

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

MANEJO DE LA ENFERMEDAD MANCHADO DE CÁLIZ DE LA JAMAICA (*HIBISCUS SABDARIFFA* L), MEDIANTE EL USO DE *TRICHODERMA LONGIBRACHIATUM* EN COMBINACIÓN CON BIOPOLÍMEROS, EN TECOANAPA, GUERRERO.

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

PRESENTA

ING: YULISSA SECUNDINO EUSEBIO

Bajo la supervisión de

DR. MATEO VARGAS HERNÁNDEZ

Chapingo, Estado de México, 3 de mayo del 2022.



APROBADA



**MANEJO DE LA ENFERMEDAD MANCHADO DE CÁLIZ DE LA JAMAICA
(HIBISCUS SABDARIFFA L), MEDIANTE EL USO DE TRICHODERMA
LONGIBRACHIATUM EN COMBINACIÓN CON BIOPOLÍMEROS, EN
TECOANAPA, GUERRERO.**

Tesis realizada por **Ing. Yulissa Secundino Eusebio** bajo la supervisión del comité Asesor indicado, aprobado por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

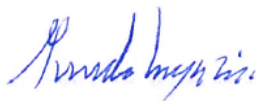
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR: _____



Dr. MATEO VARGAS HERNÁNDEZ

ASESOR: _____



DR. SANTOS GERARDO LEYVA MIR

ASESOR: _____



DRA. TEOLINCACIHUATL ROMERO ROSALES

ASESOR: _____



DRA. MARICARMEN THALÍA RECILLAS MOTA

CONTENIDO

RESUMEN GENERAL.....	I
ABSTRACT.....	II
CAPITULO I:.....	1
1. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
JUSTIFICACIÓN.....	4
OBJETIVO GENERAL.....	5
Objetivos particulares.....	5
HIPÓTESIS.....	5
2. REVISIÓN DE LITERATURA.....	6
2.1 Origen del cultivo de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i> L.).....	6
2.2 Requerimientos climáticos y edáficos.....	6
2.3 Principales enfermedades fungosas en el cultivo de jamaica.....	7
2.3.1 Manchado de hojas y cálices en jamaica.....	7
2.4 Importancia del control biológico en la agricultura.....	10
2.4.1 Importancia de <i>Trichoderma</i> en la agricultura.....	11
2.4.2 Vías de señalización de defensa inducidas por <i>Trichoderma</i>	12
2.5 Quitosano.....	13
2.5.1 Aplicaciones de quitosano.....	13
2.6 Alginato.....	15
4. BIBLIOGRAFÍA.....	16
CAPITULO II.....	27
RESUMEN.....	27

EVALUACIÓN DE SUSTRATOS PARA LA REPRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE <i>TRICHODERMA LONGIBRACHATUM</i>	27
1. INTRODUCCIÓN	29
2. MATERIALES Y MÉTODOS.....	30
2.1 Material biológico.....	30
2.2 Preparación de los sustratos	30
2.3 Inoculación de sustrato de <i>Trichoderma longibrachiatum</i>	31
2.4 Proceso de incubación del hongo.....	32
2.5 Esporulación y secado.....	32
2.6 Conteo de conidios en la cámara Neubauer.....	32
2.7 Prueba de viabilidad	32
2.8 Prueba de pureza	33
3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	34
3.1 Evaluación de sustratos para la reproducción de conidios de <i>Trichoderma longibrachatum</i>	34
3.2 Prueba de viabilidad	35
3.4 Prueba de pureza	35
4. CONCLUSIÓN	37
BIBLIOGRAFÍA.....	38
CAPITULO III	41
EVALUACIÓN DE <i>TRICHODERMA LONGIBRACHATUM</i> EN COMBINACIÓN CON BIOPOLÍMEROS	41
RESUMEN.....	41
1. INTRODUCCIÓN	43
2. MATERIALES Y MÉTODOS	44
2.1 Preparación de biopolímeros de quitosano y alginato	44

2.2	Preparación de solución de <i>Trichoderma</i> – quitosano	45
2.3	Localización del área de estudio	45
2.4	Establecimiento de parcelas y diseño experimental	46
2.5	Manejo agronómico	46
2.6	Evaluación en condiciones de campo.....	47
2.7	Variables evaluadas.	48
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	50
3.1	Evaluación de incidencia de infección en hojas y cáliz, en condiciones de campo en las localidades Huamuchapa y Villa Hermosa	50
3.2	Evaluación de severidad en hojas y cáliz en condiciones de campo, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa	57
3.3	Severidad promedio en hojas y cáliz, por aplicaciones.	60
3.3	Cosecha y secado del cultivo de jamaica	65
3.5	Peso seco de cáliz localidad Villa Hermosa y Huamuchapa	66
3.7	Análisis económico de la producción de jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>)... ..	67
3.7.1	Costos de producción por hectárea.....	67
3.7.2	Rentabilidad económica	69
8.2.	CONCLUSIÓN.....	70
4.	CONCLUSIÓN GENERAL	71
5.	BIBLIOGRAFÍA	72
	APENDICES	77

CONTENIDO DE CUADROS

Cuadro 1. Patógenos asociados al manchado de hojas y calices de la jamaica en México.	9
Cuadro 2. Descripción de sustratos organicos y cantidades utilizadas.....	31
Cuadro 3. Programa de aplicaciones de productos biológicos para el manejo de hojas y calices de jamaica, Tecoaapa Guerrero, ciclo 2021.	47
Cuadro 4. Incidencia promedio (a través de los tres estratos y los siete tratamientos) en hojas y cáliz, para las diferentes aplicaciones, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa.	51
Cuadro 5. Incidencia promedio (a través de las cinco aplicaciones en hojas y tres en caliz de los tres estratos) para cada tratamiento, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa.....	53
Cuadro 6. Costos fijos y variables de la produccion de la jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>) en Villa Hermosa y Huamuchapa, Gro.....	68
Cuadro 7. Ingresos Promedios y Ganancia por Peso Invertido (Entre paréntesis), por tratamiento, en las localidades de Villa Hermosa y Huamuchapa, Gro. MXN pesos por hectarea.	69
Cuadro 8. Desglose de costos fijos y costos variables por hectaréa.	77
Cuadro 9. Incidencia promedio (a través de las cinco aplicaciones y los tres estratos) en hojas y cáliz, para cada tratamiento, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa.....	77
Cuadro 10. Severidad promedio (a través de los estratos y los siete tratamientos) en hojas y caliz para las diferentes aplicaciones, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa.....	78

INDICE DE FIGURAS

Figura 1. a) Características del manchado de hojas de plantas de 90 días después de la germinación; b) daños en calices con en <i>Hibiscus sabdariffa</i> . Fuente: foto personal.	9
Figura 2. a) Placa de agar con 1 gota de <i>Trichoderma I</i> ; b) Incubación de las placas.	33
Figura 3. Izquierda <i>Trichoderma I</i> en medio de cultivo PDA; Derecha <i>T. longibrachiatum</i> se caracteriza por formar a) micelio septado, b) conidioforo 40 x, 48 hrs, c) monofialide, d) conidios color verde muy fuerte (Barnett <i>et al.</i> , 1995).	34
Figura 4. a) crecimiento de <i>T. longibrachiatum</i> , en los 4 sustratos, a las 3 semanas; b) <i>Trichoderma</i> en granos de maíz Olotillo.....	35
Figura 5. a) observación de <i>Trichoderma I</i> . en medio de cultivo PDA; b) crecimiento de micelio; c) formación de conidios a las 24 hrs.	35
Figura 6. a) Crecimiento de <i>Trichoderma I</i> . en medio PDA; se observó sin crecimiento de ningún otro hongo; b). Observación en el estereoscopio.....	36
Figura 7. a) Preparación de solución de quitosano solo; b) Alginato solo; c) Solución de quitosano más adición de <i>Trichoderma I</i> ; d) Solución de alginato más adición de <i>Trichoderma I</i>	45
Figura 8. a) deshierbe a los 20 días; b) aclareo de plantas de jamaica (tres plantas/mata).	47
Figura 9. Escalas logarítmicas diagramáticas para evaluar la severidad del manchado en jamaica (<i>Hibiscus sabdariffa</i>) inducida por <i>Corynespora cassiicola</i> . a) Escala para evaluar la severidad en hojas. b) Escala para evaluar la severidad en cálices. (Ortega-Acosta <i>et al.</i> , 2016).	49
Figura 10. Perfil de Incidencia promedio a través de los tres estratos en hojas en función de las aplicaciones, localidad Villa Hermosa; QT: Quitosano + <i>Trichoderma I</i> , AT: Alginato + <i>Trichoderma I</i> , TR: <i>Trichoderma I</i> , Q: Quitosano, A: Alginato, GRI: Gribac, TES: Testigo.	54

Figura 11. Perfil de Incidencia promedio a través de los tres estratos en hojas en función de las aplicaciones, localidad Huamuchapa; QT: Quitosano + <i>Trichoderma I</i> , AT: Alginato + <i>Trichoderma I</i> , TR: <i>Trichoderma I</i> , Q: Quitosano, A: Alginato, GRI: Gribac, TES: Testigo.	55
Figura 12. Perfil de Incidencia promedio a través de los tres estratos en cáliz en función de las aplicaciones, localidad Villa Hermosa; QT: Quitosano + <i>Trichoderma I</i> , AT: Alginato + <i>Trichoderma I</i> , TR: <i>Trichoderma I</i> , Q: Quitosano, A: Alginato, GRI: Gribac, TES: Testigo.	56
Figura 13. Perfil de Incidencia promedio a través de los tres estratos en cáliz en función de las aplicaciones, Huamuchapa; T1QT: Quitosano + <i>Trichoderma I</i> , T2AT: Alginato + <i>Trichoderma I</i> , T3TR: <i>Trichoderma I</i> , T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6GRI: Gribac, T7TES: Testigo.	56
Figura 14. Severidad promedio en hojas, para cada tratamiento, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa. Barras con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey (p= 5%). T1: QT, Quitosano + <i>Trichoderma I</i> , T2: AT, Alginato + <i>Trichoderma I</i> , T3: TR, <i>Trichoderma I</i> , T4: Q, Quitosano, T5: A, Alginato, T6: GRI, Gribac, T7: TES, Testigo.	57
Figura 15. Severidad promedio en cáliz, para cada tratamiento, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa. Barras con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey (p= 5%). T1: QT, Quitosano + <i>Trichoderma I</i> , T2: AT, Alginato + <i>Trichoderma I</i> , T3: TR, <i>Trichoderma I</i> , T4: Q, Quitosano, T5: A, Alginato, T6: GRI, Gribac, T7: TES, Testigo.	58
Figura 16. Severidad promedio en hojas, para cada aplicación, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa; Barras con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey (p= 5%).....	61
Figura 17. Severidad promedio en cáliz, por aplicación, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa; Barras con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey (p= 5%).....	62

Figura 18. Perfil de Severidad promedio a través de los tres estratos en hojas en función de las aplicaciones, localidad Villa Hermosa; T1QT: Quitosano + <i>Trichoderma I</i> , T2AT: Alginato + <i>Trichoderma I</i> , T3T: <i>Trichoderma I</i> , T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.....	63
Figura 19. Perfil de Severidad promedio a través de los tres estratos en hojas en función de las aplicaciones, localidad Huamuchapa; T1QT: Quitosano + <i>Trichoderma I</i> , T2AT: Alginato + <i>Trichoderma I</i> , T3T: <i>Trichoderma I</i> , T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.....	63
Figura 20. Perfil de Severidad promedio a través de los tres estratos en cáliz en función de las aplicaciones, localidad Villa Hermosa; T1QT: Quitosano + <i>Trichoderma I</i> , T2AT: Alginato + <i>Trichoderma I</i> , T3T: <i>Trichoderma I</i> , T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.....	64
Figura 21. Perfil de Severidad promedio a través de los tres estratos en cáliz en función de las aplicaciones, localidad Huamuchapa; T1QT: Quitosano + <i>Trichoderma I</i> , T2AT: Alginato + <i>Trichoderma I</i> , T3T: <i>Trichoderma I</i> , T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.....	65
Figura 22. a) Corte y b) despique de <i>Hibiscus sabdariffa</i> , en ambas localidades.	66
Figura 23. Rendimiento de <i>Hibiscus sabdariffa</i> en seco, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa; Barras con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey (p= 5%). T1QT: Quitosano + <i>Trichoderma I</i> , T2AT: Alginato + <i>Trichoderma I</i> , T3T: <i>Trichoderma I</i> , T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo	67

DEDICATORIAS

“A la memoria de mi abuelita Rufina Gómez Raquel, por su gran ejemplo de madre, por siempre creer en mi persona.

A la memoria de mis tios Isabel y Humberto Secundino Gómez por todo su cariño y palabras de aliento que siempre existieron.

A mi madre Ma. Emma Eusebio Teresa, por siempre contar con su apoyo, por su amor de madre y comprensión infinita. Por los valores y principios con los que he crecido, Por estar presente en cada etapa de mi vida.

A mi padre Vicente Secundino Gómez, mi fuente de inspiración, por su incondicional apoyo, por sus consejos que fortalecieron mi alma y encaminaron mi vida. Por creer en mi siempre, por ser un gran papá.

A mis hermanas, Leticia, Yesenia, Yaned, Gladi y Hermanos Iradani y Juan por su aliento de hermanas (os) por sus consejos y su apoyo incondicional brindado, por llenar mi vida de grandes momentos y el hermoso regalo de existir en mi vida y sobre todo por la excelente unión familiar.

A mis sobrinas por su comprensión al entender mi ausencia con la familia durante este tiempo y por todo su cariño brindado.

A Luis Ángel Santos Zamora quien le dio ese toque de locura, brillo y color a mi vida, por compartir conmigo momentos especiales a lo largo de este proyecto, por nunca dejar de creer en mí y estar presente en todo momento. Por llegar a mi vida.

A la familia Santos Zamora, por todo su apoyo otorgado en esta etapa.

A Rosa Isela por ser además de mi prima, una hermana por compartir momentos especiales en mi vida, por siempre contar con su apoyo.

A mi tía Daria Eusebio Teresa, por su apoyo y cariño brindado, por tener la dicha de tenerla en mi vida. Por estar presente en cada etapa de mi vida. “

Agradecimientos

Iniciaré agradeciendo a la Universidad Autónoma Chapingo, al Departamento de Parasitología Agrícola, al Programa de la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, por darme la oportunidad de culminar esta etapa de la mejor manera.

Al CONACYT, por el otorgamiento de la beca para realizar mis estudios de posgrado

Al Dr. Mateo Vargas Hernández, por formar parte de mi formación académica, por todo su tiempo y aportaciones en este trabajo de investigación, por las dudas que surgieron y que siempre culminaron de la mejor manera, sin duda es un excelente investigador, gracias por sus conocimientos y por su amistad.

A la Dra. Teolincacihuatl Romero Rosales, por todo su apoyo y creer en mí en todo momento e impulsarme en seguir siempre hacia adelante, por sus motivaciones en iniciar y finalizar este posgrado, por todos sus conocimientos y experiencias compartidas, por las dudas que surgieron y que siempre culminaron de la mejor manera.

Al Dr. Santos Gerardo Leyva Mir, por ser pilar importante en mi formación académica, por el apoyo otorgado en trabajar en el laboratorio de micología agrícola, ubicado en el departamento de Parasitología Agrícola, por las sugerencias en este trabajo. Por su amistad.

A la Dra. Maricarmen Recillas Mota, por todo su apoyo, sus sugerencias en este trabajo, por las dudas que surgieron las cuales siempre culminaron de la mejor manera, por ser pilar importante en el desarrollo de este trabajo en la parte de laboratorio, por su amistad.

Al M.C. Antonio Segura Miranda, por todo su apoyo, por el otorgamiento de reactivos que se ocuparon en dicha investigación, por formar parte de mi formación académica.

Al Productor Héctor Roque López, por todo su apoyo en la parte de campo, por estar presente en cada aplicación que se le dio al cultivo de jamaica y por mantenerlo en las mejores condiciones, por su amistad.

A los laboratoristas Mariana Calzada Millán y Juan Feroso Ramírez, por estar presente en cada prueba que se realizó en el laboratorio, por su amabilidad y amistad.

DATOS BIOGRÁFICOS



DATOS PERSONALES

Yulissa Secundino Eusebio

Fecha de nacimiento: 27 de junio de 1994

Nacionalidad: Mexicana

Estado civil: Soltera

Domicilio: Villa Hermosa, Tecoanapa Guerrero, México, C. P: 39200

CURP: SEEY940627MGRCSL09

RFC: SEEY940627DCA

E-mail: yulisekundino.1822@gmail.com

Teléfono: 5959572137

Profesión: Ingeniero Agrónomo

LOGROS DESTACABLES

Febrero 2016. Intercambio Académico Nacional realizado en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Junio 2016. Participación en la estancia académica 3er verano de investigación UAGro "JÓVENES DE UAGRO POR LA CIENCIA"

Agosto 2016. Intercambio Académico Nacional realizado en la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM).

Septiembre 2016. Ponente en el 4º Encuentro de Jóvenes Investigadores CONACYT y Décimo Primer Coloquio Estatal de Jóvenes Talentos en la Investigación.

Octubre 2017. Ponente en el 5º Encuentro de Jóvenes Investigadores CONACYT y 11º Coloquio Estatal de Jóvenes talentos en la Investigación.

Septiembre 2018: Ponente en el XXVII Congreso Nacional y VII Internacional de Fitogenética, Biodiversidad ante el cambio climático.

Octubre 2018: Ponente "6º Congreso Nacional de Mitigación del Daño Ambiental en el Sector Agropecuario y Forestal México.2018"

Octubre 2018: Ponente en el 3er Simposio de Investigación Científica

Formación académica

2020-2021 Profesional

Maestría en Protección Vegetal

Institución: Universidad Autónoma Chapingo, Departamento de parasitología Agrícola, Texcoco de mora, Estado de México.

Tesis: Manejo de la enfermedad manchado de cáliz de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L), mediante el uso de *Trichoderma longibrachiatum* en combinación con biopolímeros, en Tecoanapa, Guerrero.

Director: Dr. Mateo Vargas Hernández.

2013-2018 Ingeniero Agrónomo

Institución: Universidad Autónoma de Guerrero, Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales, Iguala de la Independencia Gro.

Tesis: Evaluación de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre patógenos en el cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en la costa chica de Guerrero.

Directora: Dra. Teolincacihuatl Romero Rosale
Bachillerato

Institución: Centro de Bachillerato tecnológico Agropecuario 191, Tecoanapa Gro.

RESUMEN GENERAL

MANEJO DE LA ENFERMEDAD MANCHADO DE CÁLIZ DE LA JAMAICA (*HIBISCUS SABDARIFFA* L), MEDIANTE EL USO DE *TRICHODERMA LONGIBRACHIATUM* EN COMBINACIÓN CON BIOPOLÍMEROS, EN TECOANAPA, GUERRERO.

El cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es importante en el estado de Guerrero, México. Dentro de los problemas fitosanitarios más importantes que afectan al cultivo, se encuentran las enfermedades que afectan a la raíz y tallo causadas por hongos, sin embargo, en los últimos años la enfermedad denominada manchado de hojas y cálices inducida por *Corynespora cassiicola* y *Coniella diplodiella*, se considera la principal problemática del cultivo. El control biológico tiene un enfoque sostenible y práctico para el manejo de enfermedades de las plantas. La activación de la cepa de *T. longibrachiatum* se realizó un medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar). Se evaluaron 4 sustratos (grano de arroz, olote, maíz molido y grano de maíz). Los mejores resultados se obtuvieron con el grano de maíz, el cual cumple con las necesidades nutricionales para propagar al hongo antagonista. Se observó mejor crecimiento a los cuatro días y a las tres semanas los granos estaban completamente cubiertos de micelio del antagonista. El trabajo de campo se desarrolló en dos lotes, bajo condiciones de temporal, ubicados en las localidades de Huamuchapa y Villa Hermosa, municipio de Tecoaapa, Gro. Se utilizó un diseño en bloques completos al azar con siete tratamientos (T1:QT, Quitosano + *Trichoderma I*, T2:AT, Alginato + *Trichoderma I*, T3:T, *Trichoderma I*, T4:Q, Quitosano, T5:A, Alginato, T6:G, Gribac, y T7:Tes, testigo sin inocular); con tres repeticiones. Se destacó como menos eficiente el tratamiento siete con 46.4 y 41.55 % de severidad en hojas, en Villa Hermosa y Huamuchapa, respectivamente; mientras que el mejor fue el tratamiento uno (quitosano + *Trichoderma I*) con 26.38 y 15.56 %. Los biopolímeros quitosano y alginato en combinación con *Trichoderma longibrachiatum* fueron los más efectivos para reducir el daño ocasionado tanto en hojas como en cálices de *Hibiscus sabdariffa*, así mismo dichos tratamientos registraron el mayor peso fresco y seco de cálices. El análisis económico fue determinado por tratamiento, donde destacó el T1:QT, Quitosano + *Trichoderma I*, obtuvo los mejores en rendimiento con 523.81 y 451.19 kg ha⁻¹, con un ingreso promedio y ganancia por peso invertido de \$ 52,381 (3.73) y \$ 45,119 (3.21) en ambas localidades de estudio.

Palabra claves: Enfermedad, *Hibiscus sabdariffa*, *Trichoderma*, biopolímeros.

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

Autor: Yulissa Secundino Eusebio

Director de tesis: Dr. Mateo Vargas Hernández

ABSTRACT

MANAGEMENT OF THE CALYX SPOTTED DISEASE OF THE ROSELLE (*HIBISCUS SABDARIFFA* L), BY USING *TRICHODERMA LONGIBRACHIATUM* IN COMBINATION WITH BIOPOLYMERS, IN TECOANAPA, GUERRERO.

Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) is an important crop in Guerrero state in Mexico. Among the most important phytosanitary problems in this crop are root and stem diseases by fungus. In recent years the disease called leaf and calyx spotting induced by *Corynespora cassiicola* and *Coniella diplodiella*, it is considered the main problem of the crop. The biological control is a sustainable and practical approach for plant disease management. The activation of the *Trichoderma longibrachiatum* strain was carried out in a PDA (Potato Dextrose Agar) culture medium. Four substrates (rice grain, cob, ground corn and corn grain) were evaluated. The best results were obtained with corn grain, which meets the nutritional needs to propagate the antagonistic fungus. Better growth was observed after four days and after three weeks the grains were completely covered with mycelium of the antagonist. The field work was carried out in two locations, Huamuchapa and Villa Hermosa, municipality of Tecoanapa, Gro, under non irrigated conditions. A randomized complete block design with seven treatments was used. (T1:CT, Chitosan + *Trichoderma* I, T2:AT, Alginate + *Trichoderma* I, T3:T, *Trichoderma* I, T4:C, Chitosan, T5:A, Alginate, T6:G, Gribac, y T7:CT, Control test); with three replications. Treatment seven was few efficient with 46.4 and 41.55% of severity in leaves, in Villa Hermosa and Huamuchapa, respectively; while the best was treatment one (chitosan + *Trichoderma* I) with 26.38 and 15.56%. Biopolymers based on chitosan and alginate in combination with *Trichoderma longibrachiatum* were the most effectives in reducing the damage caused both in leaves and calyxes of *Hibiscus sabdariffa*, likewise these treatments registered the highest fresh and dry weight of calyxes. Economic analysis was determined by treatment, where the T1:CT, Chitosan + *Trichoderma* I, obtained the best one in performance with 523.81 and 451.19 kg ha⁻¹, with an average income (and gain per peso invested) of MXN 52,381 (3.73) and MXN 45,119 (3.21) in both study locations.

Key words: Disease, *Hibiscus sabdariffa*, *Trichoderma*, biopolymers.

Master of Science Thesis in Plant Protection, Chapingo Autonomous University.

Author: Yulissa Secundino Eusebio

Thesis supervisor: Dr. Mateo Vargas Hernández

CAPITULO I:

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) pertenece a la familia de las Malváceas, es una planta anual, con un fotoperiodo (día) corto, originaria de India y Malasia, es cultivada en zonas tropicales y subtropicales (Izquierdo-Vega *et al.*, 2020, Ariza-Flores *et al.*, 2014,). México se ubica dentro de los 10 primeros productores a nivel mundial, se cultivan 18,654.09 ha y se producen 7,683.2 Ton de cálices deshidratado (SIAP, 2019). El 73.6 % de la producción se concentra en Guerrero, principalmente en los municipios de Ayutla y Tecoanapa donde primordialmente se cultiva asociada con maíz. El consumo nacional está orientado a la obtención de cálices para la elaborar distintos productos alimenticios tales como: jugo, licor, mermelada, ate, texturizado, ensaladas, té, etc., que aportan alto contenido de vitamina C, antocianinas y otros antioxidantes a la dieta del mexicano (Da-Costa-Rocha *et al.*, 2014).

Los problemas fitosanitarios más importantes que afectan al cultivo, se encuentran las enfermedades que afectan a la raíz y tallo, sin embargo, en los últimos años la enfermedad denominada manchado de cáliz inducida por *Corynespora cassiicola* y *Coniella diplodiella*, ha tomado importancia económica en la zona, se considera el principal problema en el cultivo, ya que ha registrados niveles de incidencia de 100 % y provocado pérdidas significativas de la producción de calices. En estado de Guerrero se han tenido pérdidas totales en en algunos cultivos de jamaica. Los calices afectados por dicha enfermedad presentan problemas para ser comercializados por su aspecto y en casos muy extremos el producto es rechazado (Ortega-Acosta *et al.*, 2015).

En México y el mundo, la problemática por patógenos en los sistemas de producción agrícola va en aumento, la dispersión y desequilibrio ecológico han ocasionado pérdidas económicas inminentes. Los hongos tienen efectos devastadores sobre el rendimiento de los cultivos, por lo que es necesario

controlar dichos daños. Los métodos de control químico han demostrado ser eficientes, han sido el arma principal durante décadas, pero sus efectos secundarios han sido cuestionados ya que causan un grave impacto ambiental, sus efectos adversos en la salud pública y por la resistencia que han desarrollado los microorganismos (Veena y Reddy, 2014).

Dicho concepto de la seguridad alimentaria (S A) es considerada a nivel personal, domicilio, nación y global, ésta se consigue cuando todas las personas, en todo instante, tienen acceso social, físico y económico bastante alimento, inocuo y alimenticio, para poder satisfacer sus necesidades alimenticias. (SADER, 2018). La inocuidad alimentaria es una transformación que inicia en la explotación agrícola y termina en el consumidor final, juega un papel fundamental en la mejora de la S A. La inocuidad de los alimentos es la escasez, o niveles seguros y aceptables del potencial de riesgo en los alimentos, los cuales pueden llegar a dañar la salud de los consumidores. Existen tres tipos de riesgos en los alimentos, los cuales son biológico, químico y físico, estos tipos de riesgos con regularidad son imperceptibles a simple vista. La interpretación a riesgos químicos sigue siendo una inquietud generalizada, en particular para los pequeños campesinos y consumidores de los países en crecimiento. (FAO, 2022).

El empleo de microorganismos específicos (agentes de control biológico, ACB) que interfieren con patógenos y plagas de las plantas implica una alternativa de naturaleza amigable y con un enfoque ecológico (López-Mondéjar *et al.*, 2012). La utilización de ACB está ganando importancia en todo el mundo pues promete minimizar los efectos de sustancias químicas en el medio ambiente, los seres humanos y los animales.

Entre varios microorganismos beneficiosos, *Trichoderma* spp. se utiliza ampliamente como agente de control biológico contra varias enfermedades de las plantas, los metabolitos secundarios producidos por *Trichoderma* actúan como inductores de la respuesta de defensa contra estrés biótico y abiótico en los cultivos. Es importante mencionar poseen una alta adaptabilidad a

condiciones ecológicas y pueden crecer de manera saprofítica, son capaces de interactuar con animales y plantas (Martínez *et al.*, 2013), pueden promover el crecimiento y desarrollo de las plantas, esto mediante la producción de auxinas y giberelinas. Las especies de este género son importantes organismos antagónicos que contribuyen al control de hongos patógenos, debido que poseen propiedades micoparasitarias y antibióticas por lo que algunas especies han sido clasificadas como sobresalientes agentes de control biológico de hongos los cuales son causantes de enfermedades en diferentes plantas (Argumedo-Delira *et al.*, 2009).

En la agricultura, hoy en día, ha tomado importancia también el uso de biopolímeros, compuestos macromoleculares obtenidos a partir de plantas o fuentes biológicas, actúan como estabilizadores y protectores, mejoran la absorción de nutrientes, dando como resultado la promoción del crecimiento de las plantas y la mejora del rendimiento. Tienen la propiedad de ser biodegradables, biocompatibles, fáciles de solubilizar en medios acuosos. La quitina y el quitosano ofrecen una alternativa sostenible para la producción futura de cultivos (Li *et al.*, 2020).

El quitosano es uno de los biopolímeros con mayor aplicación en la agricultura, se obtiene por la desacetilación de la quitina, es un importante componente del exoesqueleto de crustáceos (cangrejos, camarones y langostinos) y paredes celulares de hongos. Importantes estudios han indicado la capacidad del quitosano como un agente antimicrobiano. Ha sido aplicado en plantas solo y en conjunto con agentes de control biológico, juega un papel de gran importancia en la agricultura debido a sus propiedades no tóxicas, biodegradables, que los convierte en compuestos que no son contaminantes para el medio (Xing *et al.*, 2015). Por otro lado, los alginatos son polisacáridos presentes en gran cantidad (aproximadamente 40% p/p) en las matrices celulares de las macroalgas marinas *Phaeophyceae*, también se pueden encontrar en menor cantidad en bacterias del género *Azotobacter* y *Pseudomonas* (Ayarza-León, 2014), el cual está formado por bloques de β -D-manuronato (M) y α -L-guluronato (G).

JUSTIFICACIÓN

Se han utilizado microorganismos de control biológico con una efectividad variable en campo, se ha reportado el uso de biopolímeros para potenciar y adicionar los efectos protectores de cada uno de ellos. Partiendo de este conocimiento, en este trabajo se evaluó la actividad de *Trichoderma longibrachiatum* en combinación con quitosano y alginato sobre el manchado de cáliz de la jamaica, en condiciones de campo.

En los últimos años el uso de los polisacáridos de origen animal y vegetal ha tomado importancia en la agricultura, entre los polisacáridos más utilizados se tienen al alginato, goma arábica y quitosano (Lupo Pasin, 2014). Existen investigaciones en la agricultura sobre las propiedades del quitosano tales como sus propiedades antimicrobianas (bactericida, antifúngico, antiviral y antifitoplasma). Es importante recalcar que el quitosano dispone de una gran disponibilidad, como una opción a los materiales actualmente aprovechados, los cuales son causantes de daños al medio ambiente; como en el caso del uso indiscriminado de pesticidas, el quitosano es considerado como un polímero biodegradable y biocompatible con el ambiente. Otro punto importante en esta vertiente es el buen suministro de pesticidas esto en forma dosificada, lo cual hace más eficaz el uso de fungicidas retenidos dentro de una capsula; lo cual se debe a la propiedad del quitosano, con el objeto de una dosificación más exacta y sin contaminación al medio ambiente (Nazario Francisco, 2018)

Con este trabajo se pretende obtener un producto en el manejo del manchado de cáliz en el cultivo de jamaica, de mayor persistencia, fácil manejo y amigable con el ambiente. Utilizando soluciones de biopolímeros (quitosano, alginato) como vehículos de *Trichoderma longibrachiatum* y generar así una alternativa de control biológico que se adapte a las necesidades de la producción agroecológica de este cultivo.

OBJETIVO GENERAL

Evaluar los efectos de la aplicación de *Trichoderma longibrachiatum*, en combinación con quitosano y alginato, en el manejo del manchado de cáliz de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L), en condiciones de campo.

Objetivos particulares

1. Comparar 4 sustratos orgánicos para la reproducción masiva de *T. longibrachiatum* y seleccionar el sustrato en el que se obtenga la mayor cantidad de esporas.
2. Evaluar en condiciones de campo a *T. longibrachiatum* solo y en combinación con quitosano y alginato para el manejo del manchado de hojas y cálices en jamaica.
3. Utilizar los resultados para transferencia de tecnología a los productores como alternativa para manejo del manchado de hojas y cálices en el cultivo de jamaica en el municipio de Tecoaapa, Gro.

HIPÓTESIS

El hongo de *Trichoderma longibrachiatum*, se desarrolla de manera diferencial dependiendo del sustrato orgánico que se utilice para su reproducción.

El empleo de *Trichoderma longibrachiatum*, quitosano y alginato en forma individual, así como en combinación, son útiles para el manejo de la enfermedad de manchado de cáliz de la jamaica.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1 Origen del cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)(HS), es una planta autógama tropical anual, originaria de África, introducida a México durante la colonia, su fotoperíodo es de día corto (Ariza *et al.*, 2014), con una etapa vegetativa de cuatro a cinco meses; la inducción floral ocurre cuando los días tienden a ser más cortos (Ramírez-Cortés *et al.*, 2011), pertenece a la familia de las malváceas y es cultivada en muchos países, *Hibiscus sabdariffa* es utilizada en la medicina tradicional por que aporta muchos fitoquímicos tales como polifenoles, principalmente antocianinas, polisacáridos y ácidos orgánicos, así también para la obtención de algunos productos alimenticios como son, mermelada, Te, ate, licor, mezcal, texturizado, helado, exfoliante, atole, entre otros. La jamaica es nutritiva, contiene propiedades diuréticas, laxantes y antibacterianas. Tiene grandes cantidades de vitaminas A, C, B1 y E, y minerales así como el hierro, fósforo y calcio (SADER, 2021). Las semillas, flores, calices y hojas de la planta de jamaica, contienen proteínas las cuales oscilan entre 13 % y el 35.4 %, entre los aminoácidos específicos de valor nutricional que se encuentran en la planta de jamaica, destacan lisina, arginina, leucina, fenilalanina y el ácido glutámico, La planta representa una alternativa potencial de sustituto de proteínas de bajo costo en suplementos dietéticos o bien como ingredientes para la agroindustria alimentaria (Osei-Kwarteng *et al.*, 2021).

2.2 Requerimientos climáticos y edáficos

La jamaica requiere de un porcentaje de humedad de 70 a 80 % en en suelo, durante el periodo de crecimiento, y precipitaciones pluviales de 1,500 a 2,000 mm anuales, 100 a 250 mm mes⁻¹ desde los primeros 3 - 4 meses, y altitudes sobre el nivel del mar de los 900 m (Ortega-Acosta *et al.*, 2019). Se desarrolla

muy bien en suelos con buen drenaje es susceptible a los echarcamientos, prefiere suelos ricos en materia orgánica y pesados a una profundidad de 50-150 cm de capa arable y con un rango de pH de 6.0 - 7.8. manifiesta una ligera tolerancia a la salinidad, no más de 4 d S m⁻¹. Se considera tolerante a altas temperaturas (Ruiz-corrall *et al.*, 2013).

2.3 Principales enfermedades fungosas en el cultivo de jamaica.

Las enfermedades fungosas en el cultivo de jamaica se pueden clasificar en dos grupos: las que causan daño en partes basales del tallo y raíces, y las que afectan partes aéreas (ramas, hojas, flores y frutos). El primer grupo ha sido mayormente explorado y se han detectado a los hongos fitopatógenos *Phytophthora parasítica*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium oxysporum*, *Fusarium incarnatum*, *Phomopsis longicolla*, *Fusarium solani*, *Colletotricum truncatum* y *Glomerella cingulata* (Ortega-Acosta *et al.*, 2015) que causan pudrición en la base del tallo y raíz, enfermedad que ha sido denominada en México como “pata prieta”.

En el segundo grupo se han identificado en México a los hongos *Oídium* sp., *Corynespora* sp., *Phomopsis* sp., *Glomerella* sp., *Cercospora* sp.; el primero causa cenicilla, y los últimos cuatro se asocian a la enfermedad manchado de cáliz que provoca puntos necróticos y perforaciones en hojas, cálices, ramas y tallo (Hernández-Morales *et al.*, 2018).

2.3.1 Manchado de hojas y cálices en jamaica

En México el hongo patógeno *Corynespora cassiicola*, fue reportado por Correa Sánchez *et al.*, (2011); y Ruiz Ramírez *et al.*, (2015), como organismo asociado

al manchado de hojas y cálices, corroborado por análisis molecular como el agente causal del manchado de cáliz en jamaica (Ortega-Acosta *et al.*, 2015b)

En el estado de Guerrero, el manchado de cáliz se ha encontrado presente en 8,432 hectáreas de las 14, 294.66 hectáreas, las cuales se encuentran asociadas con maíz, en 2013 se reportó con incidencia en un 70 % de las parcelas de productores, con severidad de nivel medio a alto; donde, se estima que al menos 3,216 productores se han visto afectados por esta enfermedad, que causa daños hasta en un 80 % de su producción (CESAVEGRO, 2017). Puede llegar a reportarse pérdida total.

Se han considerado que las fases fenológicas de floración y desarrollo de cálices son las más susceptibles al daño ocasionado por *Corynespora cassiicola* y *Coniella diplodiella* en el cultivo de jamaica. La enfermedad ocasiona manchas de color marrón en las hojas, de forma circular e irregular (Ortega-Acosta *et al.*, 2015), en las plantas que producen antocianinas forman un halo rojizo alrededor de la mancha (Figura 1). En casos avanzados, las manchas aumentan en tamaño y número hasta necrosar completamente la hoja en algunos casos. El manchado inicia en las hojas inferiores y avanzan a las hojas superiores hasta provocar la defoliación de la planta. Después de la defoliación, la necrosis continúa a las ramas sobre las cuales se presentan pequeñas manchas de color marrón oscuro (Correa Sánchez *et al.*, 2011). En cálices (Figura 1), el daño inicia con puntos negros de tamaño milimétrico en forma circular, en estados avanzados origina un atizonamiento en la parte apical, los cuales se van expandiendo hasta necrosar completamente el cáliz, (Ortega-Acosta *et al.*, 2015).



