fitopatógenos y la aplicación de microorganismos benéficos antagonistas y la interacción de ambos.

1.3. HIPÓTESIS

Al menos una cepa con actividad antagonista, seleccionada mediante las pruebas de confrontación dual, reducirá la incidencia de hongos fitopatógenos y mejorará los parámetros de desarrollo y calidad de flor en la producción de *Dahlia coccinea* Cav.

LITERATURA CONSULTADA

- Carrasco Ortiz, M., Muguía Lino, G., Castro Castro, A., Vargas Amado, G., Harker, M., & Rodríguez, A. (2019). Riqueza, distribución geográfica y estado de conservación del género *Dahlia* (Asteraceae) en México. *Acta Botánica Mexicana* (126). doi:<https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1354>
- Ibarra, J. E., Del Rincon Castro, M. C., Galindo, E., Patiño, M., Serrano, L., García, R., . . . Bravo, A. (2006). Los microorganismos en el control biológico de insectos y fitopatógenos. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(2), 113-120. Obtenido de https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/94636031/mi062k-libre.pdf?1669075337=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DLos_microorganismos_en_el_control_biolog.pdf&Expires=1744316042&Signature=ICoJJe028oIJ2g5qOUR44Z1VmN-v1M0ep9C95KYx~DOni-IIMXi8vuk
- Infante, D., Martínez, B., González, N., & Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de trichoderma frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Vegetal*, 24(1), 14-21. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522009000100002&lng=es&tlng=es.
- Jiménez Mariña, L. (2015). El cultivo de la Dalia. *Cultivos Tropicales*, 36(1), 107-115. Obtenido de Cultivos: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362015000100014&lng=es&tlng=en
- Lara Cortés, E., Martín Belloso, O., Osorio Díaz, P., Barrera Necha, L. L., Sánchez López, J. A., & Bautista Baños, S. (2014). Antioxidant capacity, nutritional and functional composition of edible dahlia flowers. *Revista Chapingo. Serie Horticultura*, 20(1), 101-116. doi:<https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2013.07.024>

- Mejía Muñoz, J. M., De Luna García, I., Jiménez Ruiz, E. F., Sosa Montes, E., Flores Espinosa, C., Treviño De Castro, G., & Reyes Santiago, J. (2020). Investigación sobre la dalia, la flor nacional de México. doi:10.17660/ActaHortic.2020.1288.15
- Santana Legorreta, S., Villanueva Carvajal, A., Morales Rosales, E. J., Laguna Cerda, A., & Dominguez Lopez, A. (2016). Extracción y evaluación de inulina a partir de dalias silvestres mexicanas (*Dahlia coccinea* Cav.). *Phyton*, 85(1), 63-70. Obtenido de https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572016000100009&lng=es&tlng=es.
- SADER. (29 de Marzo de 2017). Conservación de las especies endémicas de México Obtenido Gobierno de México : <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/especies-endemicas-de-mexico-patrimonio-milenario>
- Sánchez Chávez, E., Munguía Lino, G., López Pérez, J. D., & Morales Ramírez, S. (2026). Mas allá de los ornamnetales: Etnobotánica de la Dahlia Mexicana (Asteraceae), La Flor Nacional de México. *Sociedad Botanica de México* 1941, 104(2), 447-465. doi: 10.17129/botsoci.3827
- Sánchez Fernández, R. E., Sánchez Ortiz, B. L., Sandoval Espinosa, Y. K., Ulloa Benítez, Á., Armendáriz Guillén, B., García Méndez, M. C., & Macías Rubalcava, M. L. (2013). Endophytic fungi: a potential source of bioactive secondary metabolites and their application in agriculture and medicine. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 16(2), 132-146. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2013000200006&lng=es&tlng=es.
- SEMANART. (2018). Dalia, flor representativa de México. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Obtenido de https://www.gob.mx/semarnat/articulos/dalia-flor-representativa-de-mexico?idiom=es&utm_source=chatgpt.com
- SIAP. (Mayo de 2024). Gobierno de México. Obtenido de Ornamentos La belleza tambien se expresa en datos:

https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/914248/Brochure_Ornamentos_Mayo_2024.pdf

Toledo Perdomo, C. (2024). Phytopathogenic diseases in ornamental plants of importance for export in Guatemala. *Revista Ciencia Agraria*, 3(1), 16-35. doi:<https://doi.org/10.35622/j.rca.2024.01.002>

Victoria Arrellano, A. D. (2015). Control biológico de la marchitez del chile (*capsicum annum* L.) causada por *Phytophthora capsici* mediante cepas nativas de *Trichoderma* spp. de suelos productores. Texcoco: Institucion de Enseñanza e Investigacion en Ciencias Agricolas.

CAPÍTULO 2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 . Dalia

La dalia es una planta de gran importancia tanto a nivel nacional como mundial, su nombre se le atribuye por el botánico sueco Andreas Dahl (Jiménez Mariña, 2015). Esta planta es cultivada tanto para maceta como para flor de corte o jardín (Mejía et al., 2020). Este cultivo posee gran singular belleza por su variedad de colores, formas y tamaño de sus flores, además de su fácil propagación (Santana, 2017) además de ser considerada como fuente de alimento, medicinal y ornamental (Mejía et al., 2020).

En la historia mexicana de la dalia se menciona que desde tiempos prehispánicos se le conocía como “Flor de camote” o “xicamiti” De xicami, jícama, posiblemente por su raíz tuberosa o en forma de bulbos, pero también acocoxóchitl, que significa “tallos huecos con agua” (SEMANART, 2018). Siendo el presidente Adolfo López Mateos quien designó por decreto a la dalia como Flor Nacional de México el 13 de mayo de 1963, a petición de la Sociedad Botánica de México sin embargo hasta el 2007 la Sociedad Mexicana de la Dahlia instauró el 4 de agosto como Día Nacional de la Dalia, con el fin de promover el cultivo de esta hermosa flor que representa a México en el mundo (Asociación Mexicana de la Dalia o Acocoxochitl, A.C., 2022).

2.1.1 Origen y distribución

Este género está formado por al menos 43 especies silvestres endémicas de México, de las cuales, solo cuatro especies constituyen la base genética con la que se ha desarrollado la dalia cultivada (Sánchez et al., 2026). Este género se refiere a un conjunto de especies de plantas herbáceas perenes (Santana et al., 2016) que pertenecen a la familia Asteraceae la cual es una de las familias con mayor diversidad de plantas nativas en nuestro país. Todas las especies de la dalia crecen en México, pero *D. australis*, *D. coccinea* y *D. imperialis* se extienden hasta América Central y Colombia (Carrasco et al., 2019).

En México están registradas las diferentes especies en 26 estados dentro de los cuales Oaxaca, Hidalgo, Guerrero, Michoacán y Querétaro concentran la mayor diversidad. En estados como En Aguascalientes, Colima, Sinaloa y Sonora solo crece *D. coccinea* (Carrasco et al., 2019) (Figura 1).

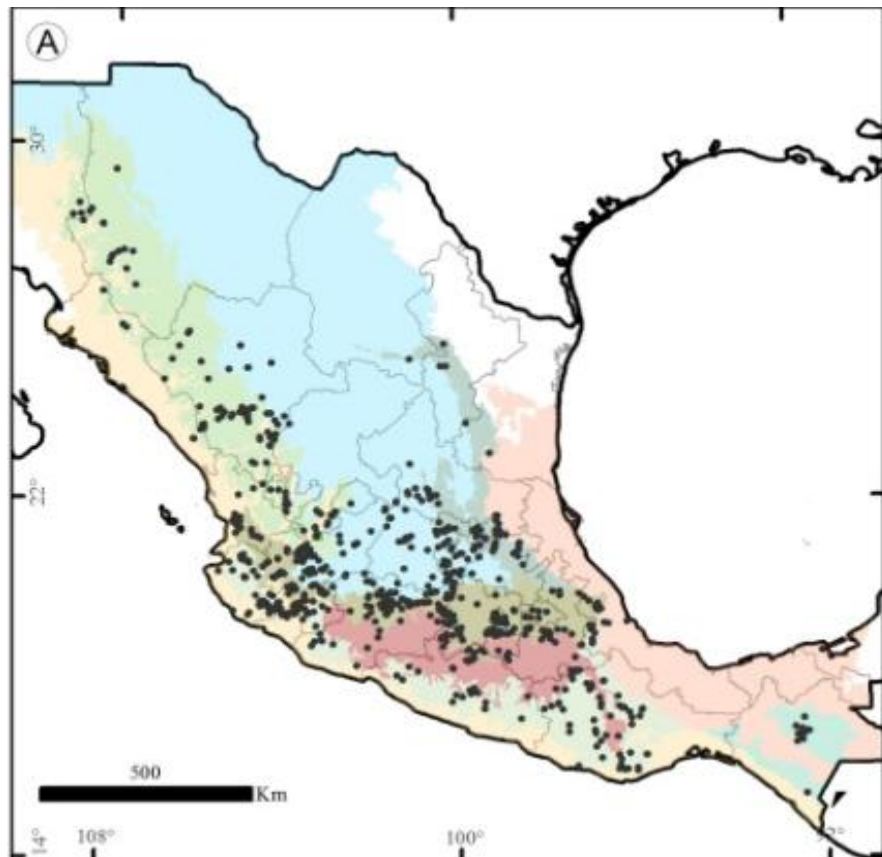


Figura 1. Mapa de la distribución de *Dahlia coccinea* en la república mexicana

2.1.2 Descripción botánica de la Dalia

Este género incluye plantas perennes, herbáceas o arbustivas, terrestres o epífitas, con raíces tuberosas, fasciculadas, desarrolladas de manera inicial a partir del hipocotilo y posteriormente de la base de la corona (Mejía y Arizmendi, 1995). Presenta tallos huecos o sólidos, herbáceos o lignificados y erectos. Las hojas son opuestas o verticiladas, simples o compuestas, a menudo con estípelas presentes en la base de los folíolos. La inflorescencia es una cabezuela

heterógama, formada por filarias, flores liguladas y discoides en varias tonalidades (Carrasco et al., 2019).

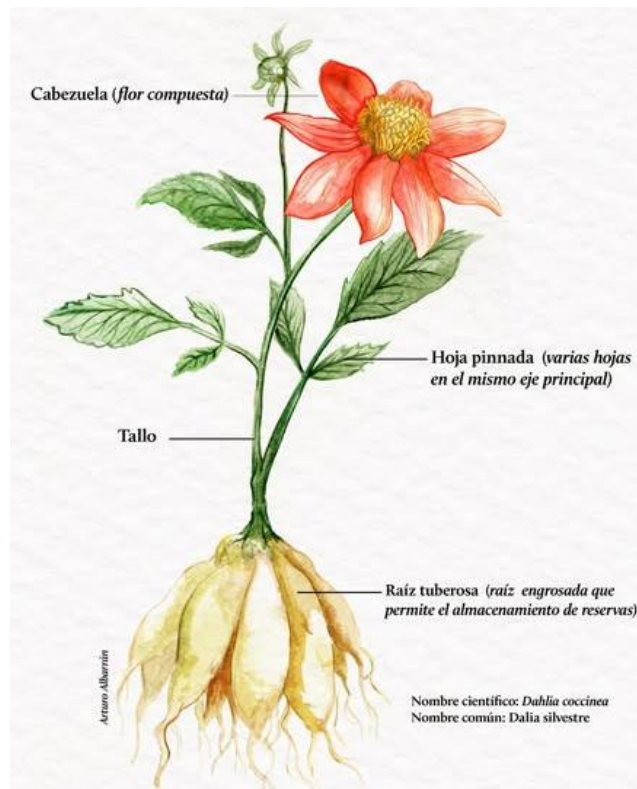


Figura 2. Morfología de *Dahlia coccinea*

Es una planta que se puede encontrar con diferentes tamaños desde una altura de 30 cm hasta más de diez metros; además, desarrolla una ramificación desordenada, solamente dirigida por los rayos solares, pero densa, con un gran número de hojas (Mejía et al., 2007)

Dahlia coccinea posee hojas pinnadas o bipinnadas, las flores alcanzan los 90 cm de altura, pueden ser rojas o escarlatas y en algunos casos con focos naranjas o amarillos (Thakur et al., 2022; Sorensen, 1969).

2.1.3 Clasificación taxonómica del género *Dahlia*

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta (Angiospermas)

Clase: Magnoliopsida (eudicotiledóneas)

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae (compositae)

Subfamilia: Asteroideae

Tribu: Coreopsideae

Género: *Dahlia* Cav.

Especie: *Dahlia coccinea* Cav.

(Sorenses, 1969)

2.1.4 Condiciones óptimas de cultivo

La Dalia se propaga mediante semillas o raíces tuberosas. El espaciamiento recomendado es de 75 cm para flores grandes, 60 cm para flores medianas y 30-35 cm para variedades de flores pequeñas. La plantación de los tubérculos debe hacerse mirando hacia arriba a una profundidad de 15 cm. Este cultivo necesita suelos ricos en materia orgánica, con buen drenaje y con un pH neutro ente 6.5. Además de necesitar entre 8 y 10 horas luz solar directa para un crecimiento y desarrollo adecuado para la producción de flores con buena calidad (Thakur et al., 2022).

2.2. Usos de *Dahlia coccinea* Cav

La dalia es una planta que ha sido cultivada y mejorada genéticamente con fines ornamentales ya que produce inflorescencias muy atractivas (SADER, 2020); no obstante, este cultivo también cuenta con propiedades nutricionales y de alto potencial para la alimentación y salud gracias a sus características nutricionales y farmacéuticas (Lara et al., 2014; Mejia et al., 2018). Sin embargo, se ha puesto atención a su sistema radical, compuesto de raíces tuberosas, dado que en este órgano se almacenan carbohidratos de reserva bajo la forma de inulina y otros fructanos (Santana et al., 2016).

2.2.1 Producción de inulina

La inulina es un grupo heterogéneo de polisacáridos compuesto principalmente por monómeros de fructosil-fructosa, comúnmente conocidos como fructanos, los cuales están unidos mediante enlaces β (2 $\rightarrow$ 1) (Santana et al., 2016). Estos fructanos son predominantemente de origen vegetal, aunque también se encuentran en hongos y bacterias. En las plantas, la inulina actúa como un compuesto de almacenamiento de carbohidratos y se acumula en órganos como tubérculos, bulbos, raíces y hojas. Un ejemplo destacado es la dalia (*Dahlia pinnata*), que almacena inulina en sus tubérculos (Ashinshana et al., 2022).

Este polisacárido ofrece importantes beneficios tanto para la industria alimentaria como para la farmacéutica. En el ámbito alimenticio, mejora las propiedades organolépticas de los productos y funciona como un sustituto de grasas sin alterar las texturas. Por esta razón, se utiliza en una amplia variedad de alimentos, como lácteos fermentados, chocolates, bebidas, postres congelados, cereales, barras energéticas, productos cárnicos y alimentos bajos en grasas o azúcares. Estas aplicaciones son posibles gracias a su bajo aporte calórico y a las propiedades químicas únicas de la inulina (Lara et al., 2017). En particular, los tubérculos de la dalia contienen un porcentaje significativo de inulina en suspensión, que oscila entre el 15 % y el 20 %, esta concentración varía entre especies donde puede llegar hasta 72 % en el caso de *Dahlia campanulata* (Ashinshana et al., 2022; Mejia et al., 2018; Mejia et al., 2020).

2.3. Hongos fitopatógenos en *Dahlia coccinea*

Diversos organismos fitopatógenos, como hongos, bacterias, virus y nematodos, pueden causar daños a las plantas ornamentales, que van desde afecciones leves hasta problemas graves que pueden provocar su muerte. Entre estos, los hongos fitopatógenos son los responsables más comunes de enfermedades en este tipo de plantas, afectando directamente su valor estético (Toledo Perdomo, 2024). En este caso, la dalia es susceptible a los siguientes fitopatógenos.

2.3.1 *Botrytis*

El nombre del género *Botrytis* fue acuñado por Micheli en 1729, es uno de los primeros géneros de hongos descritos. Este patógeno causa moho gris en más de 1000 especies (Plesken et al., 2021) es considerado como un hongo necrotrófico, debido a que puede afectar diferentes especies de plantas incluidas las de tipo ornato afectando principalmente tejido maduro y senescente de la planta (Bika et al., 2020). Este fitopatógeno causa marchitamiento, manchas y tizón de hojas y flores, cancro del tallo y podredumbre del cormo, tubérculo y rizoma (Lukasko & Hausbeck, 2024). *Botrytis* se disemina principalmente por conidios, debido a que pueden ser transportados fácilmente por el viento y el agua, así como por insectos, herramientas de injerto y poda, maquinaria, manos y ropa de los trabajadores durante las operaciones de cultivo (Bika et al., 2020). Este patógeno puede afectar al rendimiento y la calidad postcosecha de la flor, de modo que las flores enfermas pueden ser imperceptibles en la cosecha porque las infecciones pueden permanecer latentes hasta que las condiciones ambientales sean favorables para la colonización de los tejidos. Las condiciones favorables para el crecimiento de *Botrytis* incluyen una humedad relativa alta (>94%) y temperaturas de entre 15 y 25 °C (Muñoz et al., 2019). Este patógeno se caracteriza por producir abundante micelio gris varios conidióforos largos y ramificados, cuyas células apicales redondeadas producen racimos de conidios ovoides, unicelulares, de color gris. Los conidióforos y los racimos de conidios se asemejan a un racimo de uvas (Agrios, 2025).

2.3.2 *Alternaria*

El género de *Alternaria* comprende especies saprófitas, endofíticas y patógenas, provocando grandes pérdidas económicas debido a su rango de hospedadores y a su distribución mundial. (Narain et al., 2022). Durante el desarrollo de la enfermedad esta especie desarrolla manchas foliares marrones, diminutas y circulares aparecen como síntomas iniciales y progresivamente se hacen más grandes y forman parches entre las venas de las hojas; esto es seguido por una necrosis foliar sectorial o completa (Mactic et al., 2020). Por lo común, las hojas senescentes de la parte inferior de la planta son atacadas en primer término, pero la enfermedad asciende hacia la parte superior de aquélla y hace que las hojas afectadas se tornen amarillas y senescentes, se des sequen y debiliten o desprendan (Agrios, 2025). El patógeno *Alternaria sp.* tiene un micelio de color verde oscuro y en los tejidos viejos infectados produce conidióforos cortos, simples y erectos que dan origen a cadenas simples o ramificadas de conidios. Los conidios son grandes, alargados y oscuros, o bien multicelulares y en forma de pera y presentan sepias tanto transversales como longitudinales (Agrios, 2025).

2.3.3 *Fusarium*

La marchitez causada por el género *Fusarium* puede causar pérdidas económicas en una amplia gama de cultivos importantes, incluyendo las ornamentales, esta enfermedad puede generar daños en cualquier etapa de producción (Gullino et al., 2015). El síntoma causado por este fitopatógeno se puede observar en las hojas de plantas infectadas o de partes de plantas infectadas debido a que estas pierden su turgencia, se debilitan, adquieren una tonalidad que va del verde claro al amarillo verdoso, decaen y finalmente se marchitan, se tornan amarillas, empardasen y mueren. Las hojas marchitas pueden estar extendidas o bien enrollarse. Los retoños tiernos y jóvenes también se marchitan y mueren. Los cortes transversales que se hacen de tallos y ramitas infectados muestran varias zonas café decoloradas dispuestas en forma de un anillo completo o interrumpido que consta de tejidos vasculares decolorados. En

los vasos xilémicos de tallos, raíces y otros órganos infectados, puede haber micelio y esporas del hongo (Agrios, 2025).

2.4. Protección microbiológica como estrategia de control

El control de plagas y enfermedades en la agricultura tradicionalmente ha dependido del uso intensivo de productos químicos. No obstante, el empleo de microorganismos como agentes de control biológico surge como una alternativa sostenible y eficaz, especialmente en cultivos de importancia agrícola (Ibarra et al., 2006). Este enfoque aprovecha interacciones naturales, implementando estrategias que pueden involucrar tanto cepas de una misma especie como especies diferentes de microorganismos. Entre los organismos más utilizados destacan hongos, bacterias, virus, insectos benéficos y elicitores, los cuales actúan mediante mecanismos específicos (Victoria Arrellano, 2015).

En ambientes naturales, ciertos microorganismos ejercen bio-control sobre fitopatógenos que generan pérdidas económicas significativas en cultivos (Martínez et al., 2017).

2.4.1 Hongos endófitos

Los hongos endófitos pueden habitar en las plantas sin causar síntomas aparentes de enfermedad, generando una relación positiva entre el endófito y su planta hospedera ya que el hongo es capaz de producir metabolitos bioactivos, así como modificar los mecanismos de defensa de su hospedera, permitiendo e incrementando la sobrevivencia de ambos organismos (Sánchez et al., 2013).