Figura 1. a) Características del manchado de hojas de plantas de 90 días después de la germinación; b) daños en calices con en *Hibiscus sabdariffa*. Fuente: foto personal.

La etiología de la enfermedad el manchado de cáliz ha sido estudiado, de manera continua por diferentes investigadores, en el (cuadro 1), se indica un resumen de los patógenos identificados para dicha enfermedad, de forma constante se han identificado a *Corynespora cassicola* y *Pillidiella diplodiella* (Correa Sánchez *et al.*, 2011; Poltronieri *et al.*, 2012; Ortega-Acosta *et al.*, 2015).

Cuadro 1. Patógenos asociados al manchado de calices de la (*Hibiscus sabdariffa*) en México.

Año	Patógeno	Método de identificación	Fuente
2010	<i>Coniella musaiaensis</i> Sutton var. <i>hibisci</i> , <i>Corynespora cassicola</i> Berk & Curt., <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (Pat.) Griff. & Maubl. y <i>Phomopsis</i> sp. Dearn.	Morfológico	Martínez Sánchez, 2010)
2012	<i>Pillidiella diplodiella</i> (sin. <i>Phoma diplodiella</i>)	Morfológico y ADN (ITS)	(Correa Sánchez <i>et al.</i> , 2011)
2015	<i>Aspergillus japonicus</i> , <i>Alternaria alternata</i> , y <i>Nodulisporium</i> sp. <i>Corynespora cassicola</i> y <i>Pillidiella diplodiella</i> .	Morfológico y ADN (ITS)	(Ruíz Ramírez <i>et al.</i> , 2015)

2015	<i>Corynespora cassicola</i> (Berk. & M.A. Curtis).	Morfológico y ADN (ITS)	Ortega-Acosta <i>et al.</i> , 2015 a
2016	<i>Leptosphaerulina</i> sp., <i>Phomopsis</i> sp., <i>Colletotrichum</i> sp. y <i>Corynespora cassicola</i>	Morfológico y ADN (ITS, sólo C. <i>cassicola</i>)	(Ortega-Acosta <i>et al.</i> , 2016)
2019	<i>Coniella javanica</i>		(Barrón-Coronado <i>et al.</i> , 2019)

2.4 Importancia del control biológico en la agricultura

El futuro de la producción de alimentos y la seguridad ambiental están en peligro debido a problemas en la agricultura, la aparición de microorganismos fitopatógenos en cultivos agrícolas ocasiona pandemias en las plantas, además, del uso excesivo de pesticidas y fertilizantes sintéticos (Zin y Badaluddin, 2020). El control biológico de patógenos mediante el uso de organismos antagonistas es una de las líneas de investigación que ha tomado gran importancia y de mayor desarrollo en México, su impulso e importancia obedece en gran medida a la agricultura orientada a los productos de exportación, por consiguiente demanda tecnología para la producción y formulación, en los últimos años se han probado diferentes organismos pero los que más destacan son los hongos en un 63 %, bacterias 31 % (Bettiol *et al.*, 2014). En estudios recientes han demostrado que las enfermedades de las plantas, como la pudrición de la raíz, el marchitamiento, la pudrición de la fruta y otras enfermedades de las plantas, pueden ser controladas por el manejo de microorganismos específicos (agentes de control biológico: ACB) que interfieren con los patógenos y plagas de las plantas, son de naturaleza amigable y con un enfoque ecológico para superar los problemas causados por los métodos químicos que no son siempre eficaces para algunas enfermedades (Begum *et al.*, 2010; López-Mondéjar *et al.*, 2012)

Uno de los principales representante de dichos microorganismos se encuentra con especies del género *Trichoderma* spp, por su la capacidad de colonizar las raíces de las plantas, para atacar y parasitar a otros hongos, tiene una alta

adaptabilidad a condiciones ambientales, así como también pueden crecer de manera saprofítica (Zeilinger *et al.*, 2016). Los metabolitos secundarios secretados por *Trichoderma* spp, han demostrado su papel en la supresión del crecimiento de microorganismos patógenos y estimular el crecimiento de las plantas. La capacidad de antagonizar parasitariamente y matar a otros hongos, proceso llamado micoparasitismo. Además, la interacción entre la planta y *Trichoderma* spp, regula con éxito la arquitectura de la raíz, aumentando la longitud de la raíz primaria y laterales, que resulta en mejor una efectividad de la absorción de nutrientes por la planta (Contreras-Cornejo *et al.*, 2015).

Así también, en la agricultura, para ayudar en el aumento de la producción de alimentos se han empleado el uso productos fungistaticos, los cuales son más amigables con el medio ambiente, con el manejo de materiales biodegradables. Cabe mencionar que en la agricultura ha tomado importancia hoy en día, el empleo de biopolímeros, los cuales son originados a partir de plantas o fuentes biológicas, actúan como estabilizadores y protectores, mejoran la absorción de nutrientes en las plantas, dando como resultado la promoción del crecimiento de las plantas y la mejora del rendimiento, entre los biopolímeros más utilizados en la agricultura se encuentran quitosano y alginato (Velásquez *et al.*, 2019).

2.4.1 Importancia de *Trichoderma* en la agricultura

Trichoderma (teleomorfo *Hypocrea*), es un género de hongos filamentosos que caracteriza por tener una variedad de estilos de vida e interacciones con otros hongos, así como con animales y plantas (Druzhinina *et al.*, 2011). Con una gran capacidad para degradar las paredes celulares y con una amplia distribución geográfica y se encuentra en la mayoría de los suelos, así como en diversos hábitats (creciendo en madera, corteza, sobre y dentro de otros hongos , e innumerables sustratos). Es un hongo aeróbico (es decir necesita de oxígeno), con gran capacidad para resistir un amplio rango de temperaturas (Martínez *et al.*, 2013).

El mecanismo clave de *Trichoderma*, que le ha dado éxito como agente de biocontrol, es la producción de metabolitos primarios con propiedad antimicrobiana para inducir resistencia (Mesa-Vanegas *et al.*, 2019). Además, debe sumarse la competencia directa por los mismos nichos de nutrientes, competencia por espacio, micoparasitismo, antibiosis, producción de enzimas que degradan las paredes celulares, (celulasas, quitinasas y glucanasas) y metabolitos secundarios (MS), como antibióticos. Los MS pueden tener una función dual e inducir resistencia sistémica en las plantas (Brotman *et al.*, 2010) o restringir el crecimiento de potenciales competidores microbianos. Una vez establecido en la planta, *Trichoderma* spp., es capaz de promover el crecimiento de las plantas, aumenta la disponibilidad de nutrientes, la eficacia del uso de fertilizantes, el porcentaje y la tasa de germinación de las semillas y la estimula las defensas de las plantas contra el daño biótico y abiótico, mejorar la producción de cultivos y mejorar la resistencia a las enfermedades (Hermosa *et al.*, 2012.; Mukherjee *et al.*, 2012). Por otro lado (Mastouri *et al.*, 2010) documentaron que el tratamiento de semillas de tomate con *T. harzianum* ayuda a acelerar la germinación de las semillas, aumenta el vigor de las plántulas, mejora el estrés hídrico, osmótico, salino, por frío y térmico, al inducir protección fisiológica en las plantas contra el daño oxidativo, favoreciendo aún más su utilidad en la agricultura.

2.4.2 Vías de señalización de defensa inducidas por *Trichoderma*

La asociación planta-microbio implica el reconocimiento molecular de dos socios, se lleva a cabo por una red de señalización, la cual es mediada por hormonas vegetales, ácido salicílico (AS), ácido Jasmónico (AJ) y etileno (ET); el AJ y ET han sido descritos como moléculas de traducción de señales para la resistencia sistémica inducida (RSI), asociada al efecto de microorganismos benéficos; por otro lado, la vía de traducción de señales realizada a través de la acumulación

de AS y ET se encuentra en la resistencia sistémica adquirida (RSA), la cual es inducida por el ataque de patógenos (Hermosa *et al.*, 2012).

2.5 Quitosano

La quitina se considera como uno de los polisacáridos más abundantes en la naturaleza, es empleado en la obtención de quitosano por un proceso llamado desacetilación. Se produce alrededor de 100 billones de toneladas por años de quitina en la naturaleza, esto por moluscos, crustáceos, hongos e insectos, como mayor compuesto encontrado del exoesqueleto de animales marinos invertebrados (Azuma *et al.*, 2015).

La desacetilación de la quitina puede llevarse a cabo por medio de vía enzimática o química. (Younes & Rinaudo, 2015). Para obtención del quitosano primero se debe extraer la quitina; a nivel industrial la quitina es extraída mediante dos pasos: a) extracción de la proteína (desproteínización) de la materia prima mediante una solución alcalina, b) eliminación de las impurezas inorgánicas (desmineralización) con solución ácida y decoloración. La quitina resultante es desacetilada en más de un 50% se produce el quitosano. Una vez obtenida la quitina, es tratada con una solución de hidróxido de sodio concentrada (50-60% p/v) a temperaturas de entre 80 a 100 °C. El tiempo de reacción es rápido de 2 horas (Philibert *et al.*, 2017). El quitosano se considera insoluble en agua, solventes orgánicos y soluciones básicas, pero es considerado soluble en soluciones de ácidos diluidos como nítrico, acético, clorhídrico, perclórico y fosfórico (De Alvarenga, 2011).

2.5.1 Aplicaciones de quitosano

El quitosano se ha aplicado como tratamiento de semillas para mejorar la germinación, el crecimiento de plantas y para protegerlas contra patógenos bajo

condiciones estresantes en muchas especies de cultivos (Lian-Ju *et al.*, 2014). Además, el quitosano ha aumentado la productividad de muchos cultivos al reducir las necesidades de fertilizantes (Malerba y Cerana, 2018), también se descubrió que el quitosano no solo es un agente antimicrobiano, sino que también actúa como un inductor eficaz en la resistencia sistémica adquirida (RSA) de las plantas contra patógenos (Abro *et al.*, 2014).

El quitosano, cuando es aplicado a tejidos vegetales, normalmente se aglutina alrededor de los sitios de penetración, tiene dos efectos importantes. I) es la separación del sitio de penetración mediante la formación de una barrera que evita que el patógeno se propague e invada otros tejidos sanos. Esta manifestación se asemeja a las zonas de abscisión que a menudo se pueden observar en las hojas, evita que varios patógenos necrotróficos puedan extenderse más. II) efecto es la capacidad del quitosano para unir varios materiales e iniciar rápidamente el proceso de curación de la herida (El Hadrami *et al.*, 2010). El quitosano es utilizado como en el crecimiento de las plantas, Su actividad fungicida del quitosano se ha estudiado en forma *in vitro* como *in vivo* (López-Mora *et al.*, 2013). Los mecanismos de defensa que activa son: síntesis de lignina y calosa, la inducción de la fenilalanina amonio liasa, biosíntesis de fitoalexinas, producción de inhibidores de proteasas y proteínas relacionadas con la patogénesis como son: quitinasas, glucanasas, peroxidasas y quitosanasas (Rodríguez-Pedroso *et al.*, 2009). El ácido salicílico y el quitosano son utilizados en conjuntos para inducir la resistencia de la planta contra los patógenos. Estos dos compuestos presentan una opción para el empleo de fungicidas, ya que modulan la RSA y a su vez estimulan la producción de fenoles, flavonoides, en respuesta a la infección, la cual es causada por hongos (Golkar *et al.*, 2019).

2.6 Alginato

El alginato es un biopolímero presente en la composición de las algas marinas, *Laminaria hyperborean*, *Ascophyllum nodosum* y *Macrocystis pirifera*, (40% de la materia seca). Su función biológica principal es estructural, ya que otorga fuerza y flexibilidad a sus tejidos. Los alginatos se componen de sales copoliméricas de ácido algínico, se considera como un polisacárido natural el cual está formado por cadenas lineales constituidas por dos unidades recurrentes agrupadas en bloques derivadas de los ácidos α -L-gulurónico (G) y β -D-manurónico (M) unidos por enlaces α y β (1 \rightarrow 4) glucosídicos. Los alginatos purificados tienen una gran variedad de usos industriales, debido a su capacidad para formar hidrogeles, perlas, fibras o películas, principalmente en presencia de calcio (Rinaudo, 2014 ;Neira-Carrillo *et al.*, 2013). El alginato también se ha utilizado para inmovilizar organismos vivos como semillas, por ser biocompatible, no tóxico y degradable (Peña-Datoli *et al.*, 2016).

Muchos estudios han descrito beneficios de las aplicaciones de extracto de algas marinas en las plantas, como la germinación, aumento en el rendimiento, sanidad, resistencia al estrés biótico y abiótico, esto se le atribuye al suministro de nutrientes esenciales para la degradación de la materia orgánica y la mejora en las características del suelo (Khan *et al.*, 2009).

4. BIBLIOGRAFÍA

- Abro, M. A., Lecompte, F., Bardin, M., & Nicot, P. C. (2014). Nitrogen fertilization impacts biocontrol of tomato gray mold. *Agronomy for sustainable development*, 34(3), 641-648. Agraria (FIA), F. para la I., & Tecnología, C. de E. y. (2004). *Manual producción y utilización de Trichoderma spp.* <http://bibliotecadigital.fia.cl/handle/20.500.11944/146882>
- Arévalo, E., Cayotopa, J., Olivera, D., Gárate, M., Trigoso, E., Costa, do B., & Leon, B. (2017). Optimización de sustratos para la producción de conidias de *Trichoderma harzianum*. Por fermentación sólida en la región de San Martín. Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(2), 135-144. <https://doi.org/10.18271/ria.2017.272>
- Argumedo-Delira, R., Alarcón, A., Ferrera-Cerrato, R., & Peña-Cabriales, J. J. (2009). The fungal genus *Trichoderma* and its relationship with organic and inorganic pollutants. *Revista Internacional de Contaminación Ambiental*, 25(4), 257-269.
- Ariza Flores, Rafael & Gálvez Marroquín, Luis Antonio. (2020). *Quinba R-TC: Nueva variedad de jamaica tipo criolla de alto rendimiento. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 11 núm. 5 (2020).* <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i5.1044>.
- Ariza-Flores, R., Serrano-Altamirano, V., Navarro-Galindo, S., Ovando-Cruz, M. E., Vázquez-García, E., Barrios-Ayala, A., Michel-Aceves, A. C., Guzmán-Maldonado, S. H., & Otero-Sánchez, M. A. (2014). Variedades Mexicanas de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) 'Alma blanca' y 'Rosaliz de color claro, y 'Cotzaltzin' y 'Tecoanapa' de color rojo. *Revista Fitotecnia Mexicana*, 37(2), 181. <https://doi.org/10.35196/rfm.2014.2.181>
- Ayarza-León, J. L. (2014). Los alginatos: 20000 usos de las algas submarinas. *Revista de Química*, 28(1-2), 19-23.
- Azuma, K., Izumi, R., Osaki, T., Ifuku, S., Morimoto, M., Saimoto, H., Minami, S.,

- & Okamoto, Y. (2015). Chitin, chitosan, and its derivatives for wound healing: old and new materials. *Journal of functional biomaterials*, 6(1), 104-142.
- Barrón-Coronado, A. K., Ayala-Escobar, V., Leyva-Mir, S. G., Nava-Díaz, C., Aranda-Ocampo, S., & Hernández-Morales, J. (2019). First Report of *Coniella javanica* Causing Blight on Roselle Leaves and Calyx in Guerrero, Mexico. *Plant Disease*, 103(5), 1030. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1609-PDN>
- Bautista-Baño S, Sivakumar D, Bello-Pérez A, Villanueva-Arce R, Hernández-López M. A (2013). review of the management alternatives for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain. *Crop Protection*.49:8-20. doi: 10.1016/j.cropro.2013.02.011.
- Begum, Most. F., Rahman, M. A., & Alam, M. F. (2010). Biological Control of Alternaria Fruit Rot of Chili by *Trichoderma* Species under Field Conditions. *Mycobiology*, 38(2), 113-117. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2010.38.2.113>
- Bellino, C. M. B., & Marroquín, L. C. (2013). Producción de *Trichoderma Harzianum* en diferentes sustratos orgánicos. *Portal de la Ciencia*, 68-74. <https://doi.org/10.5377/pc.v4i0.1864>
- Bettiol, W., Rivera, M. C., Mondino, P., Montealegre, J. R., & Colmenarez, Y. (2014). Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. *Embrapa Meio Ambiente-Livro científico (ALICE)*.
- Brotman, Y., Kapuganti, J. G., & Viterbo, A. (2010). *Trichoderma*. *Current Biology*, 20 (9), R390-R391. Compartido, F. de R. (s. f.). *Seguridad Alimentaria y Nutricional*. gob.mx. Recuperado 11 de febrero de 2022, de <http://www.gob.mx/firco/articulos/seguridad-alimentaria-y-nutricional>
- CESAVEGRO (2017). Programa de Trabajo de la Campaña Manejo Fitosanitario de la jamaica del Incentivo de Prevención de Plagas Fitosanitarias Reglamentadas del Programa de Sanidad e Inocuidad Agroalimentaria 2017 del Estado de Guerrero. Recuperado el 19 de octubre del 2021 de <https://www.gob.mx>

- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Vergara, A. G., & López-Bucio, J. (2015). *Trichoderma* Modulates Stomatal Aperture and Leaf Transpiration Through an Abscisic Acid-Dependent Mechanism in *Arabidopsis*. *Journal of Plant Growth Regulation*, *34*(2), 425-432. <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9471-8>
- Correa Sánchez, E., Ortiz García, C. F., Torres de la Cruz, M., Bautista Muñoz, C. del C., Rivera Cruz, M. del C., Lagunes Espinoza, L. del C., & Hernández Salgado, J. H. (2011). Etiología de la Mancha Acuosa de la Jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en Tabasco, México. *Revista mexicana de fitopatología*, *29*(2), 165-167.
- Da-Costa-Rocha, I., Bonnlaender, B., Sievers, H., Pischel, I., & Heinrich, M. (2014). Hibiscus sabdariffa L.-a phytochemical and pharmacological review. *Food Chemistry*, *165*, 424-443. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2014.05.002>
- De Alvarenga, E. S. (2011). Characterization and properties of chitosan. *Biotechnology of biopolymers*, *91*, 48-53.
- Delgado-Oramas, B. P (2020). La resistencia inducida como alternativa para el manejo de plagas en las plantas de cultivo. *Revista de Protección Vegetal*, *35*(1).
- Déon, M., Fumanal, B., Gimenez, S., Bieysse, D., Oliveira, R. R., Shuib, S. S., Breton, F., Elumalai, S., Vida, J. B., Seguin, M., Leroy, T., Roeckel-Drevet, P., & Pujade-Renaud, V. (2014). Diversity of the cassiicolin gene in *Corynespora cassiicola* and relation with the pathogenicity in *Hevea brasiliensis*. *Fungal Biology*, *118*(1), 32-47. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.10.011>
- Dharani, S. R., Srinivasan, R., Sarath, R., & Ramya, M. (2020). Recent progress on engineering microbial alginate lyases towards their versatile role in biotechnological applications. *Folia Microbiologica*, *65*(6), 937-954. <https://doi.org/10.1007/s12223-020-00802-8>
- Druzhinina, I. S., Seidl-Seiboth, V., Herrera-Estrella, A., Horwitz, B. A., Kenerley,