El género *Beauveria bassiana* puede actuar como un organismo endófito capaz de colonizar raíces, ramas, hojas, frutos y flores, lograron disminuir significativamente la incidencia de patógenos como *Rhizoctonia*, *Pythium* y *Fusarium oxysporum* (Pavone, 2021). La protección de este endófito frente al ataque de patógenos se produce por mecanismos directos como la competencia, el parasitismo y la antibiosis (producción de metabolitos primarios, secundarios,

enzimas o compuestos volátiles) e indirectos como la inducción de resistencias (Pavone, 2021).

El género *Metarhizium* es clasificado como entomopatógeno-micorrízico y esto se debe a que realiza una simbiosis mutualista con las plantas la cual estimula el crecimiento de las raíces y translocación de nutrientes para ambos organismos colonizando las raíces de las plantas endófitamente (de León et al., 2018). Los hongos endófitos como lo es *Metarhizium*, estudios han reportado que aporta beneficios como colonizador de la rizosfera, promueven el crecimiento vegetal, mejoran la nutrición en las plantas, incrementan el desarrollo de las raíces y mejoran la tolerancia ante un estrés ambiental (Hao et al., 2021).

2.4.2 Microorganismos antagonistas

Por otro lado, existen microorganismos con actividad antagónica (bacterias, levaduras y hongos) los cuales tienen la capacidad de ejercer un efecto de control biológico sobre diferentes patógenos de interés y se han empleado para controlar diversas enfermedades. De modo que es importante comprender el mecanismo de acción de los antagonistas donde se involucran: la antibiosis, producción de enzimas líticas, parasitismo, competencia por los nutrientes y espacio e inducción de resistencia ante el ataque de fitopatógenos. Las especies del género *Trichoderma* producen enzimas líticas y/o antibióticos. *T. viride* es uno de los hongos del suelo más reportados ya que posee actividades fisiológicas, antifúngicas e insecticidas (Lieckfeldt et al., 1999).

2.5. LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (5.^a ed.). Elsevier Academic Press.
- Asociación Mexicana de la Dalia o Acocoxochitl, A.C. (2022). *Uso medicinal de la Dalia*. Obtenido de [daliaoacocoxochitl: https://www.daliaoacocoxochitl.com/recipes/uso-medicinal-de-la-dalia](https://www.daliaoacocoxochitl.com/recipes/uso-medicinal-de-la-dalia)
- Ashinshana, U., Illippangama, A. U., Jayasena, D. D., Jo, C., & Mundannayake, D. C. (2022). La inulina como ingrediente funcional y sus aplicaciones en productos cárnicos. *Polímeros de carbohidratos*, 275, 118-706. doi://doi.org/10.1016/j.carbpol.2021.118706.
- Bika, R., Baysal-Gurel, F., & Jennings, C. (2020). Botrytis cinerea management in ornamental production: a continuous battle. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 43(3), 345-365. doi:https://doi.org/10.1080/07060661.2020.1807409
- Carrasco Ortiz, M., Muguía Lino, G., Castro Castro, A., Vargas Amado, G., Harker, M., & Rodríguez, A. (2019). Riqueza, distribución geográfica y estado de conservación del género *Dahlia* (Asteraceae) en México. *Acta botánica mexicana*(126). doi:https://doi.org/10.21829/abm126.2019.1354
- de León Cáceres, C. A., Durón Castellanos, A., Piña Torres, I. H., Torres Guzmán, J. C., & Padilla Guerrero, I. E. (2018). Efecto del hongo metarhizium en el crecimiento de la planta *amaranthus hypochondriacus*. *Jovenes en la ciencia*, 4(1), 748-753. Obtenido de [file:///C:/Users/pcerd/Downloads/helquera,+CRISTY ADRIANA DE LEON CACERES 3946-748-753%20\(1\).pdf](file:///C:/Users/pcerd/Downloads/helquera,+CRISTY ADRIANA DE LEON CACERES 3946-748-753%20(1).pdf)
- Gullino, L. M., Daughtrey, M. L., Garibaldi, A., & Elmer, W. H. (2015). Fusarium wilts of ornamental crops and their management. *Crop Protection*, 73, 50-59. doi:https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.01.003.
- Hao, Q., Albaghdady, . D., Xiao, . Y., Xiao, X., Mo, C., & Wang, G. (2021). Endophytic *Metarhizium anisopliae* is a potential biocontrol agent wheat

Fusarium head blight caused by *Fusarium graminearum*. *Journal of Plant Pathology*(103), 875-885. doi:<https://doi.org/10.1007/s42161-021-00866-6>.

Ibarra, J. E., Del Rincon Castro, M. C., Galindo, E., Patiño, M., Serrano, L., García, R., . . . Bravo, A. (2006). Los microorganismos en el control biológico de insectos y fitopatógenos. *Revista Latinoamericana de Microbiología*, 48(2), 113-120. Obtenido de https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/94636031/mi062k-libre.pdf?1669075337=&response-content-disposition=inline%3B+filename%3DLos_microorganismos_en_el_control_biololog.pdf&Expires=1744316042&Signature=ICoJJJe028oIJ2g5qOUR44Z1VmN-v1M0ep9C95KYx~DOni-IIMXi8vuk

Jiménez Mariña, L. (2015). El cultivo de la Dalia. *Cultivos Tropicales*, 36(1), 107-115. Obtenido de CULTIVOS: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362015000100014&lng=es&tlng=en

Lara Cortés, E., Martín Belloso, O., Osorio Díaz, P., Barrera Necha, L. L., Sánchez López, J. A., & Bautista Baños, S. (2014). Antioxidant capacity, nutritional and functional composition of edible dahlia flowers. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 20(1), 101-116. doi:<https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2013.07.024>

Lara Fiallos, M., Lara Gordillo, P., Julián Ricardo, M. C., Pérez Martínez, A., & Benites Cortés, I. (2017). Advances on the inulin production. *Tecnología Química*, 37(2), 352-366. Obtenido de http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S2224-61852017000200016&lng=es&tlng=pt.

Lieckfeldt E, S. G. (1999). A morphological and molecular perspective of *Trichoderma viride* is it one or two species? *Appl Environ Microbiol*, 65(6), 2418-28. doi:10.1128/AEM.65.6.2418-2428.199

- Lukasko, N. T., & Hausbeck, M. K. (2024). Resistance to Seven Site-Specific Fungicides in *Botrytis cinerea* from Greenhouse-Grown Ornamentals. *plant disease*, 108(2). doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-06-23-1213-SR>
- Mactic, S., Tabone, G., Garibaldi, A., & Guillino, M. L. (2020). *Alternaria* Leaf Spot Caused by *Alternaria* Species: An Emerging Problem on Ornamental Plants in Italy. *Plant disease*, 104(8), 2044-2296. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0399-RE>
- Martínez Padrón, H. Y., Osorio Hernández, E. O., Estrada Drouaillet, B., López Santillán, J. A., Varela Fuentes, S. E., & Torres Castillo, J. A. (2017). CONTROL BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS MEDIANTE AISLADOS DE *Trichoderma* spp. *Agro Productividad*, 10(3), 9-14. Obtenido de <https://mail.revista-agroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/download/961/820/1785>.
- Mejía Muñoz, J.M., Espinosa, F.F., Mera, O.L.M., Laguna, C.A., Bye, B.R. & Treviño, C.G. 2007. Propagación de Dalias en México. SNICS/SAGARPA/UACH, Chapingo, Estado de México.
- Mejía Muñoz, J. M., & Mendoza Arizmendi, J. L. (1995). Distribución de materia seca y desarrollo de raíces tuberosas en plantas de dalia (*Dahlia variabilis* Cav.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 3, 135-138. doi:10.5154/r.rchsh.1994.02.014
- Mejía Muñoz, J. M., De Luna García, I., Jiménez Ruiz, E. F., Sosa Montes, E., Flores Espinosa, C., Treviño De Castro, G., & Reyes Santiago, J. (2020). Investigación sobre la dalia, la flor nacional de México. doi:10.17660/ActaHortic.2020.1288.15

- Mejía, M. J.M., De Luna-García, I., Jiménez-Ruiz, E.F., Sosa-Montes, E., Flores-Espinosa, C., Treviño-De Castro, G. and Reyes-Santiago, J. (2020). Research on dahlia, the national flower of Mexico. *Acta Hortic.* 1288, 103-108. DOI: 10.17660/ActaHortic.2020.1288.15.
- Mejía, S.M.C., D. Arellano V., S.C. Ríos P. and J. M. Mejía M. 2018. Dahlia fowers and tubers- a healthy and nourishing food from Mexico. DDFGG <https://www.ddfgg.de/dahlien/pdf/DAHLIA-FLOWERS-AND-TUBERS.pdf>
- Muñoz, M., Faust, J. E., & Schnabel, G. (2019). Characterization of *Botrytis cinerea* From Commercial Cut Flower Roses. *plant disease*, 103(7), 1577-1583. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1623-RE>
- Narain, U., Kushwaha, A., Mishra, P., Singh, S. K., Harshita, & Gupta, G. (2022). Disease Diagnosis and Parasitism of *Alternaria* species on Brassicaceous Vegetables, Oleiferous Crops, and Ornamental Plants. *Res. Jr. of Agril. Sci.*, 13(6), 1692-1701. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Gyan-Gupta/publication/384605114_Disease_Diagnosis_and_Parasitism_of_Alternaria_species_on_Brassicaceous_Vegetables_Oleiferous_Crops_and_Ornamental_Plants/links/66ff1f8cf599e0392fb4feb7/Disease-Diagnosis-and-Parasitism
- Pavone, D. (2021). *Beauveria bassiana*: Una alternativa en el Manejo Integrado de plagas y enfermedades agrícolas. *TECNO VITA*. Obtenido de <https://tecnovitaca.com/wp-content/uploads/2021/05/Beauveria-Articulo-Tecnovita.pdf>
- Plesken, C., Pattar, P., Reiss, B., Noor, Z., Zhang, L., Klug, K., Hahn, M. (2021). Genetic Diversity of *Botrytis cinerea* Revealed by Multilocus Sequencing, and Identification of *B. cinerea* Populations Showing Genetic Isolation and Distinct Host Adaptation. *Front Plant Sci.* doi:10.3389/fpls.2021.663027

SADER. (2020). *Dalia, flor que colorea México*. Obtenido de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/dalia-flor-que-colorea-mexico>

Santana Legorreta, S., Villanueva Carvajal, A., Morales Rosales, E. J., Laguna Cerda, A., & Dominguez Lopez, A. (2016). Extracción y evaluación de inulina a partir de dalias silvestres mexicanas (*Dahlia coccinea* Cav.). *Phyton*, 85(1), 63-70. Obtenido de https://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1851-56572016000100009&lng=es&tlng=es

Sánchez Chávez, E., Munguía Lino, G., López Pérez, J. D., & Morales Ramírez, S. (2026). Mas allá de los ornamentals: Etnobotánica de la Dahlia Mexicana (Asteraceae), La Flor Nacional de México. *Sociedad Botánica de México 1941*, 104(2), 447-465. doi: 10.17129/botsci.3827.

Sánchez Fernández, R. E., Sánchez Ortiz, B. L., Sandoval Espinosa, Y. K., Ulloa Benítez, Á., Armendáriz Guillén, B., García Méndez, M. C., & Macías Rubalcava, M. L. (2013). Endophytic fungi: a potential source of bioactive secondary metabolites and their application in agriculture and medicine. *TIP. Revista especializada en ciencias químico-biológicas*, 16(2), 132-146. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-888X2013000200006&lng=es&tlng=es.

SEMANART. (2018). *Dalia, flor representativa de México*. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Obtenido de https://www.gob.mx/semarnat/articulos/dalia-flor-representativa-de-mexico?idiom=es&utm_source=chatgpt.com

Sorensen, P. D. (1969). Revision of the genus *Dahlia* (Compositae, Heliantheae-Coreopsidinae). *Rhodora*, 367-416. Obtenido de <https://www.biodiversitylibrary.org/part/123644>.

- Thakur, P., Shah, A. H., Adhikari, Y., Kumar, M., & Verma, S. (2022). Dahlia Cultivation in India and Abroad: A Review. *International Journal of Plant & Soil Science*, 34(19), 240-251. doi:10.9734/IJPSS/2022/v34i1931108
- Toledo Perdomo, C. (2024). Phytopathogenic diseases in ornamental plants of importance for export in Guatemala. *Revista Ciencia Agraria*, 3(1), 16-35. doi:<https://doi.org/10.35622/j.rca.2024.01.002>
- Victoria Arrellano, A. D. (2015). Control biológico de la marchitez del chile (*capsicum annuum* L.) causada por *Phytophthora capsici* mediante cepas nativas de *Trichoderma* spp. de suelos productores. Texcoco: Institucion de Enseñanza e Investigacion en Ciencias Agricolas.

CAPÍTULO 3. AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DE HONGOS FITOPATOGENOS ASOCIADOS A *Dahlia spp.*

RESUMEN

Aunque las dalias se caracterizan por su alto valor estético, este se ve amenazado por plagas y enfermedades. Estas pueden ser causadas por hongos, bacterias, virus y nematodos. Entre ellos, los hongos fitopatógenos pueden generar daños severos que causan pérdidas económicas cuantiosas para los productores de este cultivo. No obstante, actualmente, no existen reportes oficiales sobre enfermedades u hongos fitopatógenos que afecten a este cultivo. Por ello, el objetivo de este estudio fue aislar e identificar hongos fitopatógenos presentes en plantas de dalia cultivadas en campo con el propósito de crear un registro que contribuya al conocimiento fitosanitario de este cultivo. Las plantas con síntomas de enfermedad fueron recolectadas en Huamantla, Tlaxcala y Texcoco, Estado de México. Los microorganismos fueron aislados de tejidos enfermos y posteriormente purificados mediante punta de hifa. Finalmente, se hizo una identificación morfológica-cultural, microscópica y molecular. Los análisis determinaron que el cultivo de dalia presentó enfermedades en campo tales como cenicilla, roya, tizón foliar en hojas, antracnosis en botones y capítulos florales maduros, además de marchitez en raíces tuberosas. La inspección visual en campo y los análisis morfológicos-moleculares identificaron a *Fusarium oxysporum* como agente asociado a la marchitez de raíces tuberosas. *Alternaria alternata* fue el hongo asociado a síntomas de tizón foliar, mientras que *Botrytis* sp. fue asociado a síntomas de antracnosis. Este estudio representa el primer reporte de microorganismos fitopatógenos en el cultivo de dalia y sirve como base para contribuir a la determinación esquemas de control o manejo específicos para estos fitopatógenos.

3.1. INTRODUCCIÓN

Dahlia coccinea Cav. es una planta silvestre nativa de México, de la cual se han originado las diferentes variedades ornamentales que se cultivan en nuestro país; por ello, se le considera un recurso de interés biológico y genético (Vivar et al., 2006). Esta inflorescencia se caracteriza por su diversidad, de tamaño, forma o color de sus capítulos (Lara et al., 2014) Aunado a ellos, esta especie posee raíces de tipo tuberosas (Rodríguez et al., 2024), las cuales pueden favorecer a la interacción con los diferentes microorganismos que están presentes en el suelo.

Aunque las plantas ornamentales se caracterizan por su alto valor estético, sin embargo, al igual que cualquier otro cultivo sufren daños causados por plagas y enfermedades, Principalmente las que se propagan de manera asexual, las cuales pueden ser causadas por diferentes organismos fitopatógenos (hongos, bacterias, virus y nematodos) (Toledo Perdomo, 2024). Entre estos organismos, los hongos fitopatógenos pueden generar daños leves hasta daños irreversibles que afectan directamente su valor estético y el rendimiento en producción (García García & Camargo Ricalde, 1998).

A pesar de que *D. coccinea* es una especie nativa de México y pertenece a las 43 especies del silvestres del género *Dahlia* (Vivar et al., 2006), la información oficial relacionada con fitopatógenos asociados al cultivo es limitada, especialmente cuando la comparamos con la existente para especies ornamentales de mayor dominio cultural en México. Por esta razón el aislamiento e identificación de los hongos fitopatógenos en *Dahlia* spp, resulta vital para generar bases en la estrategia de manejo de plagas y enfermedades en el cultivo comercial de dalias (Ormeño Villajos, 2024).

Por lo anterior tanto, el objetivo de este capítulo es aislar e identificar hongos fitopatógenos presentes en el cultivo de dalias comerciales y experimentales a través de la recolección y el análisis de muestras vegetales que presentan

síntomas visibles de enfermedad en Huamantla, Tlaxcala y en el Colegio de Postgraduados en Texcoco, Edo. de México.

3.2. MATERIALES Y MÉTODOS

La población de estudios correspondió a plantas con síntomas visibles de enfermedades foliares que se cultivan de manera comercial para la producción de flor cortada para la elaboración de alfombras y tapetes en Huamantla, Tlaxcala. y en un lote experimental del Colegio de Postgraduados.

3.2.1 Recolección de muestras

La recolección se llevó a cabo en un campo de dalias, en el municipio de Huamantla, Tlaxcala y en el Colegio de Posgraduados. En cada uno de los sitios se identificaron plantas con síntomas, las cuales fueron colocadas en bolsas herméticas, rotuladas con la fecha y el síntoma observado; posteriormente, las muestras fueron transportadas al laboratorio de Control Biológico del Departamento de Parasitología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo para realizar la identificación morfológica, posteriormente para la identificación molecular se trabajó en el Colegio de Postgraduados donde se realizó la extracción de ADN y la amplificación por PCR, la secuenciación y el análisis bioinformático.

3.2.2 Aislamiento e identificación de los fitopatógenos

Del material recolectado (hojas y flores) se hicieron cortes de tejido sano, tejido con daño parcial y tejido con daño completo. Las muestras se desinfectaron con alcohol al 70% y posteriormente se sumergieron en hipoclorito de sodio (NaOCl) al 1% durante 1 minuto y finalmente las muestras fueron lavadas con agua estéril. Los fragmentos se colocaron sobre papel absorbente estéril para retirar el exceso de agua destilada estéril. Todo el proceso se hizo en ambiente estéril en una campana de flujo laminar. Para poder eliminar el exceso de agua de los tejidos previamente seleccionados, estos se colocaron sobre papel absorbente estéril. El material desinfectado se colocó en cajas petri con medio de cultivo papa dextrosa-agar (PDA). Se hicieron tres repeticiones por muestra, las cuales fueron incubadas a 27° C hasta observar la aparición de crecimiento micelial.

3.2.3 Purificación de aislados

Se seleccionaron colonias diferenciales provenientes de material con daño parcial, se hicieron tres repeticiones de subcultivo en medio (PDA) por el método de punta de hifa se incubaron a 27° C. Posteriormente, se verificó la pureza de los aislamientos. El proceso de purificación se repitió hasta obtener aislamientos puros. Los aislados se inocularon en PDA contenido en crioviales y se inocularon a 27 °C y al obtener crecimiento y esporulación, se les colocó aceite mineral para cubrir la superficie y se almacenaron a -20 °C para su conservación.

3.2.4 Caracterización morfológica de los aislados fúngicos

El primer acercamiento a la identidad de los aislados se realizó mediante la caracterización cultural y microscópica de estructuras reproductivas, empleando cultivos con una semana de crecimiento en medio PDA, ya que en este punto se observó un adecuado desarrollo de dichas estructuras para cada aislado fúngico. Posteriormente, se realizaron microcultivos para cada cepa fúngica con el fin de observar de manera más detallada la morfología de las estructuras reproductivas de los fitopatógenos. Para ello, en una caja Petri con medio PDA se cortó un fragmento de aproximadamente 1 mm del mismo medio, el cual se colocó sobre

la superficie del agar. Con un asa bacteriológica se tomó micelio del aislamiento y se inocularon los cuatro lados del fragmento, de la parte media hacia arriba. Los microcultivos se incubaron a 27 °C durante 3 a 5 días. Una vez transcurrido el periodo de incubación, el fragmento fue cubierto con un cubreobjetos y, con ayuda de pinzas, se ejerció una ligera presión sobre el crecimiento. Finalmente se colocó una gota de azul de lactofenol sobre un portaobjetos como medio de tinción; el cubreobjetos se retiró cuidadosamente con las pinzas y se colocó sobre el portaobjetos para la observación, todo esto se realizó bajo una campana de flujo laminar en condiciones asépticas.

Las preparaciones se observaron en un microscopio compuesto (Nikon, Ni-U) bajo un aumento de 40X (Murugan et al., 2020). Las medidas de los conidios (largo y ancho) se obtuvieron mediante el programa *Motic Images Plus 3.0* (n = 100 conidios/aislado).

3.2.5 Identificación molecular de los aislados fúngicos

Para corroborar la identidad de los aislados, se realizó una extracción de ADN genómico de cada hongo. Para ello se usaron colonias de 7 días de crecimiento y para obtener el material genómico se utilizó el método de extracción CTAB (Doyle y Doyle 1990) con modificaciones Minas et al., (2011). La calidad del ADN se determinó en un Nanodrop (Thermo Scientific, Nanodrop 2000) a 260/280 nm y su integridad se verificó mediante electroforesis en gel de agarosa 2%. Para el análisis electroforético, se utilizó como solución tampón de corrida TAE 1 X. Las imágenes de los geles se obtuvieron en un fotodocumentador bajo luz ultravioleta (UV) (Gel-Doc™ XR, BioRad®, EE. UU).

Para la amplificación de los fragmentos por reacción en cadena de la polimerasa (PCR) de los aislados identificados morfológicamente, se amplificó la región del Espaciador Transcrito Interno (ITS) con los cebadores ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') (White et al., 1990). Se preparó una mezcla de reacción con un volumen final de 25µl, buffer de PCR 1x, 2.5 mM MgCl₂, 0.2 mM dNTP, 0.8 µM de cada primer,

1U de DNA polimerasa (Promega®, EE. UU) y 100 ng de ADN. Se utilizó un termociclador Axygen® MaxyGene™ II (CA, EE. UU), las condiciones de PCR fueron: desnaturalización a 95 ° C por 5 min, 35 ciclos de 95 ° C por 30 s, 55 ° C por 30 s, 72 ° C por 1 min y una extensión final de 72 ° C por 10 min. La temperatura de alineamiento para los primers ITS4/ITS5 fue de 55 °C.

Los productos de PCR amplificados se corroboraron mediante electroforesis con gel de agarosa 2% y se analizaron en un fotodocumentador bajo luz UV (Gel-Doc™ XR, BioRad®, EE. UU). Los productos de PCR amplificados se enviaron a secuenciar a MacroGen®, las secuencias obtenidas se compararon en la base de datos en NCBI mediante análisis BLAST y se depositaron en el GenBank-NCBI®.

3.2.6 Análisis filogenéticos

Las secuencias ITS se alinearon con secuencias de referencias del GenBank para cada uno de los aislados (Tabla 1) utilizando el alineamiento en ClustalW del software MEGA 12® en el cual se interpretaron las relaciones filogenéticas con la alineación de la secuencia de nucleótidos del gen entre los aislados de *Fusarium oxysporum*, *Alternaria* sp. y *Botrytis*.sp.

Tabla 1. Secuencias de referencia utilizadas en el análisis molecular. Secuencias correspondientes a la región ITS 4–ITS 5 empleadas para la comparación del aislado en estudio con especies de *Fusarium oxysporum*, *Alternaria* sp. y *Botrytis* sp., incluyendo su número de acceso y referencia bibliográfica.

Género	Especie	Número de referencia	Referencia
<i>Fusarium</i>	<i>oxysporum</i>	MN452254.1	Pimentel et al., (2019)
	<i>oxysporum</i>	GU212866.1	Su et al., (2010)
	<i>oxysporum</i>	MK433625.1	Stepniewska et al., (2019)
	<i>acutatum</i>	MH862652.1	Vu et al., (2019)
	<i>acutatum</i>	PQ560110.1	Holkar et al., (2024)
	<i>acutatum</i>	OQ402722.1	Bhat et al., (2023)
	<i>circinatum</i>	KX276603.1	Garcia et al., (2016)
	<i>circinatum</i>	KX276637.1	Garcia et al., (2016)
	<i>circinatum</i>	KX276610.1	Garcia et al., (2016)
	<i>alternata</i>	PQ480420.1	Lynch, S.C. (2024)
<i>Alternaria</i>	<i>alternata</i>	MZ489408.1	Kashyap & Manzar (2021)
	<i>alternata</i>	ON712211.1	Nageen & Pecoraro (2022)
	<i>tenuissima</i>	MW922338.1	Xu (2021)
	<i>tenuissima</i>	KR867293.1	Wang & Wu (2016)
	<i>tenuissima</i>	OQ693928.1	Xu & Zhao (2023)
	<i>mali</i>	MK719414.1	Quiles (2019)

<i>Botrytis</i>	<i>mali</i>	KR232490.1	Abbas & Naz (2015)
	<i>cinerea</i>	LC901901.1	Kim (2025)
	<i>cinerea</i>	OP793783.1	Pasqualetti (2022)
	<i>cinerea</i>	OQ691648.1	Mahmood & Rasool (2023)
	<i>caroliniana</i>	MN105496.1	Franic et al., (2019)
	<i>caroliniana</i>	MN105373.1	Franic et al., (2019)
	<i>caroliniana</i>	MN105491.1	Franic et al., (2019)
	<i>pelargonii</i>	KY174315.1	Lu & Gao (2016)
	<i>pelargonii</i>	KX987153.1	Lu et al., (2017)
	<i>pelargonii</i>	KJ934897.1	Sohail et al., (2014)

Los árboles filogenéticos se construyeron mediante el método de *Maximum Likelihood*, con distancias evolutivas calculadas a partir del modelo de mejor ajuste. Para los aislados de *Fusarium oxysporum* y *Alternaria* sp. se utilizó el modelo de Kimura de dos parámetros (1980) (escala = 0.05), mientras que para los restantes se aplicó el modelo de Jukes-Cantor (1969) (escala = 0.02), con 1000 réplicas de Bootstrap para cada aislado.

3.3. RESULTADOS Y DISCUSIONES

3.3.1 Identificación visual de síntomas de enfermedades fúngicas en *Dahlia* cultivada en campo

Las plantas de dalia recolectadas en el Colegio de Postgraduados presentaron crecimiento micelial grisáceo y pulverulento en hojas (Figura 3-a). El síntoma coincide con la enfermedad comúnmente conocida como “cenicilla”, la cual se caracteriza por producir micelio blanco pulverulento que se desarrolla sobre hojas, tallos y flores del hospedante formando apresorios superficiales y haustorios que penetran a través de la cutícula e ingresan a las células epidérmicas (Domínguez et al., 2016). Otros especímenes presentaron pústulas

naranjas polvorientas en el envés de las hojas (Figura 3-b). El síntoma coincide con la enfermedad comúnmente conocida como “roya” (Morales, 2000). Las muestras que fueron recolectadas de Huamantla, Tlaxcala presentaron lesiones de tipo circular necróticas con anillos concéntricos cloróticos distribuidos aleatoriamente en toda la superficie del haz de la hoja (Figura 3-c). Dichas manchas coinciden con las causadas por *Alternaria* spp., el cual puede causar manchas foliares marrones, diminutas y circulares que aparecen como síntomas

iniciales y progresivamente se hacen más grandes y forman parches entre las venas de las hojas seguido de una necrosis foliar sectorial o completa (Mactic et al., 2020).

Los botones florales (Figura 3d) presentaron lesiones de color café-negruzco con necrosamiento apical, mientras que los capítulos florales mostraron manchas de color marrón que desencadenaron su pudrición y posteriormente pérdidas de turgencia en los capítulos florales, aunado a ello, observó un moho velloso grisáceo en los pétalos basales (Figura 3-e). Dichos síntomas corresponden a una podredumbre gris posiblemente causada por el moho gris *Botrytis cinerea* el cual se caracteriza por causar manchas de color canela pálido, con márgenes irregulares que se tornan de color oscuro formando esclerocios negros, afectando diferentes tejidos en postcosecha (SENASICA, 2023). En el caso de las raíces tuberosas, se observaron raíces con pudrición seca y crecimiento micelial blanquecino, el cual fue indicativo potencial de *Fusarium* sp. (Figura 3-f) el cual se caracteriza por causar amarillamiento, necrosis y pudrición seca del tallo (Solano et al., 2013).

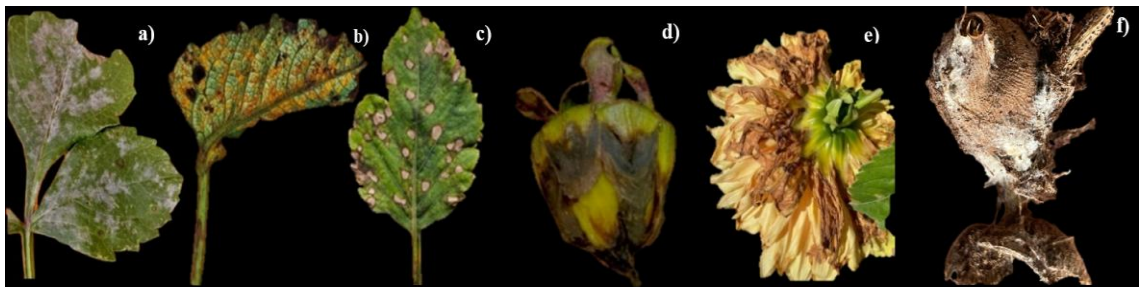


Figura 3. Tejido vegetal aéreo sintomático recolectado del cultivo de dalia. a) Hoja de dalia con manchas blancas, b) Envés de la hoja con pústulas naranjas polvorientas, c) Lesiones de tipo circular necróticas, d) Botón floral necrosado y e) Pérdidas de turgencias en los capítulos florales y f) Raíz tuberosa con micelio algodonoso blanco.

3.3.2 Caracterización cultural y microscópica de los aislados fúngicos

El aislamiento de raíz presentó un crecimiento micelial algodonoso, inicialmente con tonalidad blanco-rosado (Figura 4-a). Posteriormente la coloración se intensificó en la zona central de la colonia y tomo una coloración púrpura, mientras que los márgenes permanecían de una coloración más clara (Figura 4-b).

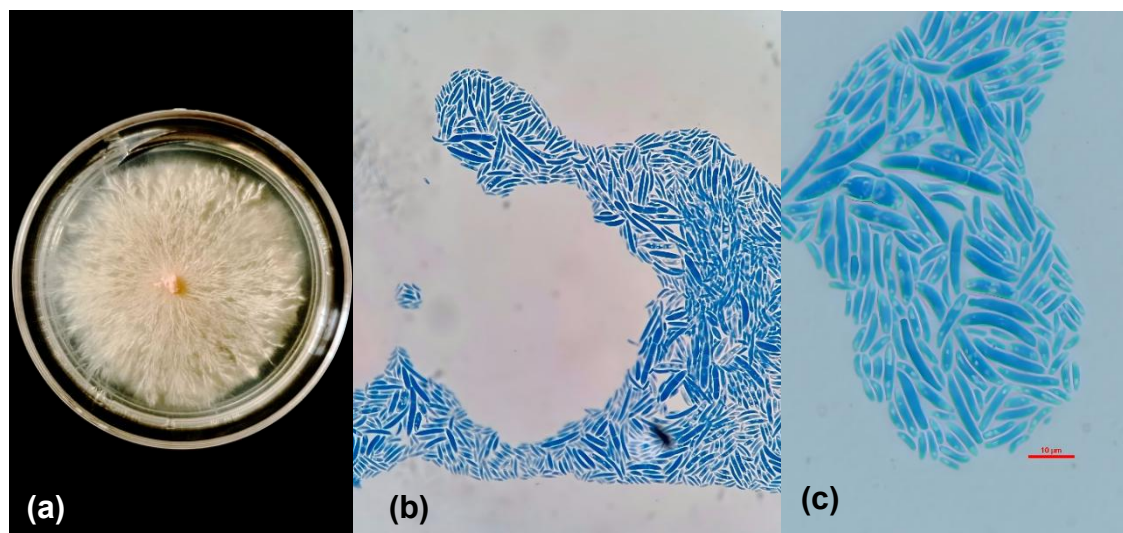


Figura 4. Características macroscópicas y microscópicas del primer aislado de dalia cultivado en medio PDA a). Crecimiento micelial algodonoso blanco-rosado. b) Macro y micro conidios observados al 10x c) Macro y micro conidios observados al 40x.

EL análisis microscópico mostró microconidios con cero septos con tamaño aproximado de $7.25 \times 1.88 \mu\text{m}$ (largo x ancho), con forma oval y elíptica. Los macroconidios presentaron una curvatura ligera en forma de hoz, con paredes delgadas, una célula apical atenuada y una célula basal en forma de pie; la mayoría de los macroconidios presentaron de 3 a 4 septos con medida promedio de $23.87 \times 3.71 \mu\text{m}$. Dichas características sugieren fuertemente que el aislamiento corresponde a *Fusarium oxysporum* (Leslie et al., 2006).

Los agentes causales de cenicilla y roya no son cultivables, por lo cual no fueron caracterizados culturalmente. No obstante, el aislamiento obtenido de hojas con anillos cloróticos produjo crecimiento micelial algodonoso de color gris verdoso en el centro de la colonia, el cual está rodeado de bordes blanquecino y pigmentación café oscuro en el fondo de la caja (Figura 5-a). En cuanto a su morfología microscópica se observaron conidióforos simples de color marrón y conidios solitarios de $26.88 \times 10.05 \mu\text{m}$ en forma de pera y con septos tanto transversales como longitudinales; dichas características concuerdan con lo descrito para *Alternaria alternata* (Lawrence et al., (2013); (Lawrence et al., (2016); Elfar et al., (2018)).

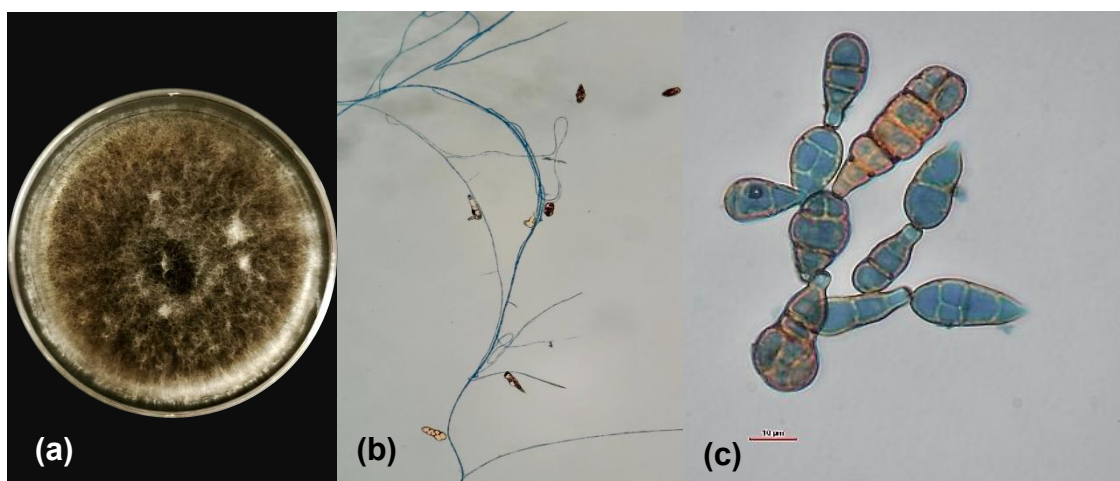


Figura 5. Características macroscópicas y microscópicas del segundo aislado de dalia cultivado en medio PDA (a). Crecimiento micelial algodonoso de color gris verdoso, (b) Conidios observados al microscopio a 10X (c) Conidios observados al microscopio a 40x.

En cuanto al aislamiento obtenido de botones florales y lígulas de *Dahlia*, este presentó crecimiento micelial algodonoso color gris claro en crecimientos jóvenes, los cuales posteriormente se tornaron de color gris oscuro con tonalidades café cuando maduraron (Figura 6-a).

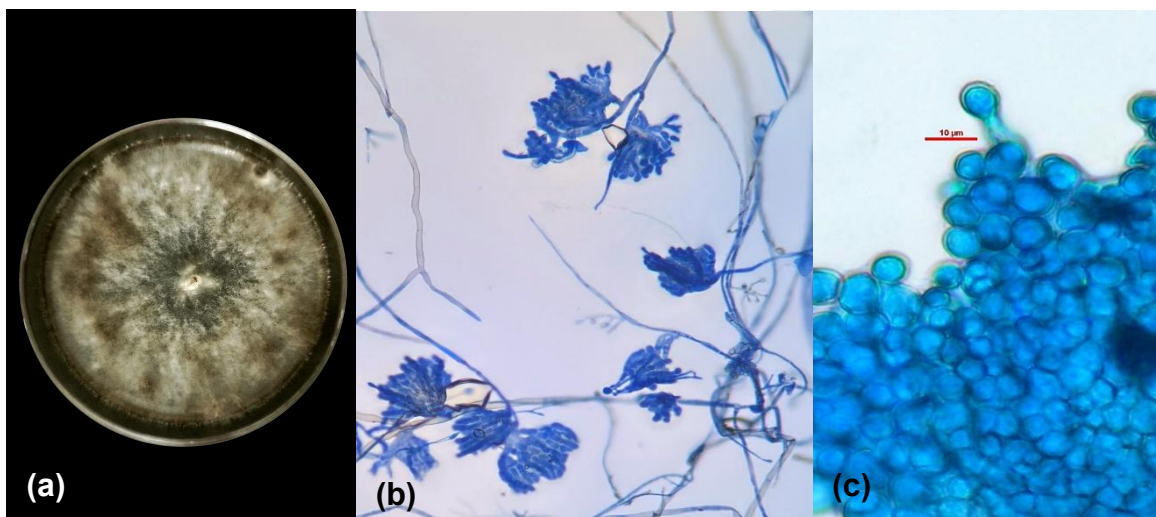


Figura 6. Crecimiento colonial y estructuras de reproducción de la segunda cepa aislada del cultivo de dalia. a). Crecimiento micelial algodonoso de color gris oscuro con tonalidades café (b) Conidióforos observados al microscopio a 10X (c) Conidios observados al microscopio a 40x.

Adicionalmente, de forma microscópica se observaron conidióforos ramificados (Figura 6- b), que producían pequeños racimos de conidios hialinos, ovoides de aproximadamente $7.39 \times 6.91 \mu\text{m}$ (Figura 6-c) dichas características morfológicas coinciden con lo reportado en *Botrytis cinerea* (Mirzaei et al., (2007); Palmucci et al., (1997)).

3.3.3 Identificación molecular y análisis filogenético

La amplificación de las regiones ITS mediante PCR se corroboró mediante electroforesis en gel de agarosa al 2%, obteniéndose fragmentos de aproximadamente 500 pb para cada una de las cepas previamente aisladas (Figura 7).

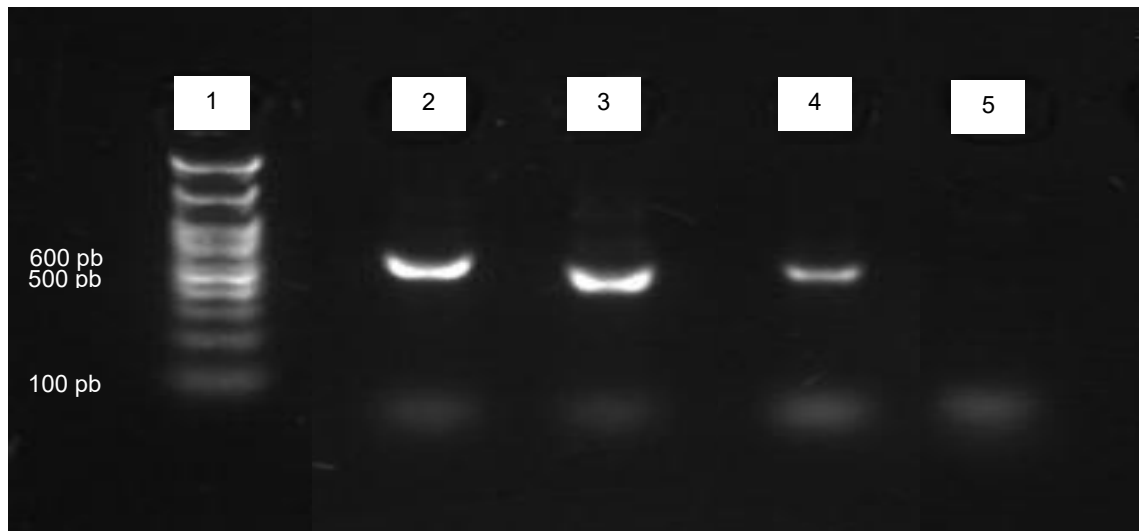


Figura 7. Electroforesis en gel de agarosa 2%, muestra los amplicones obtenidos por PCR de la región ITS (Internal Transcribed Spacer) utilizando los primers ITS4/ITS5 de aproximadamente 600 pb. Carril 1 marcador de peso molecular de 100 pb. Carril 2 (*Alternaria* sp.), carril 3 (*Fusarium* sp.), carril 4 (*Botrytis* sp.) y carril 5 testigo negativo.

La comparación de las secuencias en el análisis BLAST corroboró la identificación morfológica de los aislamientos. El aislado de *Fusarium* mostró un porcentaje de similitud del 98.47% y una cobertura del 100%; el aislado de *Alternaria* presento un porcentaje de similitud del 100 % y una cobertura de 100%; mientras que el aislado de *Botrytis* registro una similitud del 90.52% y una cobertura de 100%.