- C. M., Monte, E., Mukherjee, P. K., Zeilinger, S., Grigoriev, I. V., & Kubicek, C. P. (2011). Trichoderma: The genomics of opportunistic success. *Nature Reviews Microbiology*, 9(10), 749-759. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2637>
- El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., & Daayf, F. (2010). Chitosan in Plant Protection. *Marine Drugs*, 8(4), 968-987. <https://doi.org/10.3390/md8040968>
- FAO (2021). El Estado de la Seguridad Alimentaria y la Nutrición en el mundo. Recuperado el 10 de enero 2022. <https://www.fao.org/publications/sofi/2021/es/>
- Golkar, P., Taghizadeh, M., & Yousefian, Z. (2019). The effects of chitosan and salicylic acid on elicitation of secondary metabolites and antioxidant activity of safflower under in vitro salinity stress. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 137(3), 575-585.
- Hermosa, R., Viterbo, A., Chet, I., & Monte, E. 2012. (s. f.). Plant-beneficial effects of *Trichoderma* and of its genes. *Microbiology*, 158(1), 17-25. <https://doi.org/10.1099/mic.0.052274-0>
- Hernández, M. I., Hernández, A. R., & González, L. C. (2016). Niveles de humedad, cepa y cantidad de sustrato arroz entero para la reproducción de *Trichoderma* spp. *Revista Científica Agroecosistemas*, 4(1), 38-45.
- Hernández-Melchor D. J, Ferrera-Cerrato R, Alarcón A. (2019). Trichoderma: Importancia Agrícola, Biotecnológica, y Sistemas de Fermentación para Producir Biomasa y Enzimas de Interés Industrial. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia*, 35(1): 98-112. DOI.<https://doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>
- Hernández-Morales, J., Ochoa-Martínez, D. L., Ortega-Acosta, S. Á., & Vega-Muñoz, R. (2018). Survey on alternative hosts of *Corynespora cassiicola*, the cause of the leaf and calyx spot, in the surroundings of roselle fields in Mexico. *Tropical Plant Pathology*, 43(3), 263-270. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0206-9>
- Izquierdo-Vega J. A, Arteaga-Badillo D. A, Sánchez Gutiérrez M, Morales-

- González J.A, Nancy Vargas-Mendoza N, Gómez-Aldapa C. A, Castro Rosas J, Delgado Olivares L, Eduardo Madrigal-Bujaidar E y Madrigal Santillán E (2020). Organic Acids from Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.)—A Brief Review of Its Pharmacological Effects. *Biomedicinas*, 8 (5), 100; <https://doi.org/10.3390/biomedicines8050100>
- Khan, W., Rayirath, U. P., Subramanian, S., Jithesh, M. N., Rayorath, P., Hodges, D. M., Critchley, A. T., Craigie, J. S., Norrie, J., & Prithiviraj, B. (2009). Seaweed extracts as biostimulants of plant growth and development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 28(4), 386-399.
- Kumar, R., Kumari, K., Hembram, K. C., Kandha, L., & Bindhani, B. K. (2019). Expression of an endo α -1, 3-Glucanase gene from *Trichoderma harzianum* in rice induces resistance against sheath blight. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 28(1), 84-90. <https://doi.org/10.1007/s13562-018-0465-7>
- Li, K., Xing, R., Liu, S., & Li, P. (2020). Chitin and Chitosan Fragments Responsible for Plant Elicitor and Growth Stimulator. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(44), 12203-12211. <https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05316>
- Lian-Ju, M., Yue-Ying, L., Lan-Lan, W., Xue-Mei, L., Liu, T., & Bu, N. (2014). Germination and physiological response of wheat (*Triticum aestivum*) to pre-soaking with oligochitosan. *International Journal of Agriculture and Biology*, 16(4).
- López-Mondéjar, R., Blaya, J., Obiol, M., Ros, M., & Pascual, J. A. (2012). Evaluation of the effect of chitin-rich residues on the chitinolytic activity of *Trichoderma harzianum*: In vitro and greenhouse nursery experiments. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 103(1), 1-8. <https://doi.org/10.1016/j.pestbp.2012.02.001>
- López-Mora A. I; Gutiérrez-Martínez P; Bautista-Baños S; Jiménez-García L. F; Hilda Araceli Zavaleta-Mancera H. A (2013). Evaluación de la actividad antifúngica del quitosano en *Alternaria alternat* y en la calidad del mango

- 'Tommy Atkins' durante el almacenamiento. *Revista Chapingo Ser. Hortic* vol. 19 no. 3. <https://doi.org/10.5154/r.rchsh.2012.07.038>
- Lupo Pasin, B., González Azón C., Maestro Garriga A (2012). Microencapsulación con alginato en alimentos. Técnicas y aplicaciones. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*. 3 (1): 130-151.
- Malerba, M., & Cerana, R. (2018). Recent Advances of Chitosan Applications in Plants. *Polymers*, 10(2), 118. <https://doi.org/10.3390/polym10020118>
- Martínez Sánchez, C. (2010). *Etiología e incidencia de hongos asociados al manchado de cálices de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) en Guerrero, México*. <http://localhost:8080/xmlui/handle/10521/260>
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. Y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1-11.
- Martínez, C., Blanc, F., Le Claire, E., Besnard, O., Nicole, M., & Baccou, J. C. (2001). Salicylic acid and ethylene pathways are differentially activated in melon cotyledons by active or heat-denatured cellulase from *Trichoderma longibrachiatum*. *Plant Physiology*, 127(1), 334-344. <https://doi.org/10.1104/pp.127.1.334>
- Mastouri, F., Björkman, T., & Harman, G. E. (2010). Seed Treatment with *Trichoderma harzianum* Alleviates Biotic, Abiotic, and Physiological Stresses in Germinating Seeds and Seedlings. *Phytopathology*®, 100(11), 1213-1221. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-03-10-0091>
- Mesa-Vanegas, A. M., Marin, A., Calle-Osorno, J., Mesa-Vanegas, A. M., Marin, A., & Calle-Osorno, J. (2019). Metabolitos secundarios en *Trichoderma* spp. Y sus aplicaciones biotecnológicas agrícolas. *Actualidades Biológicas*, 41(111), 32-44. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.v41n111a02>
- Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. A., Martínez-Rojero, R. D., Rodríguez-

- Morán, N. L., Ariza-Flores, R., & Barrios-Ayala, A. (2008). Producción masiva de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 14(2), 185-191.
- Mukherjee, P. K., Buensanteai, N., Moran-Diez, M. E., Druzhinina, I. S. & Kenerley, C. M. (2012). Functional analysis of non-ribosomal peptide synthetases (NRPSs) in *Trichoderma virens* reveals a polyketide synthase (PKS)/NRPS hybrid enzyme involved in the induced systemic resistance response in maize. *Microbiology* 158, 155165.
- Nazario Francisco F., (2018). *Item 1025/407 | Repositorio CIQA*.
Aplicaciones de quitina y sus derivados en la agricultura.
<http://ciqa.repositorioinstitucional.mx/jspui/handle/1025/407>
- Neira-Carrillo, A., Muñoz, D. Y., Zazzali, P. A., Marini, Y. A., Vilches, S. V., & Palma, R. E. (2013). Encapsulación de biomoléculas usando polímeros naturales: “un nuevo enfoque en la entrega de fármacos en medicina”. *Avances en Ciencias Veterinarias*, 28(2), ág-31.
- Noriega-Cantú, D. H., Garrido-Ramírez, E. R., Pereyda-Hernández, J., Toledo-Aguilar, R., Vásquez-Ortiz, R., Alejo-Jaimes, A., & González-Mateos, R. (2021). *Incidencia y Distribución Geografica del Manchado del cáliz de jamaica en Guerrero, méxico*. 8.
- Ortega-Acosta, S. A., Hernández-Morales, J., Ochoa-Martínez, D. L., & Ayala-Escobar, V. (2015b). First Report of *Corynespora cassiicola* Causing Leaf and Calyx Spot on Roselle in Mexico. *Plant Disease*, 99(7), 1041-1041.
<https://doi.org/10.1094/PDIS-04-14-0438-PDN>
- Ortega-Acosta, S. Á., Hernández-Morales, J., Sandoval-Islas, J. S., Ayala-Escobar, V., Soto-Rojas, L., Alejo-Jaimes, A., (2015a). Distribution and Frequency of Organisms Associated to Disease «Black Leg» of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Guerrero, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 33(2), 173-194.
- Ortega-Acosta, S. Á., Ochoa-Martínez, D. L., Leyva-Mir, S. G., Velasco-Cruz, C.,

- Mora-Aguilera, J. A., & Hernández-Morales, J. (2019). Control químico del manchado de hojas y cálices de jamaica en Guerrero, México. *Summa Phytopathologica*, 45, 38-43. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/182006>
- Ortega-Acosta, S. Á., Velasco-Cruz, C., Hernández-Morales, J., Ochoa-Martínez, D. L., Hernández-Ruiz, J., (2016). Escalas logarítmicas diagramáticas para evaluar la severidad del manchado de hojas y cálices de jamaica. *Revista mexicana de fitopatología*, 34(3), 270-285. <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1606-6>
- Osei-Kwarteng, M., Gweyi-Onyango, J. P., Komla Mahunu, G., Tahir, H. E., & Apaliya, M. T. (2021). Chapter 6 - Hibiscus sabdariffa: Protein products, processing, and utilization. En A. A. Mariod, H. E. Tahir, & G. K. Mahunu (Eds.), *Roselle (Hibiscus sabdariffa)* (pp. 77-89). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-822100-6.00012-4>
- Palma-Guerrero, J., Jansson, H.-B., Salinas, J., & Lopez-Llorca, L. v. (2008). Effect of chitosan on hyphal growth and spore germination of plant pathogenic and biocontrol fungi. *Journal of Applied Microbiology*, 104(2), 541-553. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03567.x>
- Panichikkal, J., Prathap, G., Nair, R. A., & Krishnankutty, R. E. (2021). Evaluation of plant probiotic performance of *Pseudomonas* sp. Encapsulated in alginate supplemented with salicylic acid and zinc oxide nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 166, 138-143. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.10.110>
- Patel seema. 2014. Hibiscus sabdariffa: An ideal yet under-exploited candidate for nutraceutical applications. *Biomedicine & Preventive Nutrition*, Volume 4, Issue 1, Pages 23-27. [Http://doi. 10.1016/j.bionut.2013.10.004](http://doi.org/10.1016/j.bionut.2013.10.004)
- Peña-Datoli, M., Hidalgo-Moreno, C. M., González-Hernández, V. A., Alcántar-González, E. G., & Etchevers-Barra, J. D. (2016). Recubrimiento de semillas de maíz (*Zea mays* L.) con quitosano y alginato de sodio y su efecto en el desarrollo radical. *Agrociencia*, 50(8), 1091-1106.
- Peteira Delgado-Oramas, B. (2020). La resistencia inducida como alternativa

- para el manejo de plagas en las plantas de cultivo. *Revista de Protección Vegetal*, 35(1).
- Philibert, T., Lee, B. H., & Fabien, N. (2017). Current status and new perspectives on chitin and chitosan as functional biopolymers. *Applied biochemistry and biotechnology*, 181(4), 1314-1337.
- Poltronieri, T. P. de S., Poltronieri, L. S., Verzignassi, J. R., Benchimol, R. L., & Carvalho, E. de A. (2012). Vinagreira: Novo hospedeiro de *Corynespora cassiicola* no Pará. *Summa Phytopathologica*, 38, 167-167. <https://doi.org/10.1590/S0100-54052012000200013>
- Ramírez-Benítez, J. E., Arjona Sabido, Raúl. A., Caamal Velázquez, J. H., Rodríguez Ávila, N. L., Solís Pereira, S. E., & Lizama Uc, G. (2019). Inhibición del crecimiento y modificación genética de *Phytophthora capsici* usando quitosano de bajo grado de polimerización. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(1), 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.03.003>
- Ramírez-Cortés, B., Caro-Velarde, F. de J., Valdivia-Reynoso, M. G., Ramírez-Lozano, M. H., & Machuca-Sánchez, M. L. (2011). Cambios en tamaño y características químicas de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) durante su maduración. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 13.
- Riaz Rajoka, M. S., Mehwish, H. M., Wu, Y., Zhao, L., Arfat, Y., Majeed, K., & Anwaar, S. (2020). Chitin/chitosan derivatives and their interactions with microorganisms: A comprehensive review and future perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(3), 365-379. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1713719>
- Rinaudo, M. (2014). Biomaterials based on a natural polysaccharide: Alginate. *Tip*, 17(1), 92-96.
- Rodríguez Pedroso, A. T., Plascencia Jatomea, M., Bautista Baños, S., Cortéz Rocha, M. O., & Ramírez Arrebato, M. Á. (2015). Actividad antifúngica in vitro de quitosanos sobre *Bipolaris oryzae*, patógeno del arroz. *Acta Agronómica*, 65(1). <https://doi.org/10.15446/acag.v65n1.48235>
- Rodríguez-Pedroso, A. T., Ramírez-Arrebato, M. A., Rivero-González, D.,

- Bosquez-Molina, E., Barrera-Necha, L. L., & Bautista-Baños, S. (2009). *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 15(3), 307-317.
- Ruiz Corral J. A., Medina García G., Gonzáles Acuña I.J., Flores López H. E., Ramírez Ojeda G., Ortiz Trejo C., Byerly Murphy K. F., Martínez Parra R. A., (2013). *Requerimientos Agroecológicos de Cultivos* (2da edición), Libro Técnico Núm. 3. INIFAP. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agrícolas y Pecuarias-CIRPAC-Campo Experimental Centro Altos de Jalisco. Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. 564 p.
- Ruiz Ramírez, R., Hernández Morales, J., Ayala Escobar, V., Soto Rojas, L., Leyva Mir, S. G., Hernández Ruiz, J., (2015). Hongos Asociados a Cálices de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) Deshidratados y Almacenados en Guerrero, México. *Revista mexicana de fitopatología*, 33(1), 12-30.
- SADER (2018). *Seguridad Alimentaria y Nutricional*. gob.mx. Recuperado 11 de febrero de 2022, de <http://www.gob.mx/firco/articulos/seguridad-alimentaria-y-nutricional>
- SADER (2021). Refrescante y nutritivo de la jamaica. Recuperado el 6 de octubre del 2021 de <http://www.gob.mx/agricultura/articulos/refrescante-y-nutritivo-sabor-de-la-jamaica?idiom=es>
- Sandle, T. 2014. *Trichoderma*. p. 644-646. En C.A. Batt y M.-L. Tortorello (eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology*, London, UK.
- SIAP. (2019). *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola*. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- SMN., S. M. N., & Comisión Nacional del Agua. (s. f.). *NORMALES CLIMATOLÓGICAS*. Recuperado 20 de septiembre de 2021, de <https://smn.conagua.gob.mx/es/informacion-climatologica-por-estado?estado=gro>
- Tang, L., Guo, E., Zhang, L., Wang, Y., Gao, S., Bao, M., Han, F., & Yu, W. (2022). The Function of CBM32 in Alginate Lyase VxAlly7B on the Activity on Both Soluble Sodium Alginate and Alginate Gel. *Frontiers in Microbiology*, 12.
- Teramoto, A., Parisi, M. C. M., & Cunha, M. G. (2013). Caracterização fisiológica

- de aislados de *Corynespora cassiicola*. *Tropical Plant Pathology*, 38, 313-322. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762013005000012>
- Tucci, M., Ruocco, M., Masi, L. D., Palma, M. D., & Lorito, M. (2011). The beneficial effect of *Trichoderma* spp. On tomato is modulated by the plant genotype. *Molecular Plant Pathology*, 12(4), 341-354. <https://doi.org/10.1111/j.1364-3703.2010.00674.x>
- Veena, G. A., & Reddy, N. P. E. (2014). *Mycoparasitism of Trichoderma Spp. On Rhizoctonia Bataticola, the Causal Agent of Dry Root Rot of Chickpea*. <https://imsear.searo.who.int/jspui/handle/123456789/167717>
- Velásquez, C. L., Pirela, M. R., Chirinos, A., & Avelizapa, L. R. (2019). Nuevos retos en Agricultura para los Biopolímeros de Quitina y Quitosano. Parete 1: efectos beneficiosos para los cultivos. *Revista Iberoamericana de Polímeros*, 20(3), 118-136.
- Xing Ke, Xiao Zhu, Xue Peng, Sheng Qin.(2015) Chitosan antimicrobial and eliciting properties for pest control in agriculture: journal. *Agronomy for Sustainable Development*, 35 (2), pp.569-588. 10.1007/s13593-014-0252-3. hal-01284280
- Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, 13(3), 1133-1174.
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* – Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2), 74-90. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.05.001>
- Zin, N. A., & Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. For agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 168-178. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.09.003>

CAPITULO II

RESUMEN

EVALUACIÓN DE SUSTRATOS PARA LA REPRODUCCIÓN DE CONIDIOS DE *TRICHODERMA LONGIBRACHATUM*

El cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) es de importancia económica en México, es una planta anual, cultivada por el uso de su cáliz para preparar bebidas refrescantes. *Trichoderma* spp, es un hongo aerobio de gran importancia el cual es apto para degradar sustratos muy complejos como almidón, pectina y celulosa. El presente estudio tuvo como objetivo comparar 4 sustratos orgánicos para la reproducción masiva de *T. longibrachiatum* y seleccionar aquel en el que se obtenga la mayor cantidad de esporas. La activación de la cepa de *T. longibrachiatum* se realizó en un medio de cultivo (Papa Dextrosa Agar). Se evaluaron 4 sustratos: grano de arroz, olote, maíz molido y grano de maíz. Los sustratos se prepararon agregándoles una solución enriquecedora, en un matraz se añadió 1 litro de agua destilada, se mezcló 18 gr de azúcar, 1.5 g de una fuente de proteína (soya) y se le fue agregando 80 ml de la solución preparada a cada bolsa. Para realizar la inoculación en condiciones asépticas, se utilizaron 4 cajas Petri, las cuales fueron previamente inoculadas con 8 días de crecimiento de *T. longibrachiatum*, se realizó un raspado sobre el crecimiento de *Trichoderma*. Posterior a realizar la inoculación, las bolsas fueron acondicionadas en la incubadora, a una temperatura de 30 ° C, se mantuvieron por 3 semanas con el propósito de promover el desarrollo del micelio. Se obtuvieron los mejores resultados en el grano de maíz, que satisface con las necesidades de nutrientes para propagar al hongo antagonista *T. longibrachiatum*, se observó un mejor crecimiento a los 4 días y a las 3 semanas los granos estaban completamente cubiertos de micelio del antagonista.