Para el análisis filogenético se realizó mediante el método de Máxima Verosimilitud, los resultados mostraron que el aislamiento PZ234701 preidentificados como *Fusarium oxysporum* se agrupó dentro del clado que corresponde a la especie de *F. oxysporum* (Figura 7). No obstante, el marcador ITS es demasiado conservado, por lo que no distingue complejos de especies crípticas como es el caso de las especies de *Fusarium*. Debido a ello las especies dentro de este género han sido confundidas morfológicamente por largo tiempo.

Por ello, la taxonomía moderna para este género se basa en análisis multilocus, especialmente en el gen TEF1- α (Husna et al., (2020); Bellemani et al., (2010)).

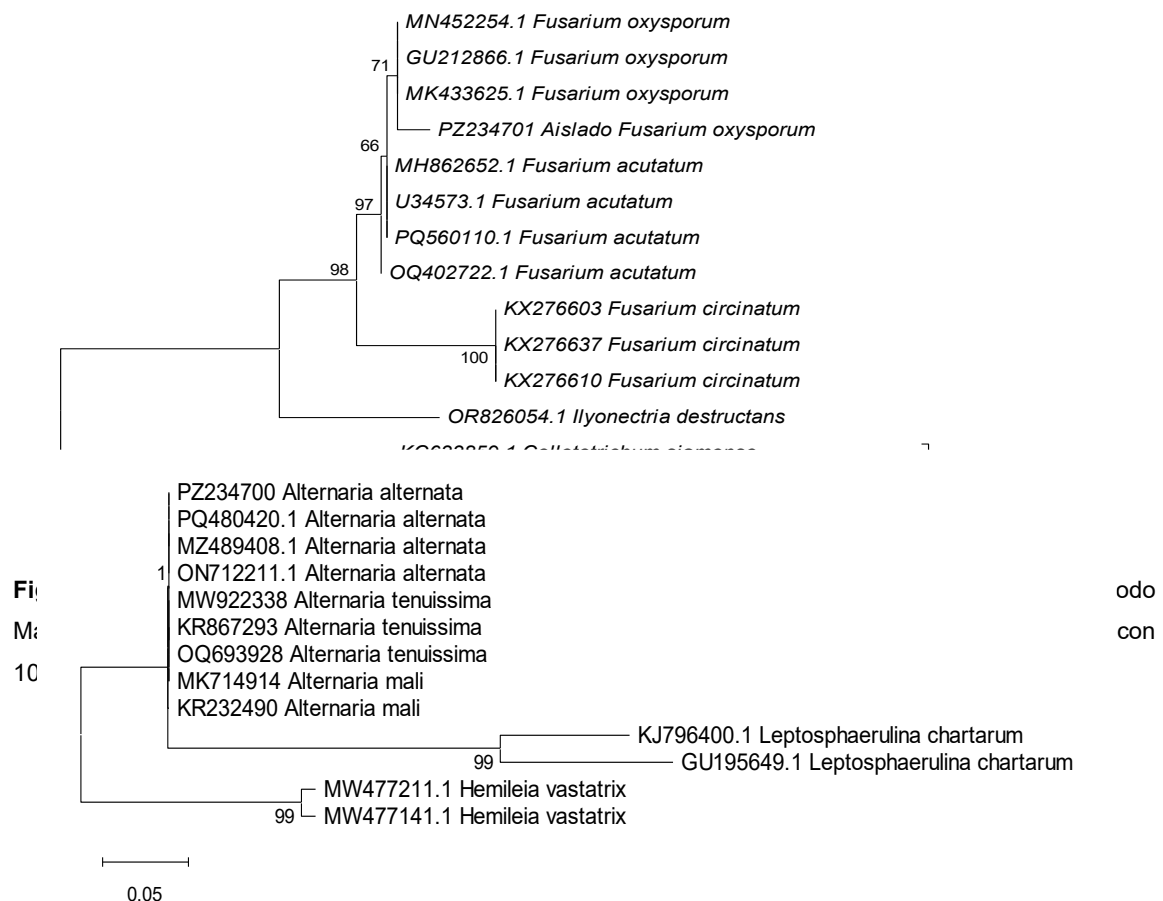


Figura 9. Árbol filogenético para el aislado *Alternaria alternata* (PZ234700). Realizado por el método Máxima Verosimilitud y el modelo Kimura dos parámetros (1980), para el fragmento ITS 4 e ITS 5, con 1000 réplicas

Los resultados mostraron que el aislado en estudio PZ234700 (*Alternaria*), se agrupó en la especie *alternata* (Figura 8). No obstante, el árbol filogenético no mostró separación entre especies debido a que el género posee complejos de especies crípticas y el gen ITS es altamente conservado, por lo cual no distingue la separación de especies reduciendo la detección de variabilidad. Para obtener una confirmación de la especie, sería recomendable utilizar un análisis multilocus con los genes GAPDH, TEF1- α , RPB2 y EndoPG (Yang et al., 2025).

Siguiendo el mismo procedimiento, se realizó el análisis filogenético para el aislamiento PZ234702, preidentificados como *Botrytis cinerea*. Los resultados

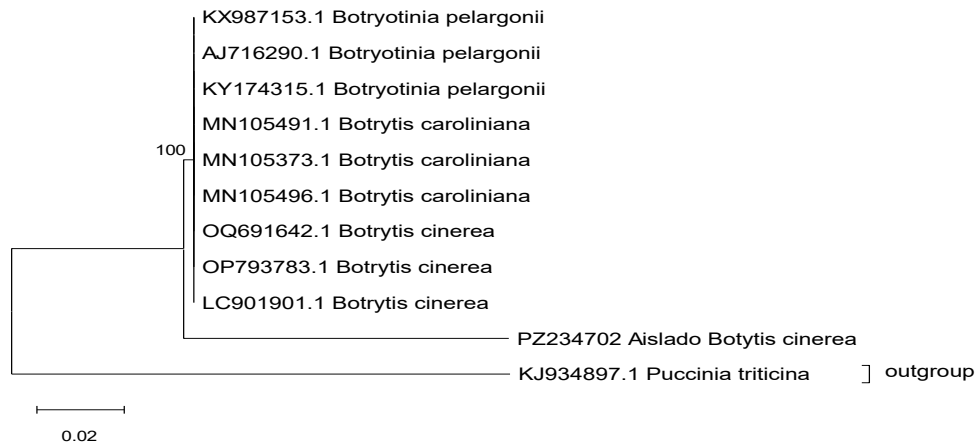


Figura 10. Árbol filogenético para el aislado *Botrytis cinerea* (PZ234702). Se utilizó el método Máxima Verosimilitud y el modelo de Jukes-Cantor (1969) basado en secuencias de ITS 1 y 2 con 1000 réplicas.

obtenidos, no permitieron una agrupación completamente correcta de la especie (Figura 9), puesto que como se ha mencionado para cada árbol filogenético realizado, la literatura recomienda complementar las identificaciones con ITS con marcadores de mayor precisión (Husna et al., 2020).

Aunque este es el primer reporte científico de *Fusarium oxysporum*, *Alternaria alternata* y *Botrytis cinerea* en el cultivo de *Dahlia*, estos fitopatógenos han sido reportados en otras asteráceas ornamentales. Por ejemplo, el crisantemo (*Chrysanthemum*) presenta pudrición de tallo causada por *F. oxysporum* y moho gris causado por *B. cinerea* en diferentes etapas de su producción (Solano et al., 2013). En gerberas (*Gerbera jamisonii*), se ha detectado una alta incidencia del tizón foliar causado por *Alternaria* spp., el cual es considerado una limitante importante para su producción (Munan et al., 2025).

El manejo fitosanitario es un factor determinante para la producción de estas plantas ornamentales. Actualmente, los productores emplean estrategias de control cultural, con el fin de reducir la diseminación del patógeno mediante la interrupción de la continuidad de plantas susceptibles, así como el uso de

diversidad genética entre variedades (Ramírez et al., 2020). De igual manera, hacen uso de agroquímicos, como prochloraz y azoxystrobin en ornamentales y los cultivos de bulbos (Gullino et al., 2015). De igual manera, se hacen aplicaciones con Tricotec® WG en el cultivo de rosa para el control de a *B. cinérea* o algún otro producto de con pirimidina – dicarboximidas o hidroxianilidas – triazoles; en el caso de *Alternaria*, se emplean funguicidas del grupo triazol-estrobilurina (Zapata et al., 2023).

3.4. CONCLUSIÓN

El cultivo de Dalia presentó enfermedades en campo tales como cenicilla, roya, tizón foliar en hojas, antracnosis en botones y capítulos florales maduros, además de marchitez en raíces tuberosas. Los análisis morfológicos y moleculares identificaron a *Fusarium oxysporum* como agente asociado a la marchitez de raíces tuberosas. Aunado a ello, *Alternaria alternata* fue el hongo asociado a síntomas de tizón foliar, mientras que *Botrytis* sp. fue asociado a síntomas de antracnosis. Este estudio representa el primer reporte de microorganismos fitopatógenos en el cultivo de Dalia y sirve como base para contribuir a la determinación esquemas de control o manejo específicos para estos fitopatógenos.

3.5. LITERARURA CITADA

- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (5.^a ed.). Editorial Limusa S.A De C.V
- Bika, R., Baysal-Gurel, F., & Jennings, C. (2020). Botrytis cinerea management in ornamental production: a continuous battle. *Canadian Journal of Plant Pathology*, 43(3), 345-365. doi:<https://doi.org/10.1080/07060661.2020.1807409>
- Bellemain, E., Carlsen, T., Brochmann, C., Coissac, E., Taberlet, P., & Kauserud, H. (2010). ITS como código de barras de ADN ambiental para hongos: un enfoque in silico revela posibles sesgos de PCR. *BMC Microbiol*, 10(189). doi: 10.1186/1471-2180-10-189
- Chen, P.-Y., Wu, C.-J., Wu, U.-I., Liu, W.-D., & Chen, Y.-C. (2026). Evaluación del algoritmo de identificación molecular y su impacto en la susceptibilidad antifúngica frente a aislamientos clínicos de Fusarium : un estudio multicéntrico en Taiwán, 2011-2023. *Resistencia antimicrobiana JAC.*, 8(1). doi: 10.1093/jacamr/dlag022
- Crous, P. W., Lombard, L., Sandoval Denis, M., & Seifert, K. A. (2021). Fusarium: more than a node or a foot-shaped basal cell. *Studies in Mycology*, 98(100116). doi:10.1016/j.simyco.2021.100116
- González Díaz, J. G. (2016). La cenicilla del rosál (*Podosphaera pannosa*). *Agrociencia*, 50(7), 901-917. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1405-31952016000700901&lng=es&tlng=es.
- Doyle, J. J. and Doyle, J. L. 1990. Isolation of plant DNA from fresh tissue. *Focus*, 12: 13-15.

- Escalera Mares, N. M., Lira Morales, J. D., Salazar Villa, E., Molina Cárdenas, L., & Rojo Báez, I. (2025). *Alternaria* en México: Caracterización morfológica y molecular, enfermedades asociadas y estrategias de manejo. *Rev. Mexicana de Fitopatología*, 444(1), 108. doi:<https://doi.org/10.18781/R.ME>
- García García, V., & Camargo Ricalde, S. L. (1998). *Hongos fitopatógenos del clavel*(92), 57-62. Obtenido de https://www.uam.mx/difusion/casadeltiempo/92_sep_2006/casa_del_tiem_po_num92_57_62.pdf
- Gullino, L. M., Daughtrey, M. L., Garibaldi, A., & Elmer, W. H. (2015). Fusarium wilts of ornamental crops and their management. *Crop Protection*, 73, 50-59. doi:<https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.01.003>
- Husna, A., Zakaria, L., & Mohamed Nor, N. M. (2020). Fusarium commune associated with wilt and root rot disease in rice. *Plant Pathology*, 70, 123-132. doi:<https://doi.org/10.1111/ppa.13270>
- Lara Cortés, E., Martín Belloso, O., Osorio Díaz, P., Barrera Necha, L. L., Sánchez López, J. A., & Bautista Baños, S. (2014). Antioxidant capacity, nutritional and functional composition of edible dahlia flowers. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 20(1), 101-116. doi:<https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2013.07.024>
- Lawrence, D. P., Gannibal, P. B., Peever, T. L., & Pryor, B. M. (2013). The sections of *Alternaria*: formalizing species-group concepts. *Mycologia*, 105(3), 530-546. doi:<https://doi.org/10.3852/12-249>
- Lawrence, D. P., Rotondo, F., & Gannibal, P. B. (2016). Biodiversity and taxonomy of the pleomorphic genus *Alternaria*. *Mycol Progress*, 15(3). doi:<https://doi.org/10.1007/s11557-015-1144-x>
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *the Fusarium Laboratory Manual* (First edition, ed.). Blackwell Publishing.

- Mactic, S., Tabone, G., Garibaldi, A., & Guillino, M. L. (2020). Alternaria Leaf Spot Caused by Alternaria Species: An Emerging Problem on Ornamental Plants in Italy. *Plant disease*, 104(8), 2044-2296. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-02-20-0399-RE>
- Minas, K., McEwan, N. R., Newbold, C. J. and Scott, K. P. 2011. Optimization of a high-throughput CTAB-based protocol for the extraction of qPCR-grade DNA from rumen fluid, plant and bacterial pure cultures. *FEMS Microbiology Letters*, 325: 162-169.
- Mirzaei, S., Mohammadi Goltapeh, E., & Shams-bakhsh, M. (2007). Taxonomical studies on the genus Botrytis in Iran. *Journal of Agricultural Technology*, 3(1), 65-76. Obtenido de <https://www.thaiscience.info/journals/Article/IJAT/10843140.pdf>
- Morales, R. A. (2000). El Metconazoles SL para el manejo de la Roya (Phragmidium sp.) en el cultivo de rosas (Rosa sp.) Bajo techo. Cerro punta, panamá. 1999. *Ciencia Agropecuaria*, 73-82. Obtenido de <http://revistacienciaagropecuaria.ac.pa/index.php/ciencia-agropecuaria/article/view/390>
- Munan, M., Pervez, Z., Sanjida, I. J., Saimon, A. R., & Raihan, A. (2025). "Alternaria Leaf Blight on Gerbera: Assessment and in vitro Control in Bangladesh". *Asian Journal of Plant Pathology*, 19(1), 43-53. doi:<https://doi.org/10.3923/ajpp.2025.43.52>
- Murugan, L., Krishnan, N., Venkataravanappa, V., Saha, S., Mishra, A., Sharma, B., & Rai, A. (2020). Caracterización molecular e identificación de la raza de Fusarium oxysporum f. sp. lycopersici que infecta tomates en India. *3 Biotech*, 10(486). doi:<https://doi.org/10.1007/s13205-020-02475-z>.
- Notte, A. M., Plaza, V., Marambio Alvarado, B., Olivares Urbina, L., Poblete Morales, M., Silva Moreno, E., & Castillo, L. (2021). Molecular identification and characterization of Botrytis cinerea associated to the endemic flora of

semi-desert climate in Chile. *Curr Res Microb Sci*, 24(2).
doi:10.1016/j.crmicr.2021.100049. PMID: 34841340

Ormeño Villajos, S. (2024). Enfermedad en plantas y patógenos. En *Introducción a los hongos Fitopatógenos* (Primera edición ed., pág. 195). Madrid: Ormeño. Obtenido de <https://oa.upm.es/82782/1/HongosFitopatogenos.pdf>

Palmucci, H. E., Rivera, M. C., & Wright, E. R. (1997). Botrytis cinérea on potted ornamentals in Argentina. *Bol. San. Veg. Plagas*, 23(2), 295-299. Obtenido de https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_plagas/BSVP-23-02-295-299.pdf

Solano-Báez, R., Leyva-Mir, S. G., et al. (2013). *Etiología y respuesta de variedades de crisantemo a la pudrición del tallo en el Estado de México*. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 31(1) Obtenido de: https://pdfs.semanticscholar.org/103c/8feaf3b98343f6ee7becb1f6ad8fb5aaef6.pdf?_gl=1*grbvg4*_gcl_au*MTg4MDI2OTM5Mi4xNzc2OTAzMjlz*_ga*NzQ4MDQxMjQ1LjE3NzY5MDMyMjM.*_ga_H7P4ZT52H5*czE3NzY5MDMyMjMkbzEkZzAkdDE3NzY5MDMyMjMkajYwJGwwJGgw

Ramírez Gerardo, M. G., Vergara Martínez, C., Vergara Martínez, L. M., & Méjia Carranza, J. (2020). Arreglo espacial de cultivares de crisantemo (*Dendrathera grandiflora*) para disminuir daño por Botrytis. *Rev. mex. fitopatol*, 37(2). doi:<https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1812-4>

Rehner, S. A. and Buckley, E. P.A. 2005. *Beauveria* phylogeny inferred from ITS and EF1- α sequences: evidence for cryptic diversification and links to Cordyceps teleomorphs. *Mycologia*, 97: 84–98.

Rodríguez Ortega, A., Castañeda Vildózola, Á., Hernández Guzmán, F. J., Zúñiga Estrada, E. A., Zúñiga Estrada, M. A., & Rodríguez Ortega, L. T. (2024). Principales características morfológicas de la *Dalia coccinea* del Estado de

Hidalgo. *XAHNI Boletín Científico de la Escuela Preparatoria No. 6*, 1(2), 24-27. Obtenido de <https://www.uaeh.edu.mx/ojs/prepa6/11935.pdf>

Toledo Perdomo, C. (2024). Phytopathogenic diseases in ornamental plants of importance for export in Guatemala. *Revista Ciencia Agraria*, 3(1), 16-35. doi:<https://doi.org/10.35622/j.rca.2024.01.002>

Vivar Evans, S., Barradas L., V., Sánchez Coronado, M. E., Gamboa de Buen, A., & Orozco Segovia, A. (2006). Ecophysiology of seed germination of wild *Dahlia coccinea* (Asteraceae) in a spatially heterogeneous fire-prone habitat. *ELSEVIER*, 29(2), 187-195. doi:<https://doi.org/10.1016/j.actao.2005.10.0>

White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: PCR protocols: a guide to methods and applications. (Eds.). Innis, M. A.; Gelfand, D. H.; Sninsky, J. J. and White, T. J. Academic Press, Inc., New York. 315-322 pp.

Yang, Y., Gan, Y., Xu, W., Huang, Y., Xin, T., Tan, R., & Song, J. (2025). Análisis del genoma completo para la identificación de especies de *Alternaria*. *J Fungi*, 11(3), 185. doi:<https://doi.org/10.3390/jof11030185>

Zapata Narváez, Y. A., & Botina Azain, B. L. (2023). Effect of adjuvants, fungicides and insecticides on the growth of *Trichoderma koningiopsis* Th003. *Mexican Journal of Phytopathology*, 41(3), 412-433. doi:<https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2305-1>

CAPÍTULO 4. ACTIVIDAD ANTAGÓNICA *in vitro* DE HONGOS BENÉFICOS CONTRA *Fusarium oxysporum* AISLADO DEL CULTIVO DE DALIA (*Dahlia* spp.)

Resumen

La dalia es reconocida como la flor nacional de México y posee una gran importancia cultural; sin embargo, aún no se cuenta con esquemas específicos para el manejo de hongos fitopatógenos presentes en el cultivo. La susceptibilidad de la dalia ante diferentes enfermedades ha aumentado debido a los cambios ambientales actuales, lo cual favorece el desarrollo de fitopatógenos y puede ocasionar pérdidas significativas. Entre estos destaca el género *Fusarium*, un patógeno de gran importancia agrícola por su capacidad de causar daños severos en los cultivos. Esto resulta relevante para la dalia, ya que afecta directamente a las raíces tuberosas, estructuras clave para su propagación y desarrollo. Por ello, el objetivo de este estudio es corroborar la patogenicidad de *Fusarium oxysporum*, aislado de raíces tuberosas, en *Dahlia coccinea*, así como evaluar el potencial antagónico *in vitro* de *Trichoderma harzianum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium* sp. e *Isaria fumosorosea* mediante confrontaciones duales contra dicho patógeno, con el fin de seleccionar una cepa con potencial antagónico ante el manejo de *F. oxysporum* en el cultivo de dalia. Para demostrar que *F. oxysporum*, es el agente causal de la marchitez de raíz en dalia, se realizaron pruebas de patogenicidad mediante la inoculación controlada de raíces tuberosas, lo que permitió evidenciar que la cepa aislada, causa enfermedad, de acuerdo con los postulados de Koch. Asimismo, se realizó un bioensayo de confrontación dual entre los diferentes microorganismos con actividad antagónica y *F. oxysporum* obteniéndose como resultado que *Trichoderma harzianum* e *Isaria fumosorosea* fueron los antagonistas más efectivos; sin embargo, se seleccionó *T. harzianum* para continuar los ensayos debido a su mayor potencial de control biológico y viabilidad de aplicación en campo.

4.1. INTRODUCCIÓN

A pesar de la importancia cultural de la dalia para México como su flor nacional, no existen esquemas específicos de manejo de hongos fitopatógenos para esta especie (Jiménez Mariña, 2015). Las enfermedades que pueden presentarse en este cultivo pueden ocasionar desde afectaciones menores hasta pérdidas totales en el cultivo (Toledo Perdomo, 2024). Esta problemática ha aumentado debido a los cambios ambientales que están ocurriendo actualmente y que como favorecen el desarrollo de fitopatógenos (Zingales et al., 2022).

Entre los hongos de mayor importancia agrícola y económica a nivel mundial se encuentra el género *Fusarium*, el cual posee numerosas especies fitopatógenas de distribución cosmopolita (DGSV-CNRF, 2020). Los hongos de este género representan una doble amenaza para las especies que atacan, puesto que causan daño directo a los cultivos ocasionando pérdidas en rendimiento y daño indirecto a través de la producción de micotoxinas peligrosas, particularmente fumonisinas (Tagyan et al., 2025). El género *Fusarium* se asocia con la marchitez en cualquier etapa de la planta ya que causa pudriciones en órganos vegetativos como hojas, tallo y raíces (Figueroa et al., 2010). Esto es de vital importancia para el cultivo de dalia, puesto que esta planta posee raíces tuberosas, las cuales funcionan como reservas energéticas para el periodo de floración y posteriormente rebrote; también estas raíces funcionan como material vegetal de propagación, lo cual le otorga importancia no solo fisiológica si no económica (Jiménez Mariña, 2015).

Históricamente, el control de *Fusarium* y otros microorganismos fitopatogenos se ha llevado a cabo mediante el uso de plaguicidas químicos. No obstante, el uso de este tipo de productos en México y en el mundo es cada vez más restringido. Por ejemplo, en nuestro país se prohibió el uso de 35 plaguicidas químicos por decreto presidencial en aras de propulsar una agricultura más sustentable. En este contexto, una alternativa ante la creciente restricción en uso de plaguicidas químicos, se encuentra la aplicación de agentes de control biológico. Entre ellos, el uso de hongos antagonistas representa una herramienta sustentable basada

en interacciones complejas que inhiben el crecimiento de hongos fitopatógenos mediante numerosos mecanismos de acción tales como: competencia directa por nutrientes y espacio, micro parasitismo directo, producción de antibióticos a través de la excreción de compuestos tóxicos, inactivación de enzimas patógenas, entre otros; además, el uso de estos microorganismos es compatible con algunas prácticas de manejo (Rios et al., 2016).

Para elegir un microorganismo con potencial de actividad antagónica, se analizan y seleccionan a partir de pruebas de inhibición *in vitro*, las cuales se llevan a cabo por lo general en la superficie de agar sólido en cajas petri, colocando un disco micelial del fitopatógeno en un extremo de la placa de agar y el posible control antagónico en el otro extremo. Esta técnica, denominada “confrontamiento dual”, se emplea para identificar interacciones antagonistas entre colonias en una superficie de agar de forma rápida y sencilla (Nysanth et al., 2022). Por lo anterior, el objetivo de este capítulo es corroborar la patogenicidad de *Fusarium oxysporum*, aislado en el capítulo II, en *Dahlia coccinea* y evaluar el potencial antagónico *in vitro* de *Trichoderma harzianum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium* sp. e *Isaria fumosorosea* en confrontaciones duales contra dicho patógeno para seleccionar una cepa con potencial de uso en manejo de *Fusarium oxysporum* en cultivos de dalia.

4.1. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1.1 Prueba de patogenicidad

Para poder demostrar que *Fusarium oxysporum* es el agente causal de la marchitez de raíz en el cultivo de la dalia se realizaron pruebas de patogenicidad. Para ello, se utilizaron 36 raíces tuberosas las cuales se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 1.5% durante 1.5 min que posteriormente se lavaron con agua destilada estéril y se dejaron secar sobre toallas de papel adsorbente estériles. Las raíces se colocaron dentro de contenedores transparentes de tipo bisagra para simular una cámara húmeda. A cada raíz tuberosa se le realizaron tres heridas superficiales con una navaja estéril. La inoculación se llevó a cabo utilizando una suspensión de conidios a dos concentraciones, las cuales se prepararon en condiciones asépticas. Para ello, se colocaron 150 ml de medio líquido en un matraz de 250 ml. Posteriormente, el medio fue inoculado bajo campana de flujo laminar con la cepa que fue aislada de las raíces tuberosas de dalia con 7 días de crecimiento en medio PDA. Una vez inoculado, el medio líquido, se dejó en agitación constante a temperatura ambiente. A partir de la suspensión obtenida, se tomaron 100 μl de la solución madre para realizar diluciones seriadas en tubos Eppendorf que contenían 900 μl de Tween 20 estéril para dispersar los conidios de forma homogénea. La concentración de la suspensión se ajustó para obtener 1×10^5 y 1×10^7 UFC mL^{-1} . Cada una de las concentraciones se aplicó mediante dos métodos de inoculación diferentes, como se muestra en la Tabla 2. Los testigos fueron inoculados mediante ambos métodos utilizando Tween 20 para estandarizar el control y asegurar el efecto observado durante el bioensayo.

Tabla 2. Diseño experimental para pruebas de patogenicidad.

Tratamiento	Inoculo	Método de inoculación	Concentración	Número de repeticiones
T1	Tween 20	Inmersión		6
T2	Tween 20	Aspersión		6
T3	<i>Fusarium oxysporum</i>	Inmersión	1x10 ⁷	6
T4	<i>Fusarium oxysporum</i>	Aspersión	1x10 ⁵	6
T5	<i>Fusarium oxysporum</i>	Inmersión	1x10 ⁵	6
T6	<i>Fusarium oxysporum</i>	Aspersión	1x10 ⁷	6

Para ambas concentraciones, las raíces tuberosas se sumergieron por 30 segundos y las que fueron aspersión, se asperjaron tres veces con un atomizador de pulverización fina. Cada tratamiento se comparó con un testigo sano, el cual fue tratado con Tween 20. Todos estos procedimientos se realizaron bajo condiciones estériles en una campana de flujo laminar. Finalmente, una vez inoculadas todas las raíces tuberosas, estas fueron monitoreadas cada 12 horas durante una semana hasta observar la aparición de síntomas típicos de *Fusarium oxysporum*. Una vez transcurrido el tiempo establecido, el postulado de Koch se verificó mediante la técnica de re-aislamiento del fitopatógeno a partir de las raíces tuberosas que presentaron crecimiento micelial sobre las superficies del tejido vegetal.

4.1.2 Confrontamientos duales

Se llevó a cabo un bioensayo para confrontar el fitopatógeno de interés (*Fusarium oxysporum*) contra cada uno de los posibles antagonistas (*Trichoderma harzianum*, *Beauveria bassiana*, *Isaria fumosorosea* y *Metarhizium sp.*) con el fin de determinar si alguno tenía actividad antagónica contra el fitopatógeno responsable de la marchitez en dalia. Se sembraron las cepas para obtener crecimiento joven de 7 días. Cuando cada cepa cubrió completamente la superficie de la caja se tomó un nuevo fragmento de 1mm de cada una y se colocó en otra caja con medio PDA dejando 1 cm de distancia del borde de la caja, al mismo tiempo, pero en el extremo opuesto de la caja se colocó un

fragmento de 1 mm de diámetro de *Fusarium oxysporum* de modo que, en cada caja, cada posible antagonista estuviera en confrontación con el fitopatógeno como se muestra en la Figura 10. Para cada tratamiento se establecieron cinco repeticiones y un control, el cual consistió en el crecimiento individual de cada microorganismo con actividad antagónica sobre medio PDA. colocando un fragmento del micelio en el extremo derecho de la caja Petri para permitir su crecimiento hasta cubrir la mitad de la superficie. Este bioensayo se detuvo hasta que cada uno de los controles completaron su crecimiento bajo estas condiciones.

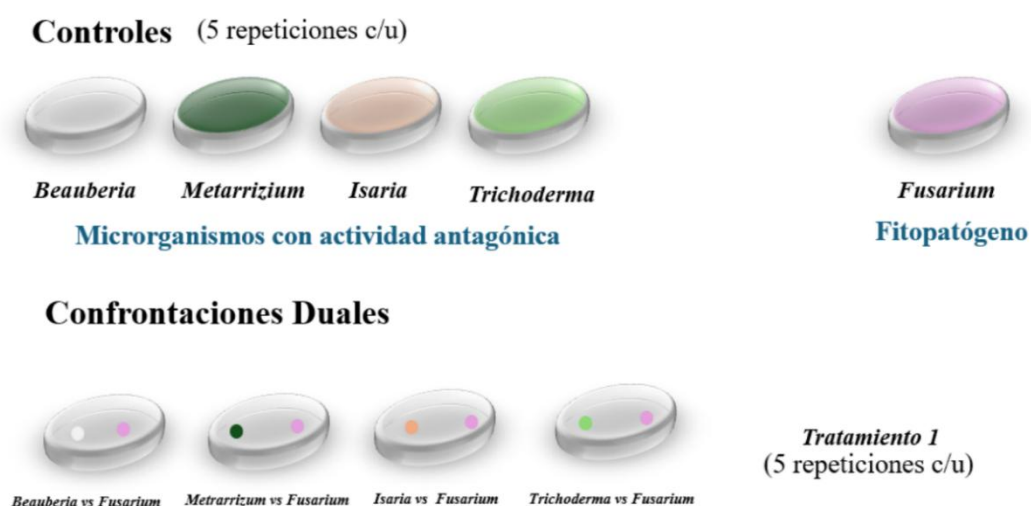


Figura 11. Bioensayo para las confrontaciones duales entre *Fusarium oxysporum* y los antagonistas.

4.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.2.1 Prueba de patogenicidad

Se observó crecimiento micelial blanquecino en la superficie de las seis raíces tuberosas que fueron sumergidas en una solución de conidios a 1×10^7 UFC/ml después de 24 h de exposición (Figura 11). Cabe destacar, que la infección generó pudrición interna del tejido de color café oscuro, mientras que el tejido de las raíces testigo no mostraron daño en su tejido. Esto demuestra que la cepa aislada, efectivamente es fitopatógena en raíces de dalia (Walker et al 2006).

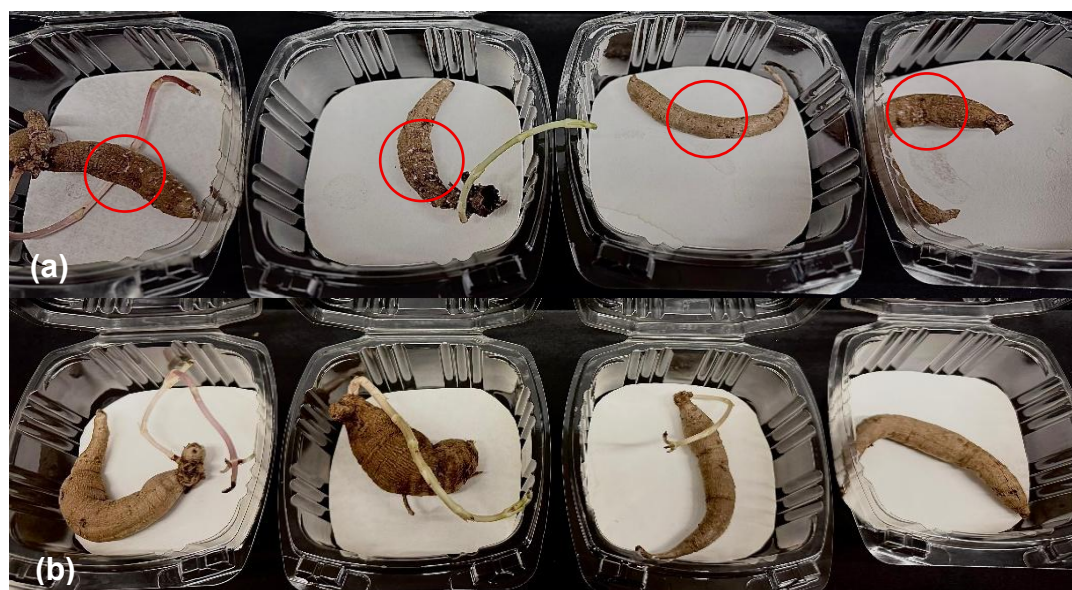


Figura 12. Evaluación del Postulado de Koch en raíces tuberosas de *Dahlia coccinea*. a) Crecimiento micelial blanquecino sobre raíces tuberosas del tratamiento 3, a las 24 h DDI, las cuales fueron inoculadas mediante la técnica de inmersión a una concentración de 1×10^7 conidios/ml b) Raíces tuberosas del testigo inoculadas con Tween 80 mediante la técnica de inmersión, las cuales no presentan lesiones después de 24 h DDI de inoculación."

4.2.2 Confrontamientos duales

El grado de antagonismo en cuanto a competencia por espacio de *T. harzianum*, *B. bassiana*, *Metarhizium* sp. e *I. fumorosea* se evaluó con una escala de 5 niveles. Tipo 1 = el antagonista creció sobre el hongo patógeno y cubrió la superficie del medio; Tipo 2 = el antagonista creció al menos en dos terceras partes de la superficie del medio de interacción; Tipo 3 = el antagonista y *Fusarium* colonizaron cada uno el 50% de la superficie del medio cada uno; Tipo 4= *Fusarium* cubrió dos terceras partes de la superficie del medio de interacción; Tipo 5= *Fusarium* creció sobre el antagonista y colonizó el 100% de la superficie del medio de interacción (Bell et al., 1980). En este contexto, *T. harzianum* e *I. fumosorosea* fueron los antagonistas que presentaron un efecto antagónico de tipo 1, mientras que *Beauveria bassiana* y *Metarhizium* sp. mostraron efectos de tipo 4 (Figura 11 e-h). No obstante, cabe resaltar que, aunque estos dos últimos colonizaron menor porcentaje de la superficie de interacción, mostraron otro tipo

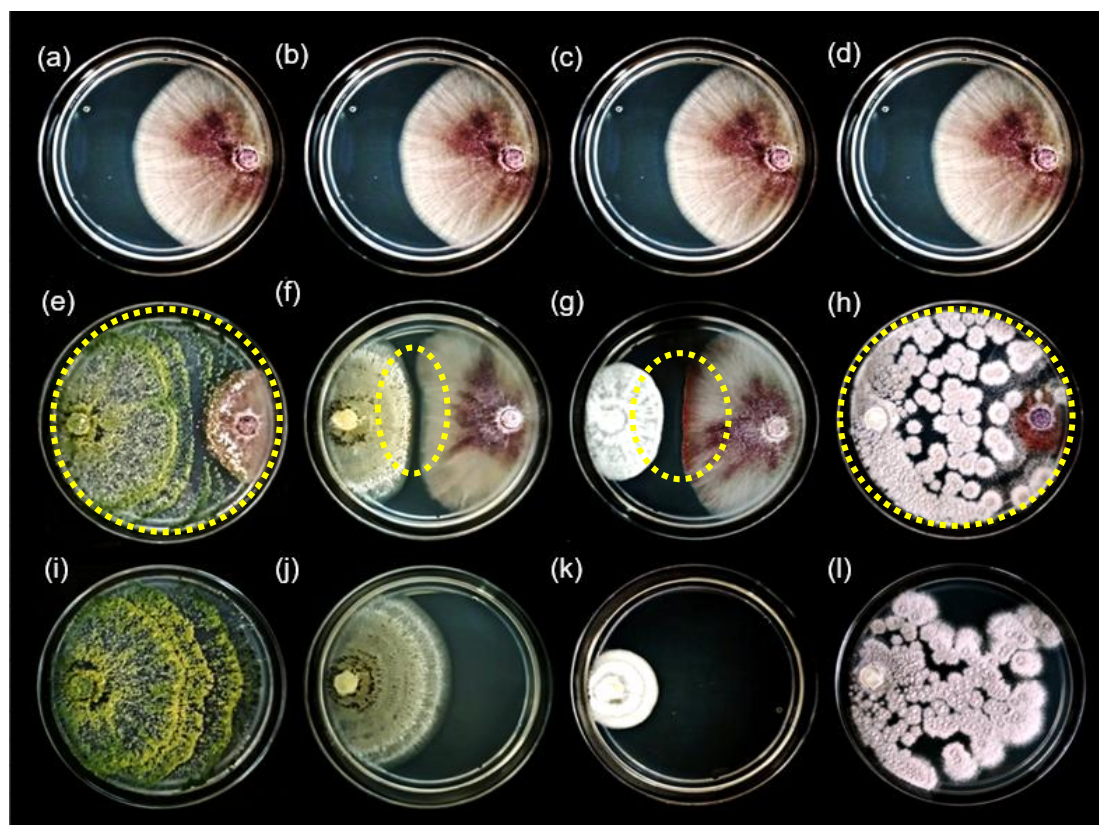


Figura 13. Evaluaciones del antagonismo dual entre la cepa *Fusarium oxysporum* y los antagonistas.

de inhibición contra *Fusarium*, la cual es discutida con más detalle en este capítulo.

En el caso de *Trichoderma*, su efecto antagónico se ha asociado con su capacidad para de secretar quitinasas extracelulares (Paredes et al., 2011). De manera más específica, *T. harzianum* mostró competencia fuerte por nutrientes y espacio, lo cual genera inhibición del crecimiento radial de otros hongos. Ríos et al., (2016) y Cooney et al., (2001) reportaron que *T. harzianum* produce numerosos antibióticos, entre ellos, la 6-pentil- α -pirona, la cual ejerce un efecto dual, antimicrobiano y regulador de genes, a través de biosíntesis de tricotecenos y micotoxinas con actividad antimicrobiana de amplio espectro.

En cuanto a *I. fumosorosea*, esta cepa mostró actividad antagónica caracterizada por alta esporulación, la cual se vio reflejada en la presencia de múltiples colonias que rodean la colonia de *F. oxysporum*. En el caso de *Metarhizium* sp. y *B. bassiana*, aunque estos inhibieron en menor proporción el crecimiento de *Fusarium* comparados con *Trichoderma* e *Isaria*, mostraron tipo de inhibición ocasionando una zona de inhibición entre ambas colonias (Figuras 11g y 11f). Al respecto, Cruz et al., (2025) mencionan que la actividad antagónica que posee *Metarhizium* sp. contra *Fusarium oxysporum* causa tanto la inhibición del crecimiento micelial como su esporulación, mientras que *B. bassiana* muestra una actividad antagónica mediante la antibiosis más clara, debido a la liberación de enzimas hidrolíticas (Montoya et al., 2016).

Interesantemente, en las interacciones entre *F. oxysporum* y *T. harzianum*, *B. bassiana* e *I. fumosorosea*, se observó el incremento de la producción de pigmento rojo-rosado. Dicho pigmento, se asocia a un metabolito llamado bikaverina, el cual es producido por *Fusarium* como un agente antimicrobiano que inhibe a microorganismos nativos de la rizosfera, lo cual le facilita colonizar la raíz de su hospedero (Lu et al., 2025). Por ello, el incremento de esta pigmentación durante sus confrontamientos *in vitro* con estos puede representar un mecanismo de defensa de contra estos tres agentes antagónicos. En el caso de *Metarhizium* sp., no se observó dicho fenómeno, lo cual sugiere que esta cepa

puede poseer algún mecanismo para inhibir la síntesis de bikaverina en *Fusarium oxysporum* (Figura 11).

Aunque los cuatro antagonistas mostraron ser capaces de inhibir el crecimiento de *Fusarium*, se debe considerar que la eficiencia de los hongos entomopatógenos, como *Isaria*, su capacidad para colonizar la rizosfera depende de su viabilidad al momento de ser aplicado en campo (Cruz et al., 2025). Esta viabilidad puede ser reducida debido a la sensibilidad a altas temperaturas, a la incidencia de radiación UV y la competencia con microorganismos nativos del suelo. Lo anterior significa que, a pesar de su buena capacidad antagónica, el uso en campo de *Isaria* necesita ser acompañado de desarrollo tecnológico para asegurar su funcionalidad en campo. En el caso de *Metarhizium* sp y *Beauveria*, si bien inhibieron a *Fusarium*, estos no fueron capaces de colonizar el resto del espacio del medio de interacción. Por ello, se eligió a *T. harzianum* como el antagonista que se probaría *in vivo* contra *Fusarium oxysporum*.

4.3. CONCLUSIONES

Fusarium oxysporum es el agente causal de la marchitez de raíz en *Dahlia* spp., el cual se comprueba y reporta por primera vez en este trabajo de investigación; aunado a ello, se comprobó el potencial antagónico *in vitro* de *Trichoderma harzianum*, *Beauveria bassiana*, *Metarhizium* sp. e *Isaria fumosorosea*. En general, las cepas antagónicas mostraron dos tipos de competencia, una por espacio y nutrientes y otra mediante la liberación de sustancias alelopáticas al medio de interacción directamente en la zona de confrontación. No obstante, debido a su estabilidad y velocidad de crecimiento *Trichoderma harzianum* representa la cepa con mayor potencial de aplicación en campo. No obstante, dicho potencial *in vitro* debe ser corroborado en pruebas *in vivo* para establecer un sistema de manejo basado en el uso de este agente antagónico.