Palabras clave: *Trichoderma longibrachiatum*, sustratos, *Hibiscus sabdariffa*

ABSTRACT

EVALUATION OF SUBSTRATES FOR THE REPRODUCTION OF CONIDIA OF *TRICHODERMA LONGIBRACHATUM*

The crop of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) is of economic importance in Mexico. It is an annual plant, cultivated for the use of its calyxes to prepare refreshing drinks. *Trichoderma* spp, is a very important aerobic fungus capable of degrading complex substrates such as starch, pectin and cellulose. Therefore, the objective of present study was to compare four organic substrates for mass reproduction of *T. longibrachiatum* and to select the one in which was obtained the largest number of spores. The Activation of the *T. longibrachiatum* was performed in a PDA (Potato Dextrose Agar) culture medium. Four substrates were evaluated: rice grain, corn cobs, ground corn and corn grain. Substrates were prepared by adding 1 liter solution of distilled water, 18 gr of sugar was mixed, 1.5 g of a protein source (soy) and 80 ml of solution was added in each bag prepared. To carry out the inoculation under aseptic conditions, 4 Petri dishes were used, which were previously inoculated with 8 days of growth of *T. longibrachiatum*, a scraping was made on the growth of Trichoderma. Later to perform the inoculation, the bags were conditioned in the incubator, at a temperature of 30 °C, they were kept for 3 weeks with the purpose of promote the development of the mycelium. The best results were obtained in corn grain, which satisfies the necessities of nutrients to propagate the antagonist fungus *T. longibrachiatum*, better growth was observed at 4 days, and at 3 weeks the grains were completely covered of mycelium from antagonist.

key words: *Trichoderma longibrachiatum*, sustratos, *Hibiscus sabdariffa*

1. INTRODUCCIÓN

La jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.), es cultivada en regiones tropicales y subtropicales, se considera sensible al fotoperiodo, requiere de días largos para su crecimiento y desarrollo vegetativo de días cortos para la iniciación floral (Ariza & Gálvez, 2020), las características que demanda el mercado de los calices es la pureza física, inocuidad y su coloración rojo oscuro (Ramírez-Cortés *et al.*, 2011). Es utilizada en el área medicinal, en la fuente cosmética, los calices frescos y secos se utilizan para la preparación de bebidas, Te, vinos, mermeladas, jaleas, licor, y aromatizantes (Izquierdo-Vega *et al.*, 2020).

En años recientes, la enfermedad conocida como manchado de hojas y calices de la jamaica ocasionada *Corynespora cassicola*, ha tomado importancia en el estado de Guerrero, especialmente en los municipios de Tecoaapa y Ayutla de los libres, los cuales se caracterizan por ser líderes en la producción de dicho cultivo. Esta enfermedad puede alcanzar niveles de incidencia del 100 % y pérdidas totales en el cultivo de jamaica (Ortega-Acosta *et al.*, 2015; Ortega-Acosta *et al.*, 2019).

En la actualidad el manejo del manchado de hojas y cálices de la jamaica, ha sido por medio de productos químicos. Cabe mencionar que a pesar de su eficacia, el uso de estas sustancias puede ocasionar daños en el ambiente, así como también para la salud humana. Una solución para mitigar de manera sustentable las enfermedades en las plantas es el uso del control biológico por medio de microorganismos antagónicos como *Trichoderma* (Patricio- Hernández *et al.*, 2020).

Respecto a las necesidades nutricionales de *Trichoderma* spp, se trata de microorganismos aerobios capaces de degradar sustratos complejos como almidón, pectina y celulosa, emplearlos para su crecimiento, esto gracias al complejo enzimático que posee (enzimas hidrolíticas como amilasas, pectinasas, celulasas y quitinasas), (Sangle,2014). La finalidad de dicha investigación fue

hallar un sustrato económico y de fácil adquisición, donde *Trichoderma* tuviera un buen desarrollo y gran reproducción de esporas. El presente estudio tuvo como objetivo comparar 4 sustratos orgánicos para la reproducción masiva de *T. longibrachiatum* y seleccionar el sustrato en el que se obtuviera la mayor cantidad de esporas.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La parte de la evaluación de los sustratos orgánicos para la reproducción del *Trichoderma longibrachatum*, se realizó en la Universidad Autónoma Chapingo, en el departamento de Parasitología Agrícola, en el laboratorio de micología agrícola.

2.1 Material biológico

Se utilizó una cepa de *Trichoderma longibrachatum*, perteneciente al cepario del laboratorio de control biológico de la Facultad de Ciencias Agropecuarias y Ambientales de la Universidad Autónoma de Guerrero. La activación de la cepa se realizó en un medio de cultivo PDA (Papa Dextrosa Agar).

2.2 Preparación de los sustratos

Se evaluaron 4 sustratos (Cuadro 1), se utilizaron bolsas de polietileno de 25 cm de ancho por 34 cm de largo. Los sustratos se lavaron con agua de la llave con la finalidad de retirarles el polvo, se retiró el exceso de agua, se agregó agua destilada y antibiótico cloranfenicol 500 ppm, se verificó que los sustratos quedaran inmerso en su totalidad, y se dejó reposar por de 45 min. Seguidamente se filtro para eliminar el antibiotico, posteriormente los sustratos fueron pesados en distintas bolsas agregándole una solución enriquecedora, en un matraz se

agregó 1 litro de agua destilada, se mezcló 18 gr de azúcar, posteriormente se agregó una fuente de proteína (soya), 1.5 gr y se le fue agregando 80 ml de la solución preparada a cada bolsa, se llevo a cabo la mezcla hasta que todo el sustrato quedó húmedo, las bolsas se amarraron en la parte superior con una liga, para su posterior esterilización en la autoclave durante 45 min a 15 libras de presión (Michel-Aceves *et al.*, 2008, Arévalo *et al.*, 2017).

Cuadro 2. Descripción de sustratos organicos y cantidades utilizadas.

Numero	sustrato	Descripción botánica	Cantidad (g)
1	Grano de maíz*	Fruto de maíz	300
2	Maíz molido	Fruto de maíz	300
3	Olote de maíz picado	Raquis de la inflorescencia femenina de <i>zea mays</i> L	300
4	Grano de arroz	Fruto de <i>Oryza sativa</i> L	300

*:Se prepararon 300 gramos de sustrato donde se adicionaron 18/1.5 (azucar/soya) en gramos

2.3 Inoculación de sustrato de *Trichoderma longibrachiatum*

Se inocularon 4 cajas Petri con *T. longibrachiatum*, después de 8 días, se realizó un raspado sobre el crecimiento del hongo, con la ayuda de un portaobjeto, se adicionaron 5 ml de agua destilada estéril, el sobrenadante se recuperó y se colocó en un matraz, se aforó con agua destilada estéril a 20 ml, se le adicionó 3 gotas de *tween* (20 %) a la suspensión, con el objeto de romper la tensión superficial y lograr que las esporas se distribuyeran homogéneamente, para la inoculación en los sustratos se agregó 5 ml de la suspensión de esporas del antagonista, por último se agregaron 5 gotas de agrimex para evitar crecimiento de ácaros y 5 gotas de ácido láctico para ajuste de pH.

2.4 Proceso de incubación del hongo

Para realizar la inoculación, las bolsas de polietileno fueron acondicionadas en una incubadora marca Lab- line, a una temperatura de 30 ° C, se mantuvieron por 3 semanas, con la finalidad de propiciar el desarrollo del micelio de *T. longibrachiatum*.

2.5 Esporulación y secado

A los 4 días se verificó el crecimiento de *Trichoderma l*, se movieron las bolsas inoculadas con la finalidad de proporcionarles aireación y humedecer un poco los sustratos, y así poder generar una mayor esporulación a los 24 días. Al final, los últimos 4 días del proceso de esporulación de los sustratos con el antagonista, se bajó la temperatura a 15 ° C, con la finalidad de facilitar la desecación del sustrato, finalmente la cosecha de los conidios de *Trichoderma*, se realizó de manera directa colocando en viales de conservación y sellando el producto muy bien.

2.6 Conteo de conidios en la cámara Neubauer

Para realizar el conteo de conidios, se utilizaron 2 mg del hongo colonizado (*Trichoderma*) y se diluyó en 1 ml de agua estéril, posteriormente se le agregó una gota de *tween* (20 %), y con la ayuda de una cámara hematimétrica de Neubauer se realizó el conteo.

2.7 Prueba de viabilidad

Esta prueba de germinación conidial permitió evaluar si los conidios estaban vivos, se realizó mediante la observación de germinación de conidios a través del

microscopio. Para afirmar que un biofungicida tiene una buena viabilidad de conidios, deben obtenerse valores entre el 85% y 100% de viabilidad. La viabilidad de los conidios se determinó a partir de 1 gr de conidios de *Trichoderma*, se pesó en la balanza analítica y posteriormente se diluyó en 10 ml de agua estéril, se colocó 1 gota de la solución de *Trichoderma* en placas de PDA de 1 cm (Figura 2), luego las placas fueron incubadas a 30 ° C, en oscuridad, se detuvo el crecimiento en 24, 48, 72 y 96 horas, se realizaron preparaciones permanentes y a través del microscopio se verificó en qué tiempo el antagonista desarrolló sus estructuras.



Figura 2. a) Placa de agar con 1 gota de *Trichoderma I*; b) Incubación de las placas.

2.8 Prueba de pureza

Para realizar la prueba de pureza se realizó una dilución en serie con 1 gramo del sustrato de maíz, (1×10^0 , 1×10^{-1} , 1×10^{-2} , 1×10^{-3} , 1×10^{-4} , 1×10^{-5}) y se inoculó aplicando 1 ml de cada solución en cajas de Petri con medio PDA, se incubó por 5 días, se verificó cada 24 horas el crecimiento de las diluciones en serie para comprobar que no hubiera crecimiento de algún otro hongo distinto a *Trichoderma*.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Evaluación de sustratos para la reproducción de conidios de *Trichoderma longibrachatum*

Se realizó la activación de la cepa de *Trichoderma longibrachiatum*, la cual presenta las características mostradas en la siguiente imagen (Figura 3).

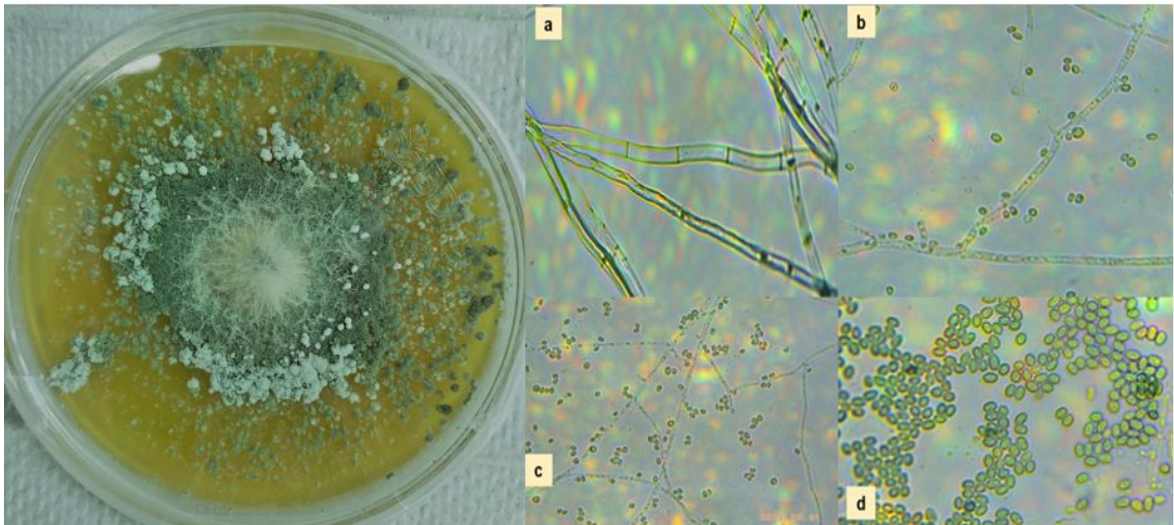


Figura 3. Izquierda *Trichoderma l* en medio de cultivo PDA; Derecha *T. longibrachiatum* se caracteriza por formar a) micelio septado, b) conidioforo 40 x, 48 hrs, c) monofialide, d) conidios color verde muy fuerte (Barnett *et al.*, 1995).

De los cuatro sustratos orgánicos, se obtuvieron los mejores resultados en el grano de maíz, el cual cumple con las necesidades nutricionales para propagar al hongo antagonista *T. longibrachiatum*, se observó mejor crecimiento a los 4 días, y a las 3 semanas ya los granos estaban completamente cubiertos de micelio del antagonista (Figura 4). El grano de maíz olotillo fue obtenido de la localidad de Villa Hermosa, es cultivado en regiones costeras del estado de Guerrero, intercalado con el cultivo de jamaica y se encuentra adaptado las condiciones climáticas de dicha región. Es una raza nativa de la costa chica, contiene un almidón ligero y harinoso para una tortilla de mesa. Es importante mencionar que *Trichoderma l*, degrada sustratos muy complejos tales como almidon, pectina y celulosa y emplearlos para su desarrollo gracias al gran

complejo enzimático que posee, tales como enzimas hidrolíticas (amilasas, pectinasas, celulasas y quitinasas, entre otras), (Sangle, 2014).



Figura 4. a) crecimiento de *T. longibrachiatum*, en los 4 sustratos, a las 3 semanas; b) *Trichoderma* en granos de maíz Olotillo.

3.2 Prueba de viabilidad

Al llevar a cabo la prueba de viabilidad, se realizó el conteo de esporas con un total de 98 esporas germinadas por cada cien, es decir el 98 % de viabilidad (Figura 5).

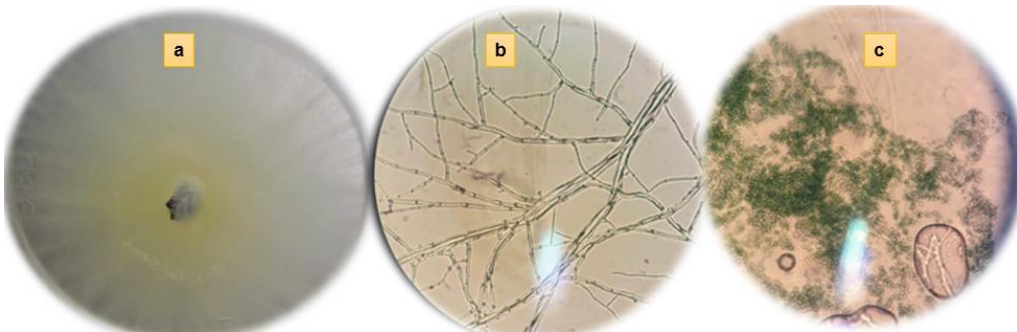


Figura 5. a) observación de *Trichoderma l.* en medio de cultivo PDA; b) crecimiento de micelio; c) formación de conidios a las 24 hrs.

3.4 Prueba de pureza

En esta prueba se verificó que el inoculo tiene 100 % de pureza, pues en las diluciones realizadas, no presentaron ningún otro crecimiento de algún hongo o bacteria sobre el medio (Figura 6).

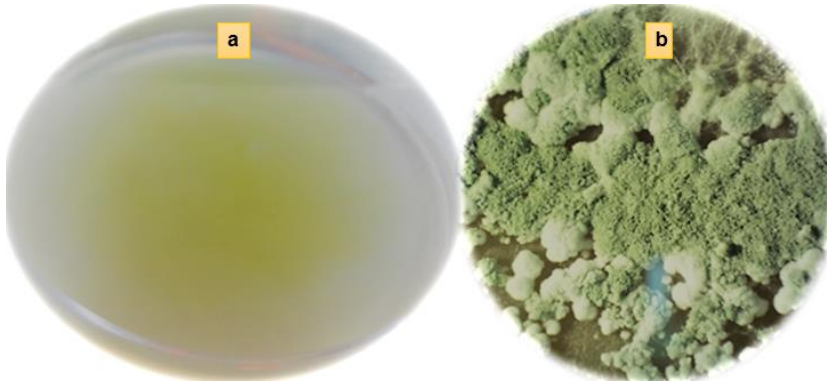


Figura 6. a) Crecimiento de *Trichoderma I.* en medio PDA; se observó sin crecimiento de ningún otro hongo; b). Observación en el estereoscopio.

Michel-Aceves *et al.* (2008), evaluaron 15 sustratos orgánicos para determinar su efectividad, obteniendo una buena reproducción en los sustratos orgánicos como olote picado con 4.43 % de número y viabilidad de 99 % de esporas, y grano de arroz con 3.13 % y 97 %, respectivamente.

En comparación con datos obtenidos en la investigación realizada el sustrato que mejor se adaptó a las condiciones y para su reproducción de *Trichoderma I* fue el sustrato de maíz en grano, esto se debe a que el grano de maíz olotillo se encuentra adaptado a las mismas condiciones del hongo antagonista, además de su contenido de almidón del maíz.

Bellino & Marroquín, (2013), evaluaron 5 sustratos para el desarrollo de *Trichoderma harzianum*, el que mayor destaque fue el sustrato de sorgo, el cual presentó los mejores resultados en cuanto a la producción de esporas de *T. harzianum*; con una concentración de 8.3×10^8 esporas/ gramo, porcentaje de viabilidad de 96%, mientras que el sustrato con menor porcentaje de viabilidad fue el olote con 93%.

Hernández *et al.* (2016), los mejores resultados lo obtuvieron en la cepa de *Trichoderma harzianum* A-53 con mayor calidad a diferencia de la cepa *T.*

harzianum A34 y *T. viride* C66, por fermentación en estado sólido usando arroz entero, lo cual se reflejó en un alto nivel de pureza, mayor concentración de conidios del bio preparado, lo anterior se obtuvo en la combinación de 100 g arroz y 35 % de humedad.

4. CONCLUSIÓN

La producción de conidios de *Trichoderma longibrachiatum* fue superior a 1×10^3 conidios en 300 g de los sustratos en cuatro tratamientos, se agregó 5 ml de la suspensión de esporas donde se obtuvieron resultados favorables.

De los cuatro tratamientos evaluados, el sustrato de maíz con granos enteros enriquecido con azúcar y soya presentó valores de germinación mayor o igual al 90 % y viabilidad de crecimiento a los cuatro días, y a las 3 semanas los granos estaban completamente cubiertos de micelio del antagonista. Por lo tanto, el sustrato presentó 100 % de pureza, lo cual indica que es aceptado por las normas de calidad y representa una opción para dicha reproducción.

Los resultados de esta investigación constituyen un aporte para la implementación de sustratos locales para su reproducción a gran escala en biopreparados de cepas nativas de *Trichoderma longibrachiatum*, además se encuentra adaptada a las condiciones de clima del municipio de Tecoaapa, Gro.