4.4 LITERATURA CITADA

- Bell DK, Wells HD, Markham CR. 1980. In Vitro antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. *Ecology and Epidemiology* 72: 379-382.
- Cooney, J. M., Lauren, D. R., & di Menna, M. (2001). Impact of Competitive Fungi on Trichothecene Production by *Fusarium graminearum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 49(1), 522-526. doi:doi: 10.1021/jf0006372
- Cruz Rodríguez, I., Pereyra Arrollo, M. I., Ruiz Lau, N., Ruiz Valdiviezo, V. M., Porraz Ruiz, M. L., & Gómez Salinas, J. A. (2025). Characterization of Encapsulates of *Metarhizium anisopliae* and its Effect on the Growth of *Capsicum chinense* Jacq. Plants Inoculated with *Fusarium*. *Terra Latinoam*, 43. doi:<https://doi.org/10.28940/terra.v43i.2004>
- DGSV-CNRF. (2020). *Podredumbre de raíces por Fusarium spp (Hypocreales: Nectriaceae) en maíz*. (D. G.-C. Fitosanitaria., Ed.) Obtenido de https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/633031/Fusarium_spp__ma_z__2020.pdf
- Figueroa Rivera, M. G., Rodríguez Guerra, R., Guerrero Aguilar, B. Z., González Chavira, M. M., Pons Hernandez, J. L., Jiménez Bremont, J. F., . . . Mendoza Elos, M. (2010). Characterization of *Fusarium* Species Associated with Rotting of Corn Root in Guanajuato, Mexico. *Rev. mex. fitopatol*, 28(2), 124-134. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092010000200005&lng=es&tlng=es.
- Jiménez Mariña, L. (2015). El cultivo de la Dalia. *Cultivos Tropicales*, 36(1), 107-115. Obtenido de CULTIVOS: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362015000100014&lng=es&tlng=en
- Lu, H., Guo, S., Yang, Y., Zhao, Z., Xie, Q., Wu, Q., ... & Wang, Q. (2025). *Bikaverin as a molecular weapon: enhancing Fusarium oxysporum pathogenicity in bananas via rhizosphere microbiome manipulation*. *Microbiome*, 13(1), 107.

- Montoya Espinosa, W., Nolasco Cárdenas, O. P., Acuña Payano, R. K., & Gutiérrez, A. I. (2016). β -1,3-glucanases expression of *Beauveria bassiana* in culture with extract of the phytopathogenic *Peronospora variabilis* and *Fusarium oxysporum*. *Scientia Agropecuaria*, 7(3), 253-257. Obtenido de <https://www.redalyc.org/pdf/3576/357657630013.pdf>
- Nysanth, N. S., Sivapriya, S. L., Natarajan, C., & Anith, K. N. (2022). Novel in vitro methods for simultaneous screening of two antagonistic bacteria against multiple fungal phytopathogens in a single agar plate. *NHI*, 16(6). doi:<https://doi.org/10.1007/s13205-022-03205-3>
- Paredes Escalante, J. E., Carrillo Facio, J. A., Sañudo Barajas, J. A., Allende Molar, R., & García Estrada, R. S. (2011). Lytic Enzymes Produced by *Trichoderma* spp. and Their Correlation With in vitro Inhibition of Chickpea Root Rot Pathogens. *Rev. Mexicana de Fitopatología*, 29(1), 73-75. Obtenido de <https://www.scielo.org.mx/pdf/rmfi/v29n1/v29n1a8.pdf>
- Rios Velasco, C., Caro Cisneros, J. M., Berlanga Reyes, D. I., Ruíz Cisneros, M. F., Ornelas Paz, J. J., Salas Marina, M. Á., & Guerrero Prieto, V. M. (2016). Identification and antagonistic activity in vitro of *Bacillus* spp. and *Trichoderma* spp. isolates against common phytopathogenic fungi. *Rev. mex. fitopatol*, 34(1), 85-99. doi: <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1507-1>.
- Tagyan, A. L., Alashaal, S., Alkhalifah, D. H., Adelghany, W. R., & Hozzein, W. N. (2025). Estimación de la distribución global de *Fusarium proliferatum* impulsada por el cambio climático y evaluación del riesgo de micotoxinas bajo escenarios de calentamiento futuro. *Front. For. Glob. Change*, 8(167). doi:10.3389/ffgc.2025.1673494
- Toledo Perdomo, C. (2024). Phytopathogenic diseases in ornamental plants of importance for export in Guatemala. *Revista Ciencia Agraria*, 3(1), 16-35. doi:<https://doi.org/10.35622/j.rca.2024.01.002>
- Walker, L., LeVine, H., & Jucker, M. (2006). Koch's Postulates and Infectious Proteins. *Acta Neuropathol*, 112(1), 1-4. doi:10.1007/s00401-006-0072-x
- Zingales, V., Taroncher, M., Martino, P. A., Ruiz, M. J., & Caloni, F. (2022). Climate Change and Effects on Molds and Mycotoxins. *MDPI*, 14(7), 445. doi:<https://doi.org/10.3390/toxins14070445>

CAPÍTULO 5. EVALUACIÓN DE LOS PARÁMETROS DE CRECIMIENTO, DESARROLLO Y PATRONES DE INULINA EN *Dahlia coccinea* EN RESPUESTA A LA INTERACCIÓN DE *Fusarium oxysporum* Y *Trichoderma harzianum*

RESUMEN

La dalia se cultiva en macetas, flor de corte y jardinería por su diversidad de formas, tamaños y colores. Sin embargo, su productividad depende del genotipo, las condiciones ambientales y el manejo agronómico. Como otros cultivos, es susceptible a fitopatógenos del suelo, destacando *Fusarium* sp. Aunque existen estrategias agroquímicas, el uso de microorganismos benéficos representa una alternativa sostenible, ya que se asocian con las raíces, promueven el crecimiento, mejoran el suelo y controlan fitopatógenos. Por ello, el objetivo de este capítulo fue analizar parámetros de crecimiento y producción de inulinas de *D. coccinea* en respuesta a la infección por *Fusarium oxysporum* y su interacción con *Trichoderma harzianum*. Los resultados mostraron que los tratamientos con *Trichoderma* y la interacción de ambos hongos promovieron la altura de planta, mientras que *F. oxysporum* la redujo. El diámetro de tallo fue mayor en Mix. La floración fue baja en todos los tratamientos. No existieron diferencias significativas en biomasa total, excepto en botones, donde el Testigo presentó mayores valores. Adicionalmente, *Trichoderma* redujo la producción de inulinas en raíces tuberosas. Este trabajo conforma una prueba de que incluso el uso de agentes de control biológico también puede afectar el cultivo en el que se inoculan y que, aunque estos microorganismos han sido ampliamente benéficos, también pueden producir efectos negativos, por lo cual es de vital importancia comenzar a sistematizar su uso dependiendo del cultivo y evitar su aplicación indiscriminada en campo.

5.1 INTRODUCCIÓN

El cultivo de dalia (*Dahlia* spp.) tiene origen prehispánico, donde era conocida como “Flor de camote” o “xicamiti” derivado de xicami, en referencia a su raíz de tipo tuberosa (SEMANART, 2018). Desde esa época los usos de esta planta eran variados, puesto que se usaban como elementos ornamentales para decorar templos o para teñir las telas de algodón con los pigmentos de sus inflorescencias (SADER, 2020). El uso y significado histórico de esta especie la llevó a ser proclamada como la flor nacional de México en 1963 por decreto del presidente Adolfo López Mateos, esto con el fin de promover su cultivo, no solo de manera ornamental sino por las propiedades nutritivas y medicinales que esta planta posee (SADER, 2020).

En México, la dalia se cultiva tanto en macetas como para flor de corte y jardinería (Mejía et al., 2020). Por la fascinación que provoca esta planta a nivel global debido a su variedad en formas, tamaños y colores (Lara et al., 2014). En la actualidad, una de las principales características nutraceuticas que posee la dalia es la producción y acumulación de inulina en sus raíces tuberosas (Ismawati, 2024). La inulina es un grupo heterogéneo de polisacáridos constituidos por monómeros de fructosil-fructosa (Santana et al., 2016) unidas a través de enlaces $\beta(2\rightarrow1)$. Este enlace hace que la inulina sea resistente a la digestión ácida y por enzimas del aparato digestivo, lo que conduce a un retraso en el vaciamiento gástrico y una ralentización de la absorción de glucosa (Ismawati, 2024). Dichos monómeros se sintetizan en hojas durante la fotosíntesis (Kusmiyati et al., 2018) y posteriormente son transportadas principalmente a tallos y raíces, en esta última, enzimas como la 1-fructofuranosil transferasa (1-FTT), se encargan de utilizar a la sacarosa como base para polimerizar unidades de fructosa y así producir cadenas de inulina de diferentes grados de polimerización, las cuales se almacenan en vacuolas en forma de esferocristales en las raíces tuberosas de estas plantas (Lara et al., 2014).

La inulina extraída de las raíces tuberosas de dalia es considerada de alta calidad debido a su alto contenido de fibras solubles e insolubles, el cual depende del grado de polimerización de estas (Kusmiyati et al., 2018). Por ejemplo, las cadenas de inulina con grado de polimerización de 3 a 14 unidades son consideradas como fructooligosacáridos (FOS), los cuales poseen el mayor efecto prebiótico (Madrigal y Sangronis, 2007), mientras que inulinas con grado de polimerización mayor a 14 se consideran como inulinas de alto grado de polimerización, las cuales se han asociado a efectos anticancerígenos contra el cáncer de colon (Oliero et al., 2024). Adicionalmente, la inulina representa una fuente alimenticia que ayuda a reducir los niveles de triglicéridos y colesterol en sangre e incluso a controlar el síndrome metabólico (Huazano-García y López, 2015; SADER, 2020).

No obstante, a pesar de los beneficios de este cultivo sobre la salud humana, al igual que cualquier otro cultivo, la dalia enfrenta retos fitosanitarios ocasionados por diversos fitopatógenos (Jiménez Mariña, 2015), aunque no existe un listado oficial de enfermedades específicas para este cultivo (Castañeda et al., 2016). La presencia de fitopatógenos que afectan a la raíz desencadena daños en el rendimiento y producción de la planta. Ante esta problemática, en los últimos años, ha emergido el uso de una gran variedad de microorganismos benéficos que funcionan como promotores del crecimiento vegetal, que ayudan además a preservar la calidad de los suelos agrícolas. Ello con el propósito de reducir el impacto ambiental generado por los agroquímicos y pesticidas. Estos microorganismos incluyen tanto bacterias como hongos beneficiosos que se asocian de manera saprofítica o simbiótica con las raíces de las plantas. Un ejemplo importante de ellos son las especies del género *Trichoderma*, las cuales son reconocidas como agentes de control biológico (Pani et al., 2021) debido a su capacidad antagónica frente a varios fitopatógenos, incluyendo a *Fusarium* sp. Su efectividad se debe a una combinación de distintos mecanismos de acción que incluyen la secreción de enzimas hidrolíticas como quitinasas y glucanasas, las cuales juegan un papel crucial en la lisis de las paredes celulares de los fitopatógenos, así como en la producción de compuestos antimicrobianos (Blaya

et al., 2013). No obstante, su efecto sobre el hospedero en el que se aplican se han dejado de lado y recientemente se han reportado especies de *Trichoderma* que se pueden comportar como patógenas bajo circunstancias específicas (Cortes et al., 2023)

Por ello, es de vital importancia caracterizar el efecto de *Trichoderma harzianum* tanto como agente antagónico *in vivo* contra *Fusarium oxysporum* como sus posibles efectos sobre la producción de inulinas en las raíces tuberosas de *Dahlia* sp. Por lo anterior, el objetivo de este capítulo fue caracterizar el efecto protector de *T. harzianum* contra la marchitez de la raíz ocasionado por *F. oxysporum* y la variabilidad del perfil de inulinas en las raíces tuberosas en respuesta a la infección por los fitopatógenos y su interacción con el agente antagónico utilizando a *D. coccinea* Cav. Como modelo de estudio.

5.2 MATERIALES Y MÉTODOS

En la Universidad Autónoma Chapingo en los invernaderos de posgrado de Fitotecnia bajo la supervisión del M.C. José Merced Mejía, donde se realizó la siembra y experimentación a nivel invernadero del cultivo de la dalia a cielo abierto, por lo que variables como luz, humedad y temperatura no fueron controladas durante la experimentación.

5.2.1 Material vegetal

Primera etapa: Para la obtención de plántulas se sembraron 100 semillas de *Dahlia coccinea* en una charola de germinación previamente desinfectada con hipoclorito de sodio al 2% y rellenas con *peat most* esterilizado como sustrato, las semillas en las charolas se dejaron en incubación a una temperatura de 25° C hasta observar emergencia de plántulas. Las plántulas se regaron cada tercer día para mantener la humedad del sustrato. A los 9 días después de emergencia su siembra las plántulas fueron trasplantadas a macetas de 1L previamente desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% con sustrato estéril para iniciar con crecimiento durante 4 meses; se hicieron riegos cada tercer día y se fertilizó tres

veces por semana con Ultasol® en el primer mes, posteriormente una vez al mes con Elixir Supreme 12:12:17®.

Segunda etapa: En el último mes de crecimiento en macetas de 1 L, se detuvo el riego dejándose secar la parte aérea de la planta para proseguir con la obtención y almacenamiento de raíces tuberosas y así protegerlas del periodo de invierno. Se cortó la parte aérea de la planta, posteriormente se retiró el sustrato de las macetas quitando el exceso del sustrato de las raíces tuberosas, las cuales se colocaron en una caja de plástico para evitar su exposición directa a la luz y se almacenaron en un lugar oscuro y fresco durante 3 meses.

Tercera etapa: Para iniciar el nuevo ciclo de la planta, las raíces tuberosas se sembraron en macetas desinfectadas con hipoclorito de sodio al 2% y llenadas con *peat most* estéril y se hizo una mezcla homogénea con perlita. Posteriormente, las raíces tuberosas se fertilizaron de igual manera que en la etapa 2, es decir, 3 veces por semana con Ultasol® y posterior al mes se empezó a fertilizar 1 vez al mes con Elixir Supreme 12:12:17®. El riego fue cada tercer día estando a cielo abierto hasta obtener una homogeneidad de plantas para iniciar con la segunda parte experimental.

5.2.2 Obtención del inóculo de *Trichoderma harzianum*

Se colocó arroz en un contenedor de plástico con agua y se dejó remojar por 2 min, posteriormente se retiró el agua y se extendió de manera uniforme sobre una bandeja para secarlo bajo el sol directo manteniendo una humedad del 50 al 70 %. Una vez secado el arroz, se pesaron 200 g del grano en bolsas de poli papel, se cerraron y se esterilizaron por 15 min a 180 psi, posteriormente el material estéril se dejó enfriar a temperatura ambiente.

Para la inoculación del arroz, se utilizaron 5 cajas con crecimiento de 7 días de *Trichoderma harzianum*; se hizo un raspado de caja en una suspensión de 7 mL para cada bolsa todo bajo condiciones estériles dentro de la campana de flujo laminar. Una vez terminada la inoculación, se volvieron a cerrar las bolsas y se

dejaron incubar a 27°C por 8 días hasta obtener la esporulación del hongo sobre el arroz.

Para el conteo de conidios, se pesó un gramo de arroz y se lavó en 900 µL de Tween, se agitó en vortex y se realizaron diluciones seriadas, las cuales se contabilizaron en una cámara de Neubauer para poder determinar la concentración final (1×10^7 UFC) para ser inoculada en las plantas de *Dahlia coccinea*.

5.2.3 Obtención del inóculo de *Fusarium oxysporum*

Se prepararon 250 mL de Caldo Dextrosa y Papa, el cual se esterilizó en autoclave a 120° por 15 min y se dejó enfriar a temperatura ambiente. Posteriormente, bajo condiciones estériles, se inoculó el caldo de cultivo con cuatro fragmentos cuadrados de 1mm³ de *Fusarium oxysporum*; posteriormente se dejó incubar en agitación a 25 ° C. Una vez desarrollado el hongo en el medio de cultivo, se realizó el conteo de conidios para poder establecer la concentración de la solución madre. Una vez establecida la concentración de 1×10^7 UFC se realizó la inoculación de las plantas.

5.2.4 Evaluación periódica de los parámetros de crecimiento de las plantas

Se establecieron plantas testigo negativo, las cuales se inocularon con agua destilada estéril, plantas inoculadas únicamente con *Fusarium oxysporum*, plantas inoculadas únicamente con *T. harzianum* y plantas inoculadas con *F. oxysporum* y *T. harzianum*. Para cada tratamiento se midieron los parámetros de la altura (cm), diámetro del tallo (mm), número de flores, número de botones, cada tercer día por 4 semanas se hizo un registro de los datos obtenidos en una base de datos. Posteriormente, terminado el tiempo de las mediciones se hizo lavado de raíces y se registraron los pesos de la parte aérea de la planta; para la parte radical, se picaron las raíces tuberosas y se pesaron nuevamente. Todos estos datos fueron recolectados en una base de datos en Excel. Se realizaron Análisis de Varianza Individuales para cada una de las evaluaciones y

Comparaciones Múltiples de Medias usando el Método de Fisher de la Diferencia Mínima Significativa (LSD, por sus siglas en inglés)

5.2.5 Extracción de inulina

La extracción de inulina de las raíces tuberosas se basó en la metodología reportada por Legorreta *et al.* (2016) con algunas modificaciones. Las raíces tuberosas fueron picadas y secadas a 60 ° C, se separaron sus raíces secundarias y posteriormente fueron trituradas y tamizadas. Se pesaron todas las muestras y de acuerdo con el peso obtenido se añadió el volumen de agua destilada, utilizando una proporción de agua: material vegetal de 8:1 (p: v), subsecuentemente se agregó 0.2 % de tierra de diatomeas con respecto al peso total de la mezcla de extracción. La mezcla final fue extraída en baño maría a 80 ° C por 1 h. Posteriormente la mezcla de extracción se dejó llegar a temperatura ambiente y se filtró a través de una cama de algodón y fibra de vidrio. Al filtrado acuoso se le agregó etanol hasta alcanzar el 40 % del volumen total del filtrado. La mezcla hidroalcohólica se congeló a -20 ° C por 24 h para causar la precipitación de las inulinas. El precipitado de inulinas se recuperó por filtración, fue congelado, liofilizado, pulverizado, tamizado y almacenado hasta su análisis.

5.2.6 Espectrometría infrarroja media con transformada de Fourier acoplada a reflectancia total atenuada (FTMIR-ATR)

La caracterización de las inulinas mediante espectrometría MIR se hizo en un espectrómetro Cary Serie 500 equipado con un accesorio de reflectancia total atenuada (ATR) y una placa de cristal de diamante/Ge (Agilent Technologies, EE. UU.). Para cada medición se colocaron 50 mg de muestra sobre el cristal del ATR. Para cada muestra, se realizaron 32 barridos en el rango 4000 – 550 cm⁻¹ con resolución nominal de 4 cm⁻¹ en modo transmitancia (%T). Se tomó una lectura de fondo de referencia antes de iniciar con todas las mediciones. Los espectros fueron promedio de las réplicas de cada tratamiento y testigo, los cuales se utilizaron para la interpretación de las bandas espectrales y confirmación de la extracción de inulina.

5.2.7 Cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC)

Los perfiles de inulinas fueron caracterizados mediante HPTLC. Para ello, se utilizó un sistema de cromatografía planar CAMAG equipado con un automuestreador y aplicador (ATS4) el cual aplicó las muestras en placas de sílica gel (F₂₅₄) en bandas de 6 mm de largo. Las bandas fueron aplicadas a 10 mm medidos desde la base de la placa y 20 mm de cada extremo de la placa cromatográfica. La separación consistió en un sistema biacendente que usó una mezcla de isopropanol-butanol-agua-ácido acético (14:10:4:2, v/v/v/v) para su primera separación (75 mm). La segunda separación (85 mm) usó una mezcla de isopropanol-butanol-agua-ácido acético-ácido fórmico (14:10:4: 1:1, v/v/v/v/v). El tiempo de saturación de cámara fue de 20 min en cada separación y la humedad se mantuvo a 37 % con una solución saturada de KSCN. Las placas fueron secadas y derivatizadas con dimetilamina-anilina-ácido fosfórico a 120 ° C por 3 min (Salomé-Abarca et al., 2023). Las imágenes fueron adquiridas en un visualizador bajo luz blanca en modo reflectancia/transmitancia con tiempo de exposición de 55 ms.