BIBLIOGRAFÍA

- Ariza Flores, Rafael & Gálvez Marroquín, Luis Antonio. (2020). Quinba R-TC: Nueva variedad de jamaica tipo criolla de alto rendimiento, *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*. 11 núm. 5 (2020). <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i5.1044>.
- Arévalo, E., Cayotopa, J., Olivera, D., Gárate, M., Trigos, E., Costa, do B., & Leon, B. (2017). Optimización de sustratos para la producción de conidias de *Trichoderma harzianum*. Por fermentación sólida en la región de San Martín. Perú. *Revista de Investigaciones Altoandinas*, 19(2), 135-144. <https://doi.org/10.18271/ria.2017.272>
- Barrón-Coronado, A. K., Ayala-Escobar, V., Leyva-Mir, S. G., Nava-Díaz, C., Aranda-Ocampo, S., & Hernández-Morales, J. (2019). First Report of *Coniella javanica* Causing Blight on Roselle Leaves and Calyx in Guerrero, Mexico. *Plant Disease*, 103(5), 1030. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1609-PDN>
- Begum, Most. F., Rahman, M. A., & Alam, M. F. (2010). Biological Control of Alternaria Fruit Rot of Chili by *Trichoderma* Species under Field Conditions. *Mycobiology*, 38(2), 113-117. <https://doi.org/10.4489/MYCO.2010.38.2.113>
- Bellino, C. M. B., & Marroquín, L. C. (2013). Producción de *Trichoderma Harzianum* en diferentes sustratos orgánicos. *Portal de la Ciencia*, 68-74. <https://doi.org/10.5377/pc.v4i0.1864>
- Contreras-Cornejo, H. A., Macías-Rodríguez, L., Vergara, A. G., & López-Bucio, J. (2015). Trichoderma Modulates Stomatal Aperture and Leaf Transpiration Through an Abscisic Acid-Dependent Mechanism in Arabidopsis. *Journal of Plant Growth Regulation*, 34(2), 425-432. <https://doi.org/10.1007/s00344-014-9471-8>
- Hernández, M. I., Hernández, A. R., & González, L. C. (2016). Niveles de

- humedad, cepa y cantidad de sustrato arroz entero para la reproducción de *Trichoderma* spp. *Revista Científica Agroecosistemas*, 4(1), 38-45.
- Hernández-Morales, J., Ochoa-Martínez, D. L., Ortega-Acosta, S. Á., & Vega-Muñoz, R. (2018). Survey on alternative hosts of *Corynespora cassiicola*, the cause of the leaf and calyx spot, in the surroundings of roselle fields in Mexico. *Tropical Plant Pathology*, 43(3), 263-270. <https://doi.org/10.1007/s40858-017-0206-9>
- Izquierdo-Vega, JA; Arteaga-Badillo, DA; Sánchez-Gutiérrez, M.; Morales-González, JA; Vargas-Mendoza, N.; Gómez-Aldapa, C. A; Castro-Rosas, J.; Delgado-Olivares, L.; Madrigal-Bujaidar, E.; Madrigal-Santillán, E.(2020). Ácidos orgánicos de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.)—Una breve revisión de sus efectos farmacológicos. *Journal of Biomedicinas*, 8 , 100. <https://doi.org/10.3390/biomedicines8050100>
- Kumar, R., Kumari, K., Hembram, K. C., Kandha, L., & Bindhani, B. K. (2019). Expression of an endo α -1, 3-Glucanase gene from *Trichoderma harzianum* in rice induces resistance against sheath blight. *Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology*, 28(1), 84-90. <https://doi.org/10.1007/s13562-018-0465-7>
- Michel-Aceves, A. C., Otero-Sánchez, M. A., Martínez-Rojero, R. D., Rodríguez-Morán, N. L., Ariza-Flores, R., & Barrios-Ayala, A. (2008). Producción masiva de *Trichoderma harzianum* Rifai en diferentes sustratos orgánicos. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 14(2), 185-191.
- Ortega-Acosta, S. Á., Hernández-Morales, J., Sandoval-Islas, J. S., Ayala-Escobar, V., Soto-Rojas, L., Alejo-Jaimes, A., A. (2015). Distribution and Frequency of Organisms Associated to Disease «Black Leg» of Roselle (*Hibiscus sabdariffa* L.) in Guerrero, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 33(2), 173-194.
- Ortega-Acosta SA, Ochoa-Martínez DL, Leyva-Mir SG, Velasco-Cruz C, Mora-Aguilera JA y Hernández-Morales J. (2019). Control químico del manchado de hojas y cálices de jamaica en Guerrero, México. *Revista*

Summa Phytopathologica, 45(1): 38-43. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/182006>

Patricio-Hernández A, Ortega-Acosta S.A, Ramírez-Peralta A, Ayala-Sánchez A, Palemón-Alberto F, Toledo-Hernández E, Romero-Ramírez Y, Toribio-Jiménez (2020). Antagonistic bacteria for biospace control of roselle spot (*Corynespora cassiicola*) of *Hibiscus sabdariffa*, *Revista mexicana de fitopatología*, 38, 450-462.

Ramírez-Cortés B, Caro-Velarde F. J, Valdivia-Reynoso M. G, Ramírez-Lozano M. H, Machuca-Sánchez M. L. (2011) Cambios en tamaño y características químicas de cálices de jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) durante su maduración. *Revista Chapingo. Serie horticultura*, 17, 19-31, DOI 10.18781/r.mex.fit.2006-1

Sandle, T. 2014. *Trichoderma*. p. 644-646. En C.A. Batt y M.-L. Tortorello (eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology*, London, UK.

Zin, N. A., & Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. For agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 168-178. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.09.003>

CAPITULO III

EVALUACIÓN DE *TRICHODERMA LONGIBRACHATUM* EN COMBINACIÓN CON BIOPOLÍMEROS

RESUMEN

Trichoderma spp, ha tomado importancia gracias a sus mecanismos de acción como antibiosis, competencia, micoparasitismo, desactivación de enzimas de los patógenos. Debido a los problemas asociados al uso de productos químicos para el control de enfermedades, el uso de productos de origen animal y vegetal ha tomado importancia en la agricultura, entre los más utilizados se encuentran el alginato y el quitosano. El objetivo de esta investigación fue evaluar en condiciones de campo a *Trichoderma longibrachiatum* en combinación con quitosano y alginato para el manejo del manchado de hojas y cálices en jamaica. El trabajo de campo se desarrolló bajo condiciones de temporal en dos localidades del municipio de Tecoaapa, Guerrero (Villa Hermosa y Huamuchapa). Se utilizó un diseño en bloques completos al azar con 7 tratamientos (T1:QT, Quitosano + *Trichoderma l*, T2:AT, Alginato + *Trichoderma l*. T3:T, *Trichoderma l*, T4:Q, Quitosano, T5:A, Alginato, T6:G, Gribac, T7:Tes, testigo sin inocular), con 3 repeticiones. Los resultados del porcentaje de infección de incidencia promedio en hojas para cada tratamiento, muestran como menos eficientes el tratamiento 7, con 49.17 y 48.94 % de incidencia, en ambas localidades, respectivamente. Mientras los mejores fueron el tratamiento 1 (quitosano + *Trichoderma l*) con 12.47 y 12.74 % y el tratamiento 2 (alginato + *Trichoderma l*) con 14.13 y 12.74 %. Se evaluó la severidad promedio en hojas para cada aplicación, a medida que pasó el tiempo la severidad en hojas aumentó en ambas localidades, como se vio en la última aplicación con mayor severidad, con 33.6 y 24.2 %, en Villa Hermosa y Huamuchapa, respectivamente, mientras que en la primera aplicación se tuvo un porcentaje bajo de severidad con 6.28 y 2.62 %. Al analizar los valores de severidad en cáliz para cada tratamiento, se destaca como menos eficiente el tratamiento 7, con una severidad mayor, con 51.52 y 48.65 %. Mientras que el mejor fue el tratamiento 1 (quitosano + *Trichoderma l*) con 19.68 y 9.26 % de severidad, en Villa Hermosa y Huamuchapa, respectivamente.

palabras claves: *Hibiscus sabdariffa*, biopolímeros, *Trichoderma l*

ABSTRACT

EVALUATION OF *TRICHODERMA LONGIBRACHATUM* IN COMBINATION WITH BIOPOLYMERS

Trichoderma spp, has become important thanks to its mechanisms of action such as antibiosis, competition, mycoparasitism, deactivation of enzymes of pathogens. Due to the problems associated with the use of chemical products for disease control, the use of products of animal and plant origin have become important in agriculture, among the most used are alginate and chitosan. The objective of this research was to evaluate in field conditions to *Trichoderma longibrachiatum* in combination with chitosan and alginate for the management of leaf and calyx spotting in roselle. The field work was developed under non irrigated conditions in two localities of the municipality of Tecoaapa, Guerrero (Villa Hermosa and Huamuchapa). A randomized complete block design with seven treatments (T1:CT, Chitosan + *Trichoderma l*, T2:AT, Alginate + *Trichoderma l*. T3:T, *Trichoderma l*, T4:C, Chitosan, T5:A, Alginate, T6:G, Gribac, T7:Tes, control without inoculating), with three replications. The results of the percentage of infection of average incidence in leaves for each treatment, shown as less efficient the treatment 7, with 49.17 and 48.94 % of incidence, in both locations, respectively. While the best were treatment 1 (chitosan + *Trichoderma l*) with 12.47 and 12.74% and treatment 2 (alginate + *Trichoderma l*) with 14.13 and 12.74%. The average severity in leaves was evaluated for each application, as the time passed the severity in leaves increased in both localities, as seen in the last application with greater severity, with 33.6 and 24.2%, in Villa Hermosa and Huamuchapa, respectively, while in the first application had a low percentage of severity with 6.28 and 2.62%. When analyzing the severity values in calyx for each treatment, stands out treatment 7 as less efficient, with greater severity, with 51.52 and 48.65%. While treatment 1 was the best (chitosan + *Trichoderma l*) with 19.68 and 9.26% severity, in Villa Hermosa and Huamuchapa, respectively.

key words:: *Hibiscus sabdariffa*, biopolymers, *Trichoderma l*

1. INTRODUCCIÓN

Corynespora cassiicolase infecta a más de 530 especies de plantas de 380 géneros en 53 familias y se distribuye en zonas tropicales y sub-tropicales, se considera un hongo fitopatógeno el cual causa manchas foliares en los cultivos de importancia económica tales como calabacita (*Cucurbita pepo*), pepino (*Cucumis sativus*), soya (*Glycine max*), papaya (*Carica papaya*) y tomate (*Solanum lycopersicum*) entre otros, lo cual genera enormes pérdidas económicas en más de 70 países. Además de las hojas, dicho patógeno puede infectar otros órganos en las plantas como tallos, raíces, flores y frutos (Barrón-Coronado *et al.*, 2019; Déon *et al.*, 2014).

En México, el cultivo de jamaica, es de gran importancia económica con una superficie anual cultivada de 18,654.09 ha de las cuales 14,294.66 ha se encuentran localizadas en Guerrero, donde se produce más del 70% de cálices deshidratados (SIAP, 2019). Es importante mencionar que en esta entidad, el manchado de hojas y cálices de la jamaica inducida por *C. cassiicola*, en años recientes se ha convertido en la enfermedad más importante del cultivo (Hernández-Morales *et al.*, 2018; Ortega-Acosta *et al.*, 2015).

El creciente daño ambiental generado principalmente por el uso de sustancias químicas para mitigar las enfermedades en las plantas, ha generado al uso de alternativas biológicas. Muchos productos biorracionales y biofertilizantes ya están disponibles en el mercado, la mayoría se basan en simbiontes beneficiosos del género *Trichoderma*, es un simbiote oportunista de plantas, capaz de producir elicitors los cuales inducen defensas vegetales contra patógenos, con amplio rango de temperatura de (25-30 °C) para su crecimiento (Hernández – Melchor *et al.*, 2019; Sandle, 2014). Poseen alta adaptabilidad a diferentes condiciones ecológicas y pueden crecer de manera saprofítica, así como también interactúan con plantas y animales (Zeilinger *et al.*, 2016). Similarmente, el uso del quitosano en la agricultura ha tomado importancia debido a sus propiedades antimicrobianas (Bautista-Baño *et al.*, 2013). Existen investigaciones en la

agricultura sobre las propiedades del quitosano, tales como sus propiedades antimicrobianas (bactericida, antifúngico, antiviral y antifitoplasma) lo cual hace posible su uso para el manejo de hongos y bacterias, debido a que el quitosano es un biopolímero con una carga positiva la cual interactúa con las cargas negativas de las membranas celulares de los patógenos, así también como inductor de defensa de las plantas, estimulador del crecimiento vegetal. Los efectos que se logran con los extractos de algas (alginato), dichos efectos se logran en concentraciones bajas de los extractos de 1:1000, estos se pueden aplicar de manera directa en el suelo o mediante la aspersión foliar, tratamiento en post- cosecha, la aplicación foliar beneficia el desarrollo vegetativo y reproductivo de las plantas, por lo tanto se traduce en una estimulación del rendimiento y una mejor calidad de la cosecha (López-Padrón *et al.*, 2020). Por lo tanto el objetivo de este trabajo fue evaluar en condiciones de campo a *T. longibrachiatum* en combinación con quitosano y alginato para el manejo del manchado de hojas y cálices en jamaica.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1 Preparación de biopolímeros de quitosano y alginato

Se prepararon 2,500 ml de solución de quitosano al 1% p/v, en ácido acético 2% v/v, los cuales fueron dejados en agitación constante por 24 horas hasta su completa disolución. Para ello se pesaron 25 g de quitosano y se agregaron 2,500 ml de agua destilada, pasada una hora de agitación se agregó 45 ml de ácido acético glacial; el procedimiento para la solución de alginato solo se disolvió en agua.

2.2 Preparación de solución de *Trichoderma* – quitosano

Las soluciones de polímeros preparadas previamente fueron inoculadas con el agente controlador en una relación de 2 mg por ml de solución (agente controlador/solución de biopolímero). Para llevar a cabo este proceso, se pesó 5,000 mg de *Trichoderma*, crecido en granos de maíz, en la balanza analítica, enseguida se midió 2,500 ml de la solución de quitosano y se fue incorporando poco a poco los 5,000 mg de *Trichoderma*. Se realizaron observaciones periódicas para evaluar cualitativamente los cambios de las soluciones. En ambas soluciones se observaron cambios semejantes, al cabo del tiempo se observó un cambio en la coloración, a un color verde intenso, por otro lado, se observó una disminución en la viscosidad de ambas soluciones (Figura 7).

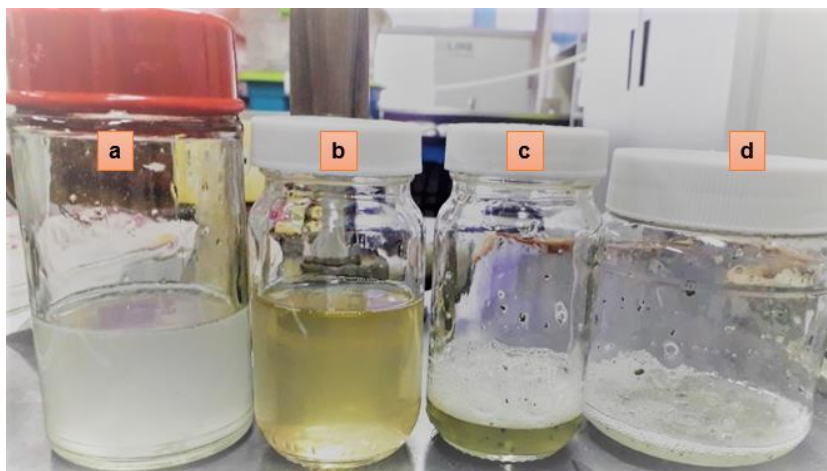


Figura 7. a) Preparación de solución de quitosano solo; b) Alginato solo; c) Solución de quitosano más adición de *Trichoderma* I; d) Solución de alginato más adición de *Trichoderma* I.

2.3 Localización del área de estudio

El trabajo de campo se desarrolló en dos lotes, bajo condiciones de temporal, ubicados en las localidades de Huamuchapa y Villa Hermosa, municipio de Tecoaapa, Guerrero, en este municipio se tiene presencia de la enfermedad. De acuerdo a datos de la estación meteorológica 12,012, la cual está situada a 365

m s. n. m. (metros sobre el nivel del mar), prevalece una temperatura y precipitación promedio anual de 27 °C y 1,519 mm (SMN. y Comisión Nacional del Agua., 2021).

2.4 Establecimiento de parcelas y diseño experimental

En cada localidad se empleó un diseño en bloques completos al azar con 7 tratamientos (T1:QT, Quitosano + *Trichoderma l.*, T2:AT, Alginato + *Trichoderma l.*, T3:T, *Trichoderma l.*, T4:Q, Quitosano, T5:A, Alginato, T6:G, Gribac, T7:Tes, testigo sin inocular), con 3 repeticiones. La unidad experimental consistió en parcelas de 4 surcos (4 m de largo x 1 m de ancho) con seis cepas (tres plantas / cepa) a una distancia de 0.80 m y 2 metros entre cada tratamiento.

2.5 Manejo agronómico

El establecimiento de las parcelas experimentales se realizó el 30 de junio y 01 de julio del 2021. Anteriormente de la siembra se llevaron a cabo labores de deshierbe. Aproximadamente 20 días después de la emergencia se llevó a cabo un aclareo (tres plantas/cepa). Las labores de deshierbe se realizaron en forma manual a intervalos mensuales y los residuos de las arvenses se depositaron entre los surcos (Figura 8).



Figura 8. a) deshierbe a los 20 días; b) aclareo de plantas de jamaica (tres plantas/mata).

2.6 Evaluación en condiciones de campo

Se seleccionó una planta de cada cepa y la cual se dividió en tres estratos altitudinales y en cada uno de ellos se evaluaron tres hojas o cálices, según la etapa fenológica del cultivo. se llevaron a cabo cinco evaluaciones en hojas a intervalos de 14 días después de la primera aplicación del producto en evaluación y tres en cálices a intervalos de siete días (Cuadro 3). Se cosecharon las plantas de la parcela útil /tratamiento y se estimó su peso fresco y seco en gramos.

Cuadro 3. Programa de aplicaciones de productos biológicos para el manejo de hojas y calices de jamaica, Tecoaapa Guerrero, ciclo 2021.

Localidad	Fecha de aplicación	Intervalos (días)	Etapas fenológica
Huamuchapa/Villa Hermosa	11/12 de agosto	14	Desarrollo vegetativo
Huamuchapa/Villa Hermosa	25/26 de agosto	14	Desarrollo vegetativo
Huamuchapa/Villa Hermosa	8/9 de septiembre	14	Desarrollo vegetativo

Huamuchapa/Villa Hermosa	22/23 de septiembre	14	Desarrollo vegetativo
Huamuchapa/Villa Hermosa	6/7 de octubre	14	Desarrollo vegetativo e inicio de Floración
Huamuchapa/Villa Hermosa	14/15 de octubre	7	Floración y desarrollo de cáliz
Huamuchapa/Villa Hermosa	21/22 de octubre	7	Desarrollo de cáliz
Huamuchapa/Villa Hermosa	4/5 de noviembre	7	Desarrollo de cáliz

2.7 Variables evaluadas.

Incidencia: este parámetro se determinó contando el número de plantas con síntomas de la enfermedad (presencia o ausencia de la enfermedad).

Se estimó la incidencia (%) con la siguiente expresión:

$$Incidencia (\%) = \frac{\text{número de hojas o caliz enfermos}}{\text{Total de observados}} \times 100$$

Se evaluó la severidad de calices y hojas de jamaica en condiciones naturales de infección. Se estimó con dos escalas logarítmicas diagramáticas propuestas por Ortega-Acosta *et al.* (2016). (Figura 9). Las escalas en hojas comprenden las siguientes clases: 0=0%, 1= (>0 a 4%), 2= (>4 a 12%), 3= (>12 a 29%), 4= (>29 a 57%) y 5= (>57 a ≤100%); y para cálices: 0=0%, 1= (>0 a 5%), 2= (>5 a 18%), 3= (>18 a 46%), 4= (>46 a 77%) y 5= (>77 a ≤100%). Finalmente, se cosecharon las plantas de cada parcela útil /tratamiento y se evaluó su peso fresco y seco.

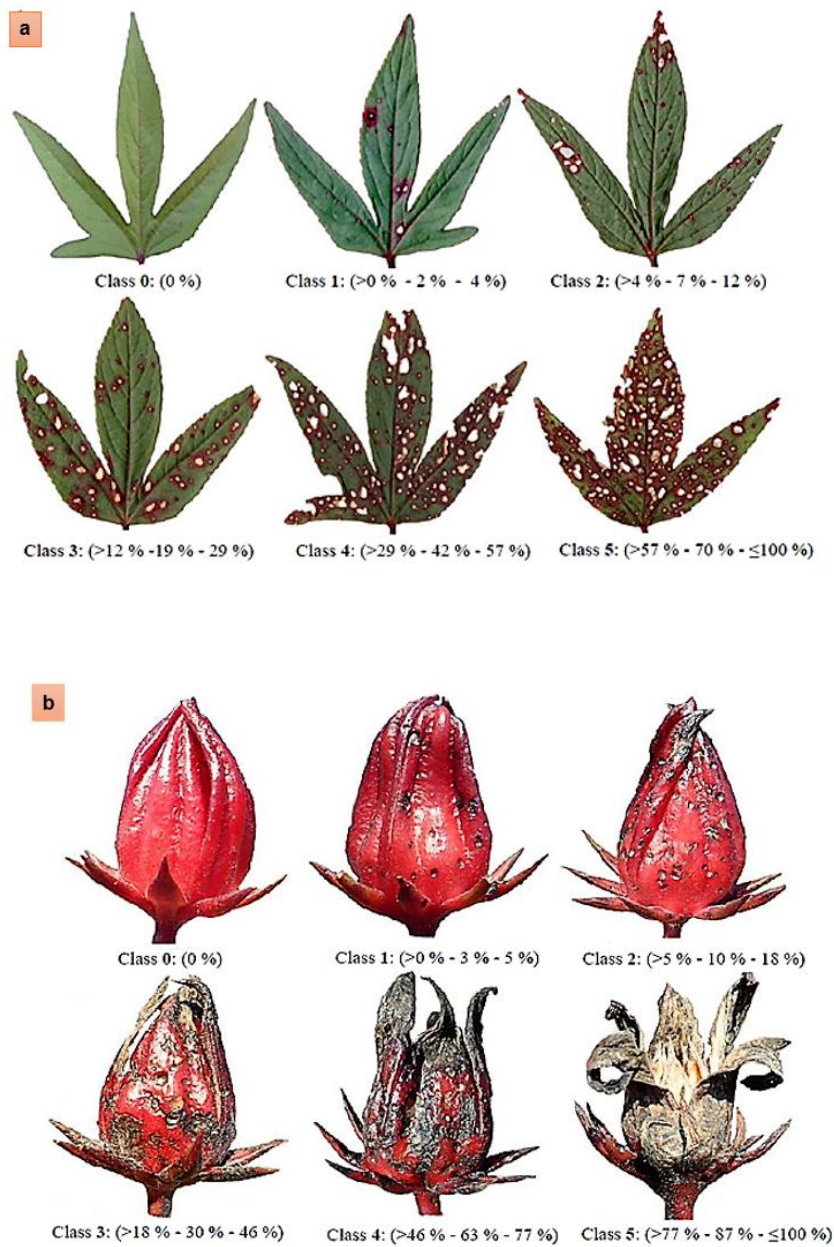


Figura 9. Escalas logarítmicas diagramáticas para evaluar la severidad del manchado en jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) inducida por *Corynespora cassiicola*. a) Escala para evaluar la severidad en hojas. b) Escala para evaluar la severidad en cálices. (Ortega-Acosta *et al.*, 2016).

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1 Evaluación de incidencia de infección en hojas y cáliz, en condiciones de campo en las localidades Huamuchapa y Villa Hermosa.

En este estudio se evaluó la incidencia del manchado de hojas y cáliz, en el cultivo de jamaica en función de los siguientes factores: fechas de aplicación, estratos de evaluación y tratamientos aplicados, en dos localidades. Debido a lo anterior se obtuvo información, para cada nivel de aplicación y estrato: 15 análisis individuales para los tres estratos y las cinco aplicaciones, en el caso de las hojas; además de 9 análisis individuales en el caso del cáliz, para los tres estratos y las tres aplicaciones. Sin embargo, dada la similitud del comportamiento de los tratamientos para los diferentes estratos y aplicaciones, y para no incrementar el tamaño del documento discutiendo todas estas situaciones individuales, se decidió presentar solo los resultados de análisis combinados a través de estratos y tratamientos para el caso de cada aplicación; y combinados a través de las aplicaciones y los estratos, en el caso de la comparación de los efectos de los tratamientos. Los análisis combinados presentan las ventajas adicionales de ser más robustos y potentes debido a que los resultados comparados provienen de mayor cantidad de observaciones.

En el Cuadro 4 se presentan los resultados para el análisis combinado a través de los tres estratos y los siete tratamientos para cada una de las cinco aplicaciones. Se muestra, que a medida que pasó el tiempo, la incidencia aumentó en ambas localidades evaluadas, existió menor incidencia en las hojas con un porcentaje de 1.96 y 4.5 %, en las dos primeras aplicaciones del mes de agosto del 2021, en la localidad Villa hermosa, y 1.37 y 5.11 %, en la localidad Huamuchapa, en hojas, comparadas con la última aplicación con una incidencia de 49.17 y 48.94 % en Villa Hermosa y Huamuchapa, respectivamente.

Similarmente, a medida que pasó el tiempo, la incidencia en cáliz aumentó en ambas localidades evaluadas, existió menor incidencia en las primeras

aplicaciones, con un porcentaje de 5.91 y 18.06 % en aplicaciones del mes de octubre 2021, en la localidad Villa Hermosa, y 3.74 y 19.83 %, en la localidad Huamuchapa, mientras que en la última aplicación se dio una incidencia promedio de 34.62 y 41.64 %, en Villa Hermosa y Huamuchapa, respectivamente.

Cuadro 4. Incidencia promedio (a través de los tres estratos y los siete tratamientos) en hojas y cáliz, para las diferentes aplicaciones, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa.

Aplicaciones	Incidencia en hojas		Incidencia en cáliz	
	Villa Hermosa	Huamuchapa	Villa Hermosa	Huamuchapa
1	1.96 d*	1.37 d	5.91 b	3.74 c
2	4.50 d	5.11 d	18.06 b	19.83 b
3	11.48 c	16.09 c	34.62 a	41.64 a
4	24.99 b	26.36 b		
5	48.94 a	49.17 a		
Prob.**	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
DSH***	6.44	5.49	14.96	6.48

*: Promedios de los tratamientos por columna con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey ($p=5\%$). **: Prob. = Probabilidad obtenida en el Análisis de Varianza. ***: DSH=Diferencia Significativa Honesta de Tukey. Las aplicaciones de incidencia de cáliz, son la 6ta, 7ma y 8va

En el análisis combinado a través de las cinco aplicaciones y los tres estratos (Cuadro 5), se observa que los valores sobre el porcentaje de infección, ocasionado por *Corynespora cassicola* en el cultivo de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*), se destaca como menos eficiente el tratamiento 7 (testigo) en ambas localidades, con 49.17 y 48.94 % de incidencia, mientras que los mejores fueron el tratamiento 1 y 2 donde se utilizó biopolímeros más *Trichoderma l*, tales como (quitosano + *Trichoderma l*) con 12.47 y 12.74 %, y (alginato + *Trichoderma l*) con 14.13 y 12.74 %, en las localidades de Huamuchapa y Villa Hermosa, respectivamente (Cuadro 5). Es importante señalar que en este estudio la enfermedad del manchado de hojas y cáliz se presentó, de manera natural en las parcelas experimentales evaluadas, sin inducción, en ambas localidades, pertenecientes al municipio de Tecoaapa, Guerrero.

En el mismo Cuadro 5, se muestran los valores del porcentaje de infección ocasionado por *Corynespora cassicola* en función de la incidencia en cáliz en el cultivo de jamaica, similarmente al caso de las hojas, se destacan como más eficaces, el tratamiento 1 (Quitosano + *Trichoderma l*) con 14.6 y 14.81 % y el tratamiento 2 (Alginato + *trichoderma l*), con 15.16 y 15.64 % de incidencia en las localidades de Villa Hermosa y Huamuchapa, respectivamente (Cuadro 5). Mientras que el menos eficaz fue el tratamiento 7 (Testigo) con 31 y 34.7 % de incidencia en cáliz. En los tratamientos donde se aplicaron los biopolímeros se obtuvieron resultados favorables con una disminución de incidencia de la enfermedad.

La incidencia del manchado de cáliz, requiere mayor atención en los municipios de Tecoaapa, Ayutla y Acapulco, por un riesgo alto de incidencia (>93 %) del manchado de cáliz (Noriega-Cantú *et al.*, 2021).

El quitosano es un polisacárido natural con un gran potencial de aplicación en la agricultura, como la promoción de crecimiento de las plantas, así como también la obtención de resistencia contra el estrés biótico y abiótico y la activación de señalización simbiótica entre las plantas y los microorganismos benéficos, el quitosano ofrece una alternativa sostenible para la protección de cultivos en un futuro (Li *et al.*, 2020) Entre los efectos de algas y extractos (alginato) se encuentra la estimulación de las semillas, el crecimiento de las plantas y la floración por otra parte estimulan el crecimiento de las raíces, así como también actúan en los procesos que desencadenan los mecanismos de defensa e inmunidad en las plantas e incrementan la resistencia de las enfermedades fúngicas y bacterianas (López-Padrón *et al.*, 2020).

Tal como sucedió en este estudio, el tratamiento 1, obtuvo menor incidencia de la enfermedad en las hojas y en cáliz, esto podría deberse a un efecto de simbiosis entre las plantas con la aplicación de los biopolímeros como quitosano, alginato y el *Trichoderma l*, que también juega un papel importante gracias a sus mecanismos de acción tales como antibiosis, competencia por espacio y

nutrientes, como carbono, nitrato y hierro, y micoparasitismo, desactivación de enzimas de los patógenos entre otros (Martínez *et al.*, 2013).

En su estudio, Mulkay y Vitón (2017), encontraron que la inmersión de frutas de mango en sales de quitosano redujo la incidencia y severidad de antracnosis en comparación con el control, con acetato 20 g L⁻¹ obtuvieron menor incidencia e índice de severidad.

Berumen *et al.* (2015), mostraron que el crecimiento de *Colletotrichum* sp, fue totalmente inhibido en los frutos de mango tratados con quitosano a concentraciones de 1.0% y 1.5% esto se verifico durante un periodo de 3 días de incubación, no existió incidencia ni severidad de la enfermedad de antracnosis.

Cuadro 5. Incidencia promedio (a través de las cinco aplicaciones y los tres estratos) en hojas y cáliz, para cada tratamiento, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa.

Tratamientos	Incidencia en hojas		Incidencia en cáliz	
	Villa Hermosa	Huamuchapa	Villa Hermosa	Huamuchapa
Quitosano + <i>Trichoderma</i> I	12.74 c*	12.47 c	14.6 d	14.81 d
Alginato + <i>Trichoderma</i> I	12.74 c	14.13 c	15.16 d	15.64 cd
<i>Trichoderma</i> I	19.43 b	18.97 b	18.3 bcd	20.61 bc
Quitosano	18.83 b	20.08 b	19.3 bcd	22.47 b
Alginato	17.76 b	19.31 b	18.84 bc	20.53 bc
Gribac	18.27 b	20.75 b	20.53 b	23.4 b
Testigo	28.87 a	31.64 a	31 a	34.7 a
Prob.**	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
DSH***	3.54	3.45	3.92	5.34

*: Promedios de los tratamientos por columna con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con al método de Tukey (p= 5%). **: Prob.= Probabilidad obtenida en el Análisis de Varianza. ***: DSH=Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

En las dos localidades de estudio el daño causado por *Corynespora cassicola* se verificó mediante la presencia de la enfermedad tanto en las hojas como en cálices, con daños sobre las hojas, con manchas circulares, bordes negros y halos purpura, en los calices presentaron manchas negras hundidas en forma circular a irregulares (Ortega-Acosta *et al.* 2015).

En las Figuras 10 y 11 se muestra los perfiles del comportamiento promedio a través de los tres estratos, de los tratamientos para cada aplicación para la incidencia en hojas. Donde se observó que a medida que pasó el tiempo la incidencia incrementó para todos los tratamientos, siendo mayor en el tratamiento 7 (testigo) contrario a los tratamientos 1 (Quitosano + *Trichoderma I.*) y 2 (Alginato + *Trichoderma I.*) en el cual existe menor incidencia de la enfermedad del manchado de cáliz, en el cultivo de jamaica en ambas localidades de estudio.

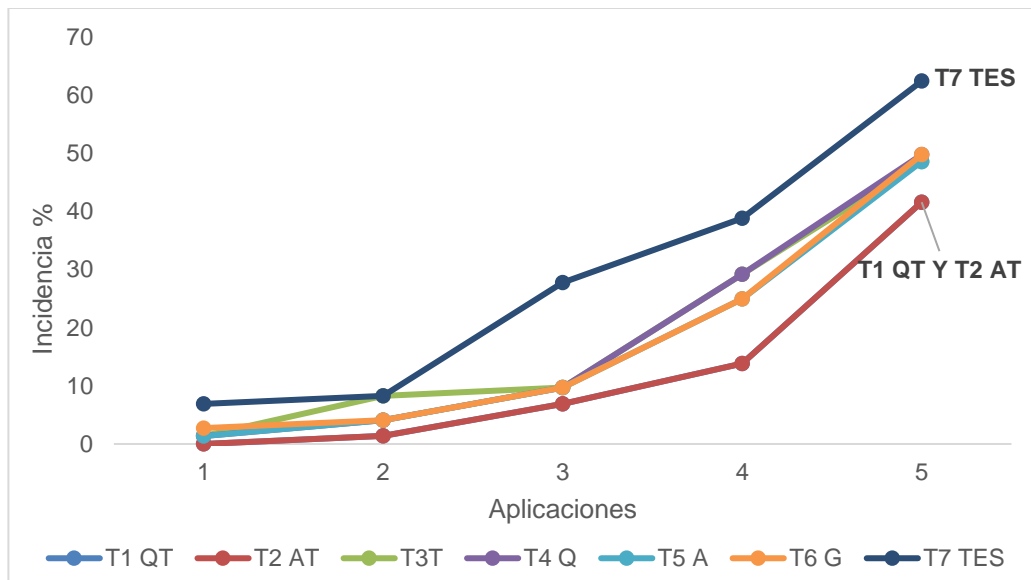


Figura 10. Perfil de Incidencia promedio a través de los tres estratos en hojas en función de las aplicaciones, localidad Villa Hermosa; T1QT: Quitosano + *Trichoderma I.*, T2AT: Alginato + *Trichoderma I.*, T3T: *Trichoderma I.*, T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.

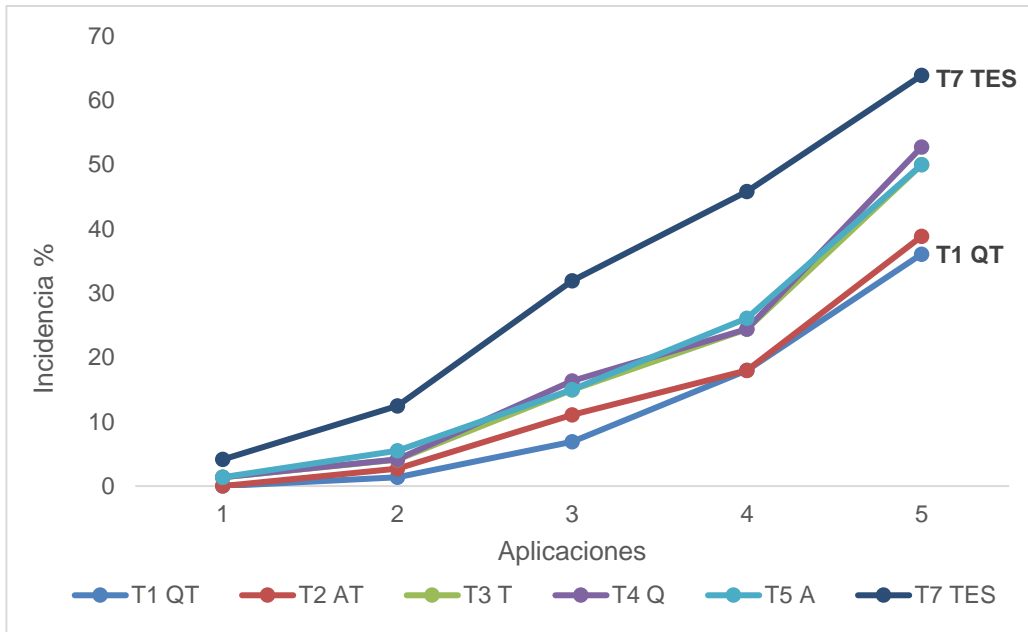


Figura 11. Perfil de Incidencia promedio a través de los tres estratos en hojas en función de las aplicaciones, localidad Huamuchapa; T1QT: Quitosano + *Trichoderma I*, T2AT: Alginato + *Trichoderma I*, T3T: *Trichoderma I*, T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.

Similarmente, en las Figuras 12 y 13, se muestran los perfiles del comportamiento promedio a través de los tres estratos, de los tratamientos para cada aplicación para la incidencia en cáliz. Donde se encontró que a medida que pasa el tiempo, la incidencia avanza en los cáliz para todos los tratamientos, en el tratamiento 7 (testigo) la incidencia fue mayor mientras que en los tratamientos 1 y 2, al aplicar los biopolímeros en combinación con *Trichoderma* la incidencia fue menor, en el cultivo de jamaica en la etapa de desarrollo de cáliz para ambas localidades de estudio.

La incidencia de la enfermedad del manchado de hoja y cáliz en jamaica en el área productora de Guerrero se reporta entre el 46 al 75% (Martínez Sánchez, 2010), valores mayores a los encontrados en esta investigación.