5.2.8 Procesamiento de datos

Los datos de HPTLC fueron extraídos en el software rTLC (Fichou et al., 2016). Las dimensiones de extracción de datos fueron las mismas utilizadas para la aplicación de muestras en las placas cromatográficas. El tamaño de integración fue de 128 mega pixeles. Se utilizaron datos del canal gris y se normalizaron a la señal del control de calidad en cada placa cromatográfica. Los datos normalizados fueron analizados mediante modelado suave independiente de analogía de clases (SIMCA) en el software SIMCA-P V.18 utilizando los datos del testigo como modelo de origen.

5.3 RESULTADOS Y DISCUSIONES

5.3.1 Análisis de los parámetros de crecimiento en *Dahlia coccinea*

Los Tratamientos Mix (*T. harzianum* + *F. oxysporum*) y *Trichoderma* presentaron diferencias significativas con respecto al Testigo y *Fusarium* para la variable de la altura de la planta. El análisis se realizó considerando el incremento de altura durante el periodo experimental, calculado mediante la diferencia entre la altura inicial y final de las plantas (Figura 13).

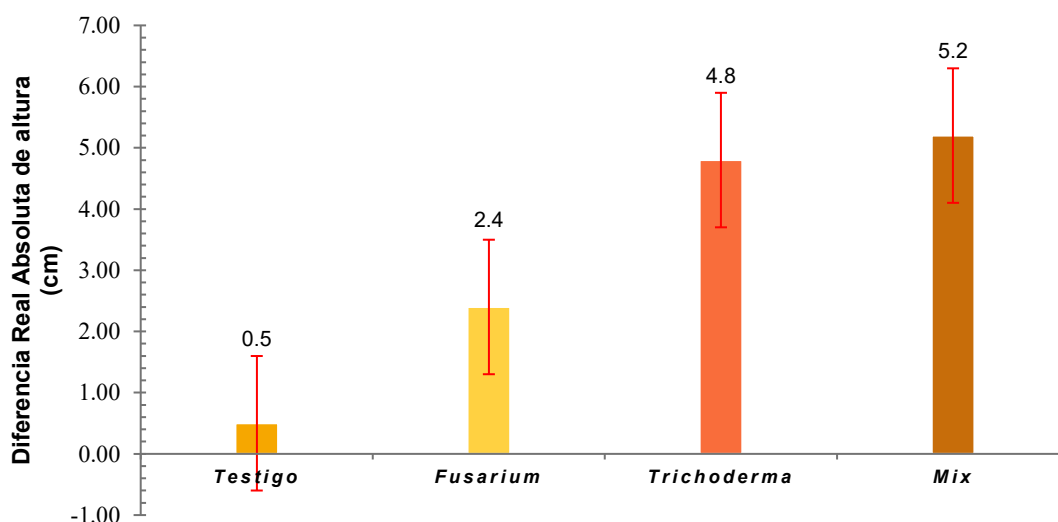


Figura 14. Diferencia real absoluta de altura entre cada uno de los tratamientos evaluados.

Se observó un mayor crecimiento en los tratamientos que fueron inoculados con *Trichoderma harzianum*, lo cual podría estar relacionado con la producción de hormonas endógenas que regulan el efecto promotor de crecimiento en la planta y el control de enfermedades que se le atribuyen al género de *Trichoderma*, el cual esta ampliamente reportado para las diferentes especies de este género (Suarez et al., 2024). Simultáneamente el tratamiento *Fusarium* presentó valores menores de altura en comparación con el de *Trichoderma*, lo que podría indicar el daño generado en la planta después de la infección causada por la cepa de *Fusarium oxysporum*, en donde la planta posiblemente trató de combatir la infección o en su caso mitigarla (Swarupa et al., 2014). Sin embargo, se sabe que la resistencia y la susceptibilidad en los sistemas planta-patógeno varían según el

huesped, en este caso al tratarse de una especie silvestre, pudo haber presentado una adaptabilidad al patógeno debido al contacto constante con éste, en las condiciones naturales en las que se encuentra normalmente.

Los resultados obtenidos podrían estar relacionados, principalmente con la especie silvestre con la que se trabajó. Así como los diferentes factores ambientales que se presentaron durante la experimentación a cielo abierto, los cuales mayoritariamente pueden interferir en los efectos beneficios que poseen los microorganismos que se pretendían evaluar.

En lo que respecta a la variable del diámetro de tallo obtenido para el cultivo de la *Dahlia coccinea* Cav, se observó que el tratamiento Mix obtuvo mayor promedio (11.57 mm) en comparación con *Trichoderma* (10.09 mm), *Fusarium* (9.92 mm) y el Testigo (9.37 mm) (Figura 14).

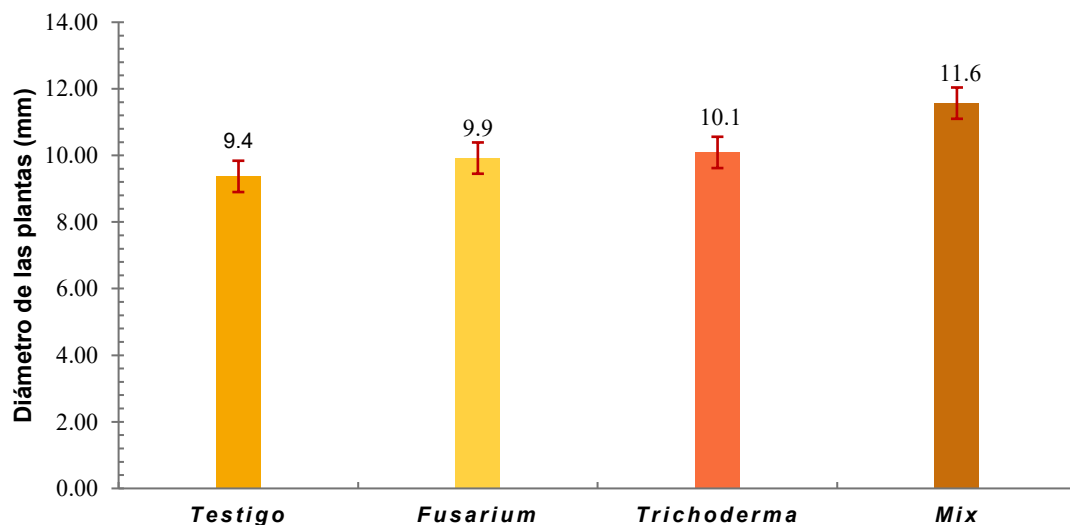


Figura 15. Promedios obtenidos para la variable del diámetro del tallo en cada uno de los tratamientos.

Estos resultados pueden atribuirse a los mecanismos de defensa que desarrolló la planta ante la presencia del fitopatógeno *Fusarium oxysporum* y las condiciones ambientales que sufrió la planta durante la experimentación. Como lo reporta Camacho *et al.*, (2020), las plantas cuando entran en contacto con el fitopatógeno desarrollan estrategias de disuasión o protección ante la pérdida de biomasa, como el crecimiento asíncrono, es decir presentan un desarrollo de manera irregular. En el caso de *F. oxysporum*, produce hifas que se adhieren a la superficie de la raíz y secreta enzimas que degradan la pared celular lo que permite que el micelio llegue y colonice los vasos vasculares (xilema y floema) causando un bloqueo de estos (Joshi, 2018). Lo que posiblemente el desarrollo de nuevos elementos vasculares resultó en el incremento del diámetro de tallo como mecanismo fisiológico de adaptación causado por *Trichoderma* para sobrevivir a la infección.

De igual manera se calculó el promedio del número de flores producidas por planta durante la experimentación, donde se obtuvo un promedio de 2 flores para los tratamientos de *Fusarium*, Mix y Testigo, mientras que para *Trichoderma* se obtuvo un promedio de 1 flor (Figura 15).

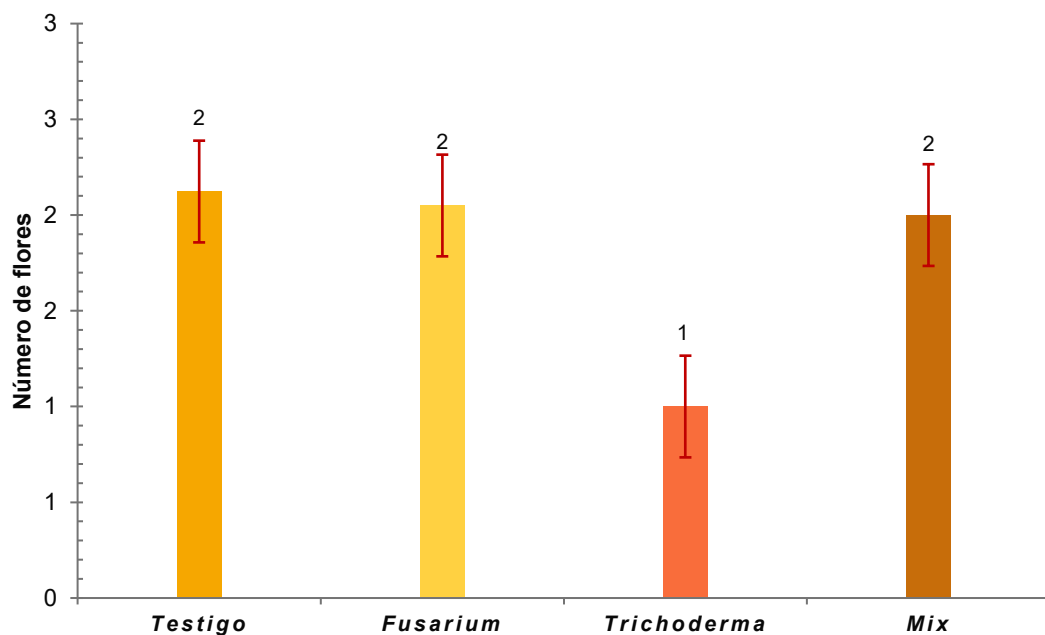


Figura 16. Promedio del número de flores para cada tratamiento en el cultivo de la *Dahlia coccinea*.

La disposición de las flores en las plantas se puede observar de manera representativa para cada uno de los tratamientos en la Figura 16. Se produjeron inflorescencias solitarias o irregularmente paniculadas, sobre pedúnculos largos y desnudos como lo describe Rodríguez et al (2024) de color naranja y amarillo.



Figura 17. Flores representativas de cada tratamiento en respuesta al periodo experimental. a) Testigo, b) *Fusarium*, c), *Trichoderma*, d) Mix.

La literatura menciona que la *Dahlia coccinea* Cav en sus condiciones naturales puede producir hasta 48 flores (Rodríguez et al., 2024) debido a que no presenta problemas de supervivencia en su habitat natural (Castro et al., 2012). Sin embargo, los resultados obtenidos durante la experimentación pueden estar

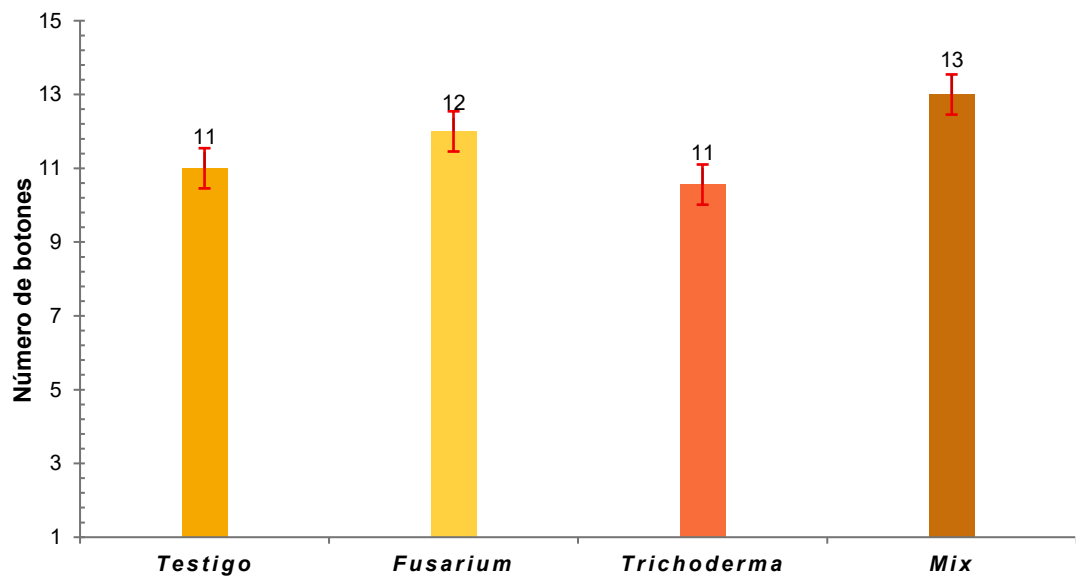


Figura 18. Promedio del número de botones para cada tratamiento en el cultivo de la *Dahlia coccinea*

relacionados con las condiciones empleadas (sustrato, luz, humedad, espacio de crecimiento y desarrollo radicular), las cuales influyen de manera desfavorable en el crecimiento del cultivo, así como la interacción que tuvo con el fitopatógeno.

Con respecto al número de botones producidos por la planta, se puede observar que los tratamientos de *Fusarium* y Mix produjeron un botón más que los tratamientos de *Trichoderma* y el Testigo (Figura 17).

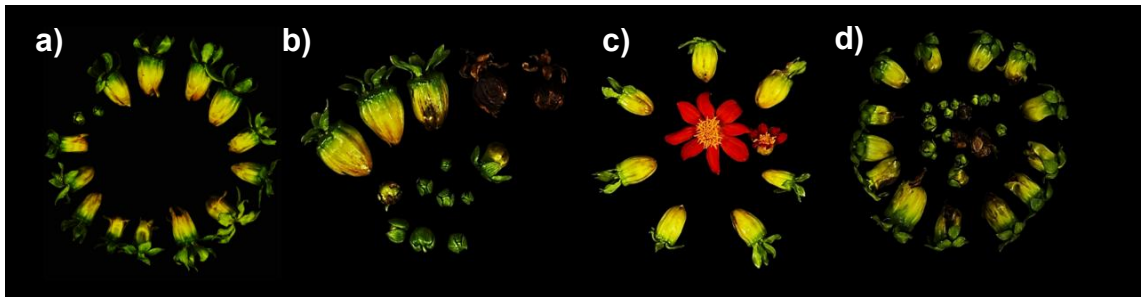


Figura 19. Flores representativas de cada tratamiento en respuesta al periodo experimental. a) Testigo, b) *Fusarium*, c) *Trichoderma*, d) Mix.

El tratamiento Mix produjo mayor número de botones durante la experimentación, sin embargo, la mayoría de ellos no llegaron a floración, lo cual puede estar relacionado con los síntomas ya reportados sobre *Fusarium* durante la interacción planta- patógeno, en donde se menciona que este género causa, la caída prematura de hojas y botones, oscurecimiento del sistema vascular y necrosis (Iqbal et al., 2024). Estos resultados tienen similitud con el tratamiento de *Fusarium* que de igual manera presentó mayor producción de botones que no llegaron a la floración y algunos presentaron necrosis como se ve en la Figura 18-b.

Tabla 3. Comparación de medias en la biomasa

	Evaluación de la biomasa								
	PF Planta	PS Tallo	PS Hojas	PF Botones	PS Botones	PF Raíz	PS Raíz	PF RaízSec	PS RaízSec
Testigo	64.04 A	12.17 A	5.30 A	22.74 A	4.51 A	93.21 A	10.33 A	7.87 A	2.66 A
<i>Fusarium</i>	59.00 A	14.95 A	4.79 A	16.09 A	4.10 AB	93.78 A	12.85 A	3.40 B	1.39 B
<i>Trichoderma</i>	66.87 A	11.89 A	5.02 A	12.12 B	2.22 B	107.5 A	13.96 A	8.60 A	1.92 A B
Mix	58.15 A	12.48 A	4.36 A	11.20 B	2.37 B	84.59 A	11.15 A	3.62 B	1.36 B
Prob*	0.6673	0.6644	0.6101	0.0356	0.0378	0.4311	0.3187	0.0537	0.1421
DMS**	16.481	5.5643	1.4596	8.4283	1.9014	28.098	4.2749	4.6976	1.2572

*: Probabilidad de error. **: Diferencia Significativa Honesta de Tukey, PF. Peso fresco y PS. Peso seco

El análisis estadístico para la biomasa de los diferentes tratamientos no presentó diferencias significativas ($p > 0.05$) para los parámetros del peso fresco, tallo, hojas, botones ni de la parte radical de la planta. Sin embargo, si existen diferencias significativas para la variable de peso fresco ($p = 0.0356$) y peso seco de los botones ($p = 0.0378$) (Cuadro 1). Para ambas variables, el testigo resultó con valores más altos, lo cual indica que obtuvo mayor acumulación de biomasa y del contenido hídrico, en comparación con los tratamientos de *Trichoderma* y el Mix que presentaron valores más bajos.

También se obtuvieron diferencias significativas en las variables de peso fresco de la raíz secundaria, ($p = 0.0537$) en comparación con el peso seco que fue ($p = 0.1421$). Esto podría confirmar que la presencia del fitopatógeno en el cultivo de la dalia afecta de manera negativa en la producción de la flor y el rendimiento de la planta (Iqbal et al., 2024). ya que este fitopatógeno impide que los botones cumplan con su ciclo de floración y el desarrollo radical, debido a que penetra por la raíz y coloniza el tallo de las plantas y por ende el sistema vascular (González et al., 2012). Sin embargo, aunque ya existan reportes sobre el efecto positivo de *Trichoderma*, para esta experimentación podríamos inferir que su capacidad inhibitoria, se mostró limitada. Adicionalmente, *T. harzianum* afectó negativamente la producción y desarrollo floral de *D. coccinea*, incluso en mayor medida que *F. oxysporum*. Aunque esto parece sorprendente, es necesario considerar que existen nuevos reportes sobre diferentes especies de *Trichoderma* que se comportan como fitopatógenas. Esto depende de factores como la especie de *Trichoderma* y el hospedero en que se aplica. Por ejemplo, se ha identificado a *Trichoderma viride* P. como causante de mortalidad en plántulas de pino austríaco; mientras que *Trichoderma brevicompactum* K. produce micotoxinas que ocasionan daños en humanos, como vómitos y gastroenteritis (Matas et al., 2023). Así mismo *Trichoderma crassum* y *Trichoderma virens* han sido reportados como agentes causales de una enfermedad foliar en el jitomate (*Licopersicon sculentum*), caracterizada por el desarrollo progresivo de manchas foliares irregulares (Córtes et al., 2023; Zhao et al., 2023). También existen reportes de una nueva especie agresiva denominada *T. aggressivum*, capaz de colonizar el sustrato y afectar gravemente la producción de hongos comestibles (Kosanovic et al., 2020).

5.3.2 Caracterización infrarroja del perfil de inulinas en raíces tuberosas de *Dahlia coccinea*

Además del rendimiento de raíz, resulta importante caracterizar el perfil de inulinas presentes en las raíces, ya que las propiedades nutraceuticas dependen de la composición y abundancia de estos compuestos. El análisis infrarrojo mostró el patrón espectral típico de fructanos (Figura 19), el cual consiste en una banda localizada alrededor de 3300 cm^{-1} asociada a vibraciones de estiramiento O–H en grupos hidroxilos presentes en carbohidratos (Velazquez-Martínez et al., 2014). No obstante, este grupo no está ligado directamente a polisacáridos y puede estar presente en carbohidratos libres (Clark et al., 2018). Las bandas detectadas entre 2950 y 2800 cm^{-1} fueron atribuidas a estiramientos asimétricos y simétricos de metilenos y metilos esqueletales, respectivamente en polisacáridos (Velazquez-Martínez et al., 2014). La región $1400 - 900\text{ cm}^{-1}$ mostró bandas con transmisión fuerte correlacionadas a estiramientos C–C y C–O, además de doblamientos C–O–H y C–O–C, los cuales son característicos en numerosos polisacáridos (Márquez-López et al., 2022). Bandas alrededor de 1040 cm^{-1} han sido atribuidas específicamente a vibraciones C–O–C de enlaces

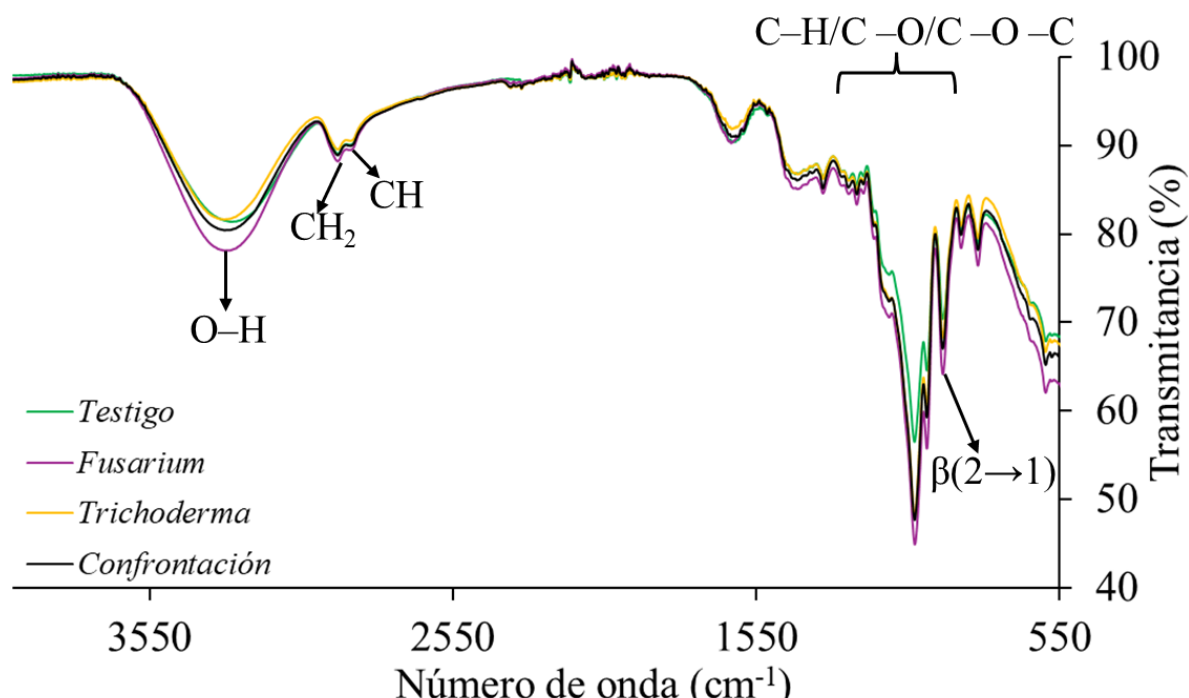


Figura 20. Espectros infrarrojos medio de extractos de inulina extraídos de raíces tuberosas de *Dahlia coccinea* inoculadas individualmente con *Fusarium oxysporum*, *Trichoderma* y la interacción de *Isaria fumosorosea* y *Beauberia bassiana*.

glicosídicos en polisacáridos (Salomé-Abarca et al., 2025). Aunado a ello, una banda alrededor de 930 cm^{-1} fue confirmativa de la presencia de fructanos en el extracto obtenido de las raíces tuberosas de dalia puesto que esta banda ha sido correlacionada a enlaces β (2 $\rightarrow$ 1) en cadenas de inulina (Romano et al., 2018).

El análisis de modelado suave independiente de analogía de clases de los datos de HPTLC mostraron que todos los tratamientos modificaron el patrón cromatográfico de carbohidratos simples e inulinas con respecto al testigo (Dcrit > 0.05). Interesantemente, numerosas muestras pertenecientes al tratamiento que fue inoculado con *Trichoderma* presentaron variabilidad alta lo que podría estar relacionado significativamente la composición química del perfil de inulinas en comparación con los demás tratamientos (Figura 20-a). Aunado a ello, el análisis visual de los cromatogramas de inulina en todos los tratamientos mostró que las diferencias respecto al testigo se deben a una disminución en la abundancia de estos compuestos, particularmente en el tratamiento con *Trichoderma*.

En este sentido, los patrones más diferenciados y detectados mediante el análisis SIMCA se caracterizaron por presentar una menor abundancia de inulina (Figura 20-b). Estos resultados concuerdan las diferencias estadísticamente mayores en peso fresco de raíces tuberosas causadas por *Trichoderma*, pero sin diferencias significativas en peso seco, lo cual significa únicamente un incremento en el contenido de humedad de las raíces tuberosas, pero no un incremento en la producción de biomasa seca, en este caso inulinas. Asimismo, el incremento en peso seco de raíces secundarias indicó una mayor producción de este tipo de raíz, lo cual puede explicar el incremento de peso fresco, contenido de agua, en raíces tuberosas sin incremento de biomasa fresca.

Este resultado podría estar asociado con la capacidad que posee el género de *Trichoderma* para producir enzimas hidrolíticas (Vargas Hoyos y Gilchrist Remelli, 2015), ya que es un hongo metabólicamente versátil capaz de degradar una amplia variedad de biomasa vegetal gracias a dichas enzimas, dentro de las cuales se encuentran aquellas capaces de romper el compuesto de inulina, como

lo menciona Suarez et al., (2024), lo que posiblemente esté relacionado con la disminución observada en la abundancia de inulina en los resultados obtenidos del cromatograma para el tratamiento de *Trichoderma*.

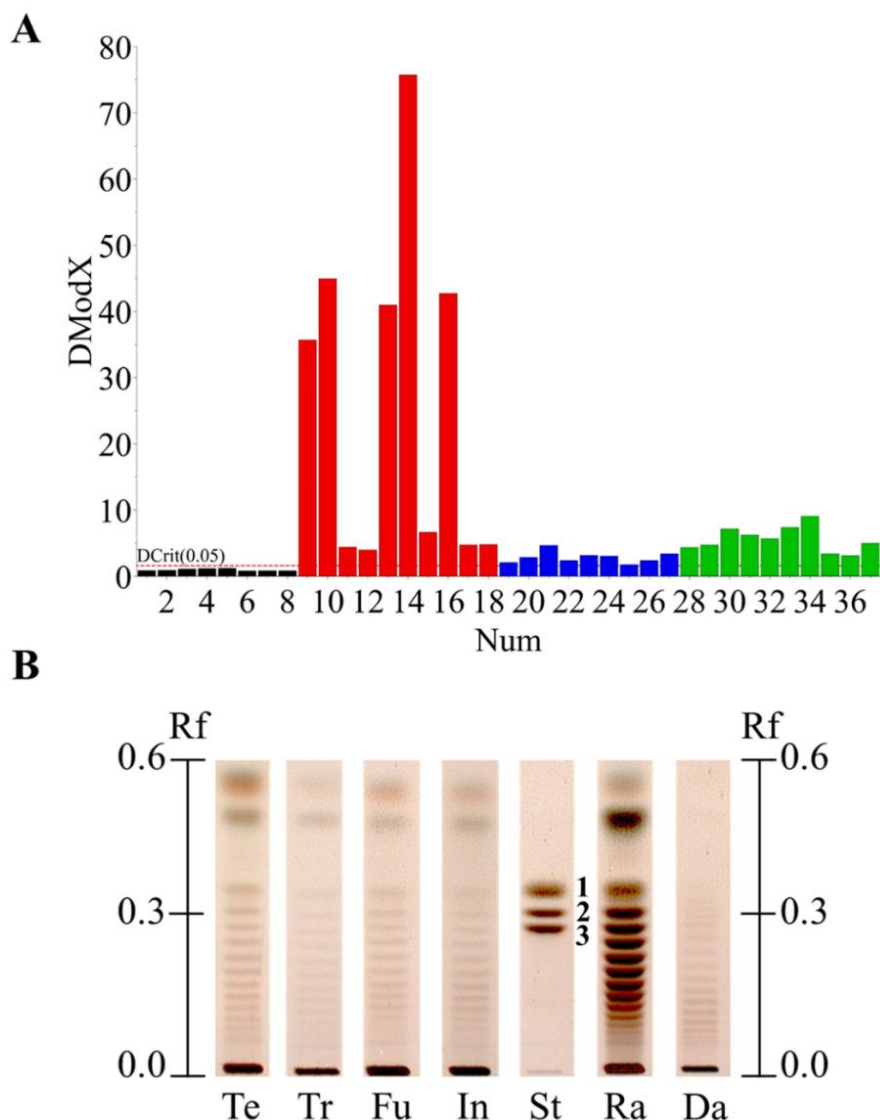


Figura 21. Análisis multivariado y por cromatografía de capa fina de alta resolución (HPTLC) de extractos inulina obtenidos de raíces tuberosas de *Dahlia coccinea* inoculadas individualmente con *Fusarium*, *Trichoderma* y la interacción de ambos hongos. A: modelado suave independiente de analogía de clases (SIMCA) de extractos inulina obtenidos de raíces tuberosas de *Dahlia coccinea* (barras negras) inoculadas individualmente con *Trichoderma* (barras rojas), *Fusarium* (barras azules) y la interacción de ambos hongos (barras verdes); B: cromatogramas de HPTLC de extractos de inulina obtenidos de raíces tuberosas de *Dahlia coccinea* (Te) inoculadas individualmente con *Trichoderma* (Tr), *Fusarium* (Fu) y la interacción de ambos hongos (In). St = mezcla de estándares; 1, 1-cestosa; 1-nistosa; 1-furanosilnistosa. Ra = rafilina y Da = muestra comercial de inulina de *Dahlia* sp.

5.4 CONCLUSIONES

Trichoderma harzianum únicamente incrementa la altura de *Dahlia coccinea* como efecto benéfico de su inoculación. No obstante, únicamente favorece la producción de raíces secundarias y no de raíces tuberosas. Aunado a ello, *T. harzianum* disminuye la producción floral de *D. coccinea* y sus efectos negativos, especialmente en la parte aérea de la planta se agravan cuando interacciona con *Fusarium oxysporum*. Finalmente, el uso de este antagonista redujo la producción de inulina en raíces tuberosas de Dalia. Por ello, el uso de *T. harzianum* como agente de control biológico contra la *F. oxysporum* no es recomendable para el cultivo de Dalia a las concentraciones probadas en este estudio. No obstante, es recomendable probar otras dosis de inoculación y variedades de Dalia con mayor homogeneidad genética. Finalmente, ante este escenario, también es recomendable probar el efecto de otros antagonistas como *Beauveria bassiana* y *Metarrizium* sp., los cuales también mostraron potencial *in vitro* contra *F. oxysporum*. Este trabajo también conforma una prueba de que incluso el uso de agentes de control biológico también puede afectar el cultivo en el que se inoculan y que, aunque estos microorganismos han sido ampliamente benéficos, también pueden producir efectos negativos, por lo cual es de vital importancia comenzar a sistematizar su uso dependiendo del cultivo y evitar su aplicación indiscriminada en campo.

5.5 LITERATURA CITADA

- Blaya, J., López Mondéjar, R., Lloret, E., Pascual, J. A., & Ros, M. (2013). Changes induced by *Trichoderma harzianum* in suppressive compost controlling *Fusarium* wilt. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 107, 112-119. doi:<https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2013.06.001>
- Clark, C. J., Shaw, M. L., Wright, K. M., & McCallum, J. A. (2018). Quantification of free sugars, fructan, pungency and sweetness indices in onion populations by FT-MIR spectroscopy. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 98(14), 5525-5533.
- Castañeda Alvarez, E., & Consuelo Sánchez, L. (2016). Evaluation of growth of four species of the genus *Bacillus* sp., the first step to understand their biocontrol effect on *Fusarium* sp. *Nova*, 14(26), 53*62. Recuperado el 4 de Octubre de 2023, de http://www.scielo.org.co/scielo.php?pid=S1794-24702016000200006&script=sci_arttext#tab1
- Castro Castro, A., Rodríguez, A., Vargas Amado, G., & Harker, M. (2012). Diversity of the genus *Dahlia* (Asteraceae: Coreopsidae) in Jalisco, Mexico and description of a new species. *Rev. Mex. Biodiv*, 83(2). Obtenido de https://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1870-34532012000200005
- Camacho Escobar, M. A., Ramos Ramos, D. A., Ávila Serrano, N. Y., Sánchez Bernal, E. I., & López Garrido, S. J. (2020). The physico-chemical plant defenses and its effect on ruminant feeding. *Tierra Latinoam*, 38(2). doi:<https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.629>
- Córtés Hernandez, F. d., Alvarado Castillo, G., & Sánchez Viveros, G. (2023). *Trichoderma* spp., una alternativa para la agricultura sostenible: una revisión. *Rev. colomb. biotecnol*, 25(2), 73-87. doi:<https://doi.org/10.15446/rev.colomb.biote.v25n2.111384>.
- González, I., Arias, Y., & Peteira, B. (2012). ASPECTOS GENERALES DE LA INTERACCIÓN ENTRE *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* Y EL TOMATE. *Rev. Protección Vegetal.*, 27(1). Obtenido de

http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522012000100001

- Huazano-García, A., & López, M. G. (2015). Agavins reverse the metabolic disorders in overweight mice through the increment of short chain fatty acids and hormones. *Food & function*, 6(12), 3720-3727.
- Iqbal, N., Riyazyddin, R., Nauman, M., Czékus, Z., Tahir Hayat, M., Poór, P., & Ördög, A. (2024). Role of Plant Defence System in Crop Protection against Fusarium Pathogens. *Fusarium- Estudios recientes*. doi:<https://doi.org/10.5772/intechopen.1004924>
- Ismawati, S. M. (2024). Effect of inulin from dahlia tubers (*Dahlia variabilis*) extract on insulinitis severity and insulin expression in diabetic rats. *Biomedicine (Taipei)*, 14(3), 31-39. doi:10.37796/2211-8039
- Jiménez Mariña, L. (2015). El cultivo de la Dalia. *Cultivos Tropicales*, 36(1), 107-115. Obtenido de CULTIVOS: http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0258-59362015000100014&lng=es&tlng=en
- Joshi, R. (2018). A review of *Fusarium oxysporum* on its plant interaction and industrial use. *Journal of Medicinal Plants Studies*, 6(3), 112-115. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Renu-Joshi/publication/326064312_A_review_of_Fusarium_oxysporum_on_its_plant_interaction_and_industrial_use/links/5b364831a6fdcc8506dcb6b7/A-review-of-Fusarium-oxysporum-on-its-plant-interaction-and-industrial-use.pdf
- Kosanovic, D., Grogan, H., & Kavanagh, K. (2020). Exposure of *Agaricus bisporus* to *Trichoderma aggressivum* f. *europaeum* leads to growth inhibition and induction of an oxidative stress response. *Fungal Biology*, 124(9), 817-820. doi:<https://doi.org/10.1016/j.funbio.2020.07.003>.

- Kusmiyati, N., Wahyuningsih, T. D., & Widodo. (2018). Extraccion and Identification of Inulin-Type Fructo-Oligosacharides from *Dahlia pinnata* L. *Asian Journal of Chemistry*, 30(2), 355-358. doi:<https://doi.org/10.14233/ajchem.2018.20965>
- Lara Cortés, E., Martín Belloso, O., Osorio Díaz, P., Barrera Necha, L. L., Sánchez López, J. A., & Bautista Baños, S. (2014). Antioxidant capacity, nutritional and functional composition of edible dahlia flowers. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 20(1), 101-116. doi:<https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2013.07.024>
- Madrigal, L., & Sangronis, E. (2007). La inulina y derivados como ingredientes claves en alimentos funcionales. *Archivos Latinoamericanos de Nutrición*, 57(4), 387-396. Obtenido de http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0004-06222007000400012&lng=es.
- Matas Baca, M. A., Flores, C. M., Pérez Álvarez, S., Rodríguez Roque, M. J., Salas Salazar, N. A., Soto Caballero, M. C., & Sánchez Chávez, E. (2023). Hongos *Trichoderma* como control biológico agrícola en México. *Rev. Chapingo Ser.Hortic*, 29(3), 79-114. doi:<https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2022.11.015>
- Márquez-López, R. E., Santiago-García, P. A., & López, M. G. (2022). Agave Fructans in Oaxaca's Emblematic Specimens: *Agave angustifolia* Haw. and *Agave potatorum* Zucc. *Plants*, 11(14), 1834.
- Mejía Muñoz, J. M., De Luna García, I., Jiménez Ruiz, E. F., Sosa Montes, E., Flores Espinosa, C., Treviño De Castro, G., & Reyes Santiago, J. (2020). *Investigación sobre la dalia, la flor nacional de México*. doi:10.17660/ActaHortic.2020.1288.15
- Oliero, M., Alaoui, A. A., McCartney, C., & Santos, M. M. (2024). Colorectal cancer and inulin supplementation: the good, the bad, and the unhelpful. *Gastroenterol Rep (Oxf)*, 9(12). doi:10.1093/gastro/goae058

- Pani, S., Kumar, A., & Sharma, A. (2021). *Trichoderma harzianum*: An Overview. *Bull. Env. Pharmacol. Life Sci*, 10(6), 32-39. Obtenido de https://www.researchgate.net/profile/Adarsh-Sharma-8/publication/354022710_Trichoderma_harzianum_An_Overview/links/611f6789169a1a010312512c/Trichoderma-harzianum-An-Overview.pdf
- Rodriguez Ortega, A., Castañeda Vildózola, Á., Hernández Guzmán, F. J., Zúñiga Estrada, E. A., Zúñiga Estrada, M. A., & Rodríguez Ortega, L. T. (2024). Main morphological characteristics of the *Dahlia coccinea* from the State of Hidalgo. *XAHNI Boletín Científico de la Escuela Preparatoria*, 1(2), 24-27. Obtenido de <https://www.uaeh.edu.mx/ojs/prepa6/11935.pdf>
- Romano, N., Araujo-Andrade, C., Lecot, J., Mobili, P., & Gómez-Zavaglia, A. (2018). Infrared spectroscopy as an alternative methodology to evaluate the effect of structural features on the physical-chemical properties of inulins. *Food Research International*, 109, 223-231.
- SADER. (2020). *Dalia, flor que colorea México*. Obtenido de Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural: <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/dalia-flor-que-colorea-mexico>
- Salomé-Abarca, L. F., Márquez-López, R. E., Santiago-García, P. A., & López, M. G. (2023). HPTLC-based fingerprinting: An alternative approach for fructooligosaccharides metabolism profiling. *Current Research in Food Science*, 6, 100451.
- Salomé-Abarca, L. F., Márquez-López, R. E., Santiago-García, P. A., & López, M. G. (2025). Potential of FT-MIR/GC-MS Multivariate Hyphenation for the Fast Characterization of Agavins Metabolism. *Analytical chemistry*, 97(33), 17954-17961.
- SEMANART. (2018). *Dalia, flor representativa de México*. Secretaria de Medio Ambiente y Recursos Naturales. Obtenido de

https://www.gob.mx/semarnat/articulos/dalia-flor-representativa-de-mexico?idiom=es&utm_source=chatgpt.com

Suarez Medina, L., Murcia Torrejano, V., Rivas López, M., Pinto Antonio, A., Muñoz Otero, N., Valencia Payán, J., . . . Moreno Ortega, D. (2024). 35Metabolitos secundarios de *Trichoderma* spp.: importancia en la industria agrícola, farmacéutica y alimentaria. *Revista Agropecuaria y Agroindustrial La Angostura*, 3(10), 35-55. Obtenido de <https://revistas.sena.edu.co/index.php/raaa/article/view/7045/6602>

Suarez Medina, L., Murcia Torrejano, V., Rivas López, M., Pinto Antonio, A., Muñoz Otero, N., Valencia Payán, J., . . . Moreno Ortega, D. (2024). 35Metabolitos secundarios de *Trichoderma* spp.: importancia en la industria agrícola, farmacéutica y alimentaria. *Revista Agropecuaria y Agroindustrial La Angostura*, 3(10), 35-55. Obtenido de <https://revistas.sena.edu.co/index.php/raaa/article/view/7045/6602>

Smawati, S. M. (2024). Effect of inulin from dahlia tubers (*Dahlia variabilis*) extract on insulinitis severity and insulin expression in diabetic rats. *Biomedicine (Taipei)*, 14(3), 31-39. doi:10.37796/2211-8039

Swarupa, V., Ravishankar, K. V., & Rekha, A. (2014). Respuesta de defensa de las plantas contra *Fusarium oxysporum* y estrategias para desarrollar genotipos tolerantes en banano. *Planta*, 239, 735-751. doi:<https://doi.org/10.1007/s00425-013-2024-8>

Vargas Hoyos, H. A., & Gilchrist Ramelli, E. (2015). Producción de enzimas hidrolíticas y actividad antagónica de *Trichoderma asperellum* sobre dos cepas de *Fusarium* aisladas de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*). *Rev. Mex. Mic*, 42, 9-16. Obtenido de http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802015000200003&lng=es&tlng=es.

- Velázquez-Martínez, J. R., González-Cervantes, R. M., Hernández-Gallegos, M. A., Campos Mendiola, R., Jiménez Aparicio, A. R., & Arenas Ocampo, M. L. (2014). Prebiotic potential of Agave angustifolia Haw fructans with different degrees of polymerization. *Molecules*, *19*(8), 12660-12675.
- Zhao, L., Yang, P., Li, W., Zhao, Z., & Xia, Y. (2023). First Report of Trichoderma crassum Causing Leaf Spot on Tomato (Solanum lycopersicum) in Ohio. *Plant Disease*, *107*(2), 247-593. doi:<https://doi.org/10.1094/PDIS-05-22-1093-PDN>