En su estudio, Noriega-Cantú *et al.*, (2021) mostraron que la incidencia del manchado de cáliz (MC) fue entre de 75 y 100% en los Municipios de Ayutla, Tecoaapa y Acapulco, no obstante, municipios aledaños como San Marcos,

Atoyac y Coyuca de Benítez tienen una menor incidencia, lo cual se debe posiblemente a que en estos municipios la jamaica es poco establecida.

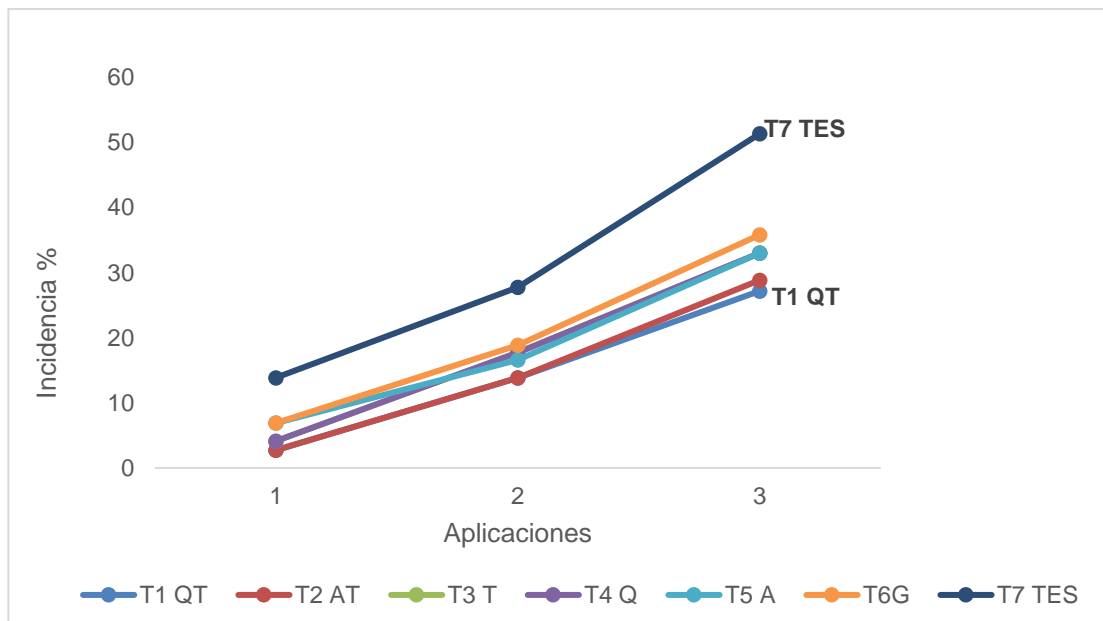


Figura 12. Perfil de Incidencia promedio a través de los tres estratos en cáliz en función de las aplicaciones, localidad Villa Hermosa; T1QT: Quitosano + *Trichoderma I*, T2AT: Alginato + *Trichoderma I*, T3T: *Trichoderma I*, T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.

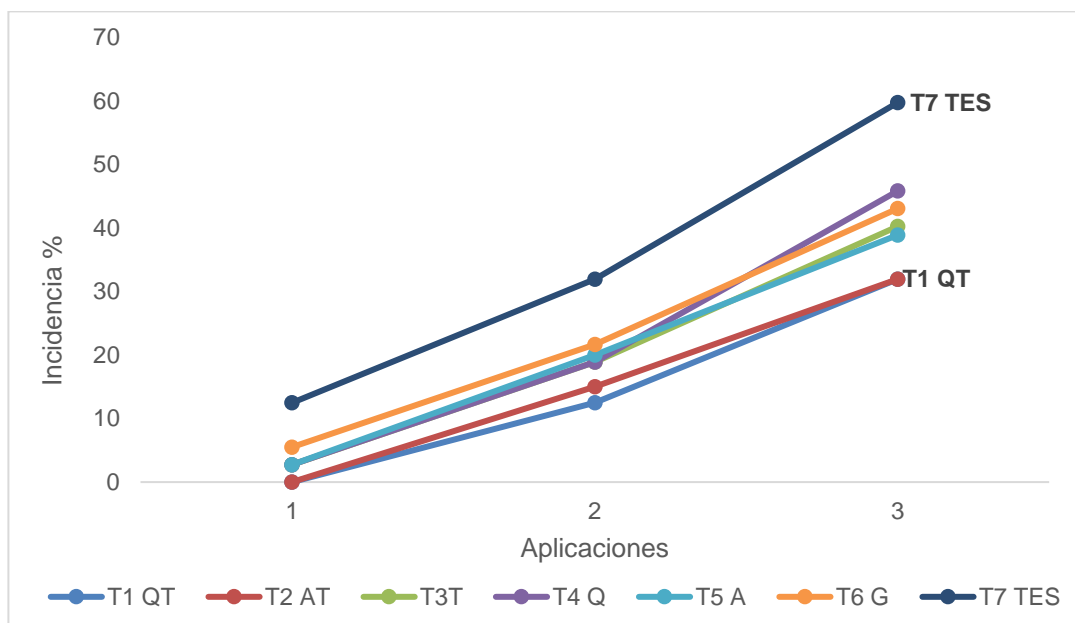


Figura 13. Perfil de Incidencia promedio a través de los tres estratos en cáliz en función de las aplicaciones, localidad Huamuchapa; T1QT: Quitosano + *Trichoderma I*, T2AT: Alginato + *Trichoderma I*, T3TR: *Trichoderma I*, T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6GRI: Gribac, T7TES: Testigo.

3.2 Evaluación de severidad en hojas y cáliz en condiciones de campo, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa

En relación con el grado de severidad en hojas ocasionado por *Corynespora cassicola* en el cultivo de *Hibiscus sabdariffa*, en la Figura 14 se destaca como menos eficiente el tratamiento 7 (testigo) con 46.4 y 41.55 % de severidad, en Villa Hermosa y Huamuchapa, respectivamente; mientras que los mejores fueron los tratamientos uno (quitosano + *Trichoderma l*) con 26.38 y 15.56 % y el número 2 (Alginato + *Trichoderma l*) con 29.26 y 18.19 %. Para información a mayor detalle del comportamiento de cada tratamiento ver Cuadro 9, en apéndices.

El quitosano es capaz de inhibir el crecimiento de un gran número de patógenos y esta inhibición depende de la concentración y del microorganismo (Ramírez-Benítez *et al.*, 2019), tal como sucedió en este caso con la aplicación con quitosano + *Trichoderma l*, donde se observó menor severidad.

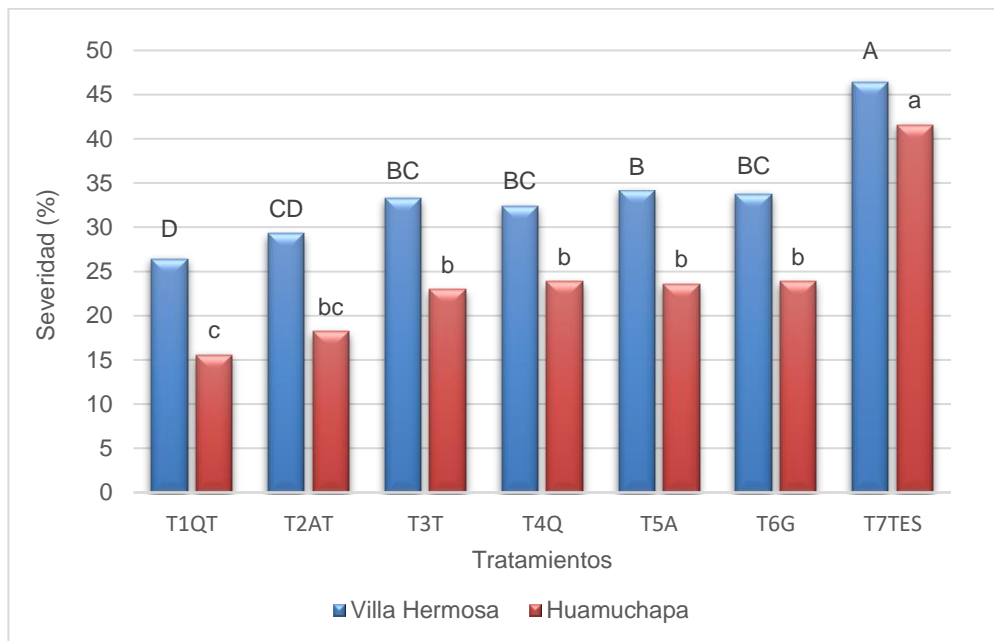


Figura 14. Severidad promedio en hojas, para cada tratamiento, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa. Barras con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey ($p=5\%$). T1QT: Quitosano + *Trichoderma l*, T2AT: Alginato + *Trichoderma l*, T3T: *Trichoderma l*, T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.

Similarmente a los resultados mostrados de severidad en hojas, al analizar los valores de severidad en cáliz, ocasionado por la *Corynespora cassicola* en *Hibiscus sabdariffa* para cada tratamiento (Figura 15, Cuadro 10 Apéndices), se destaca como menos eficiente el tratamiento 7 (testigo) con una severidad mayor, con valores de 51.52 y 48.65 %, en Villa Hermosa y Huamuchapa, respectivamente. Mientras que los mejores fueron los tratamientos 1 y 2 (quitosano + *trichoderma l*) con 19.68 y 9.26 % y (alginato + *trichoderma l*) con 21.03 y 10.63 % de severidad, respectivamente, con el uso de los biopolímeros.

Los polisacáridos de origen animal y vegetal utilizados con frecuencia en la microencapsulación son alginato, goma arábica y quitosano (Lupo Pasin *et al*, 2012).

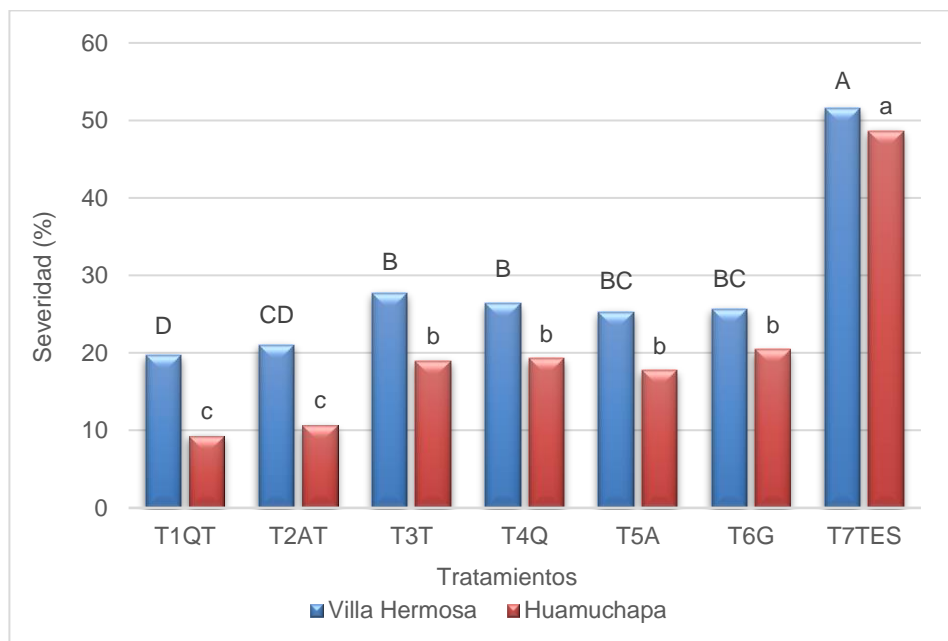


Figura 15. Severidad promedio en cáliz, para cada tratamiento, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa. Barras con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey ($p=5\%$). T1:QT, Quitosano + *Trichoderma l*, T2:AT, Alginato + *Trichoderma l*, T3:TR, *Trichoderma l*, T4:Q, Quitosano, T5:A, Alginato, T6:GRI, Gribac, T7:TES, Testigo.

El quitosano, es obtenido como resultado de la desacetilación de la quitina, se considera como uno de los polímeros naturales más importantes, ha demostrado tener propiedades antivirales, antibacterianas y antifúngicas y se han explorado para muchos usos agrícolas (Riaz Rajoka *et al.*, 2020). Induce respuesta de

defensas al huésped, tanto en monocotiledóneas como en dicotiledóneas. Estas respuestas son lignificación, variaciones de flujo en los iones, acidificación citoplasmática, activación de quitinasa y glucanasa, y biosíntesis de fitoalexinas (El Hadrami *et al.*, 2010). El alginato se encuentra principalmente en las macroalgas, se considera uno de los polisacáridos importantes (Dharani *et al.*, 2020). Debido a su alta seguridad, propiedades físicas y químicas únicas y funciones biológicas, el alginato tiene una amplia gama de aplicaciones en los campos de la alimentación, la agricultura y la medicina (Tang *et al.*, 2022).

Rodríguez Pedroso *et al.* (2015) en su estudio demostraron que el quitosano de bajo peso molecular tiene un mayor efecto sobre el crecimiento radial del hongo *Bipolaris oryzae*, agente causal del manchado del grano de arroz (*Oryza sativa*).

Cabe destacar de forma general que el quitosano, aplicado a una tasa de 1 mg/ml, es apto de reducir el crecimiento *In vitro* de muchos hongos y omycetos, pero no de Zygomycetes, los cuales contienen quitosano en sus componentes en sus paredes celulares. Otra clase de hongos que es resistentes al efecto antifúngico del quitosano son los hongos nemato- entomo- patógenos, los cuales poseen actividad quitosanólítica extracelular (El Hadrami *et al.*, 2010). Para el caso de *Trichoderma* spp, se ubica en la clase *Hyphomycetes*, orden *Moniliales*, familia: *Moniliaceae* (Martínez *et al.*, 2015).

Liu *et al.*, (2007) mostraron los efectos del quitosano sobre el moho gris y el moho azul causados por *Botrytis cinerea* y *Penicillium expansum* en frutos de tomate almacenados a 25 y 2 °C. El quitosano inhibió fuertemente la germinación de esporas, la elongación del tubo germinativo y el crecimiento micelial de *B. cinerea* y *P. expansum in vitro* y dañó las membranas plasmáticas de las esporas de ambos patógenos.

Ramírez-Benítez *et al.* (2019), evaluaron el efecto del quitosano de bajo grado de polimerización (QBP) sobre el crecimiento de *Phytophthora capsici*, las concentraciones bajas de dicho compuesto (0.4 mg/l) provocaron un 88% de

inhibición del crecimiento del oomiceto, dichas concentraciones superiores a 0.8 mg/l inhibieron completamente su crecimiento.

Ortega-Acosta *et al.* (2019) verificaron por dos ciclos agrícolas (2014 y 2015), el manchado de hojas y cáliz de jamaica en Tecoanapa, Guerrero, y durante los dos ciclos se presentó la enfermedad en el cultivo, con el tratamiento mancozeb se obtuvieron valores de 4.73 y 4.71 % de severidad en los dos ciclos, respectivamente; el clorotalonil mostró 4.79 y 4.76 % de severidad; y el benomilo alternado con oxiclورو de cobre presentó 4.82 y 4.80 % de severidad; fueron los que obtuvieron mayor nivel de control con los menores valores de severidad en hojas obtenidos respecto al testigo 5.30 y 5.26 % en el 2014 y 2015.

3.3 Severidad promedio en hojas y cáliz, por aplicaciones.

Similarmente a la evaluación de Incidencia, también se valoró la severidad promedio en hojas y cáliz para cada aplicación, en la Figura 16 se muestra, que a medida que pasa el tiempo la severidad en hojas aumentó en ambas localidades, tal como se apreció mayor severidad en la ultima aplicación, con valores de 33.66 y 24.2 %, en Villa Hermosa y Huamuchapa, debido a que a finales del mes de septiembre, influyeron los cambios ambientales ya que en la zona de estudio las lluvias aumentaron y con ello la mayor propagación del hongo de acuerdo al aumento de humedad, respectivamente; mientras que en la primera aplicación se tuvo un porcentaje menor de severidad con 6.28 y 2.62 %. Las primeras aplicaciones se iniciaron en el mes de agosto del 2021, donde la presencia de la enfermedad manchado de hojas y cáliz en el cultivo de jamaica, no es tan severa y sus primeros síntomas apenas empiezan a manifestarse en las hojas.

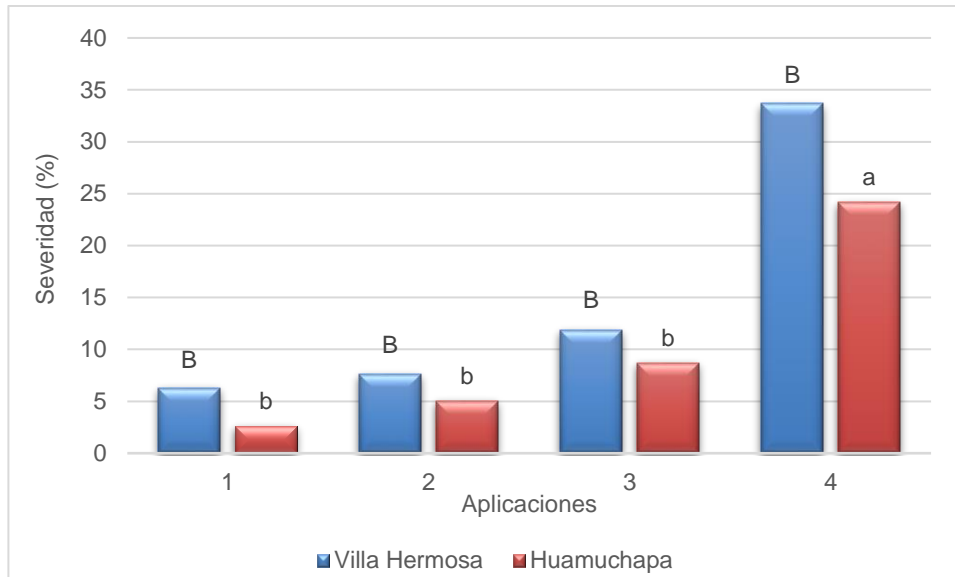


Figura 16. Severidad promedio en hojas, para cada aplicación, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa; Barras con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey ($p= 5\%$).

En la Figura 17, se muestra un comportamiento similar al de la severidad en las hojas, a medida que pasa el tiempo la severidad en los calices aumentó, tal como se observó en la última aplicación con valores de 28.16 y 20.7 %, para Villa Hermosa y Huamuchapa, respectivamente. Mientras que en la primera aplicación se tuvo una menor severidad promedio con valores 7.03 y 8.39 %. Las primeras aplicaciones iniciaron en el mes de octubre del 2021, donde la presencia de la enfermedad manchado de cáliz en el cultivo de jamaica, no fue tan severa y sus primeros síntomas apenas empiezan a manifestarse en los primeros calices emergidos, cuando el cultivo se aproxima a la etapa de madurez de cáliz y se acerca a la cosecha, la enfermedad es más agresiva, debido a que la humedad aumenta y favorece las condiciones para el hongo.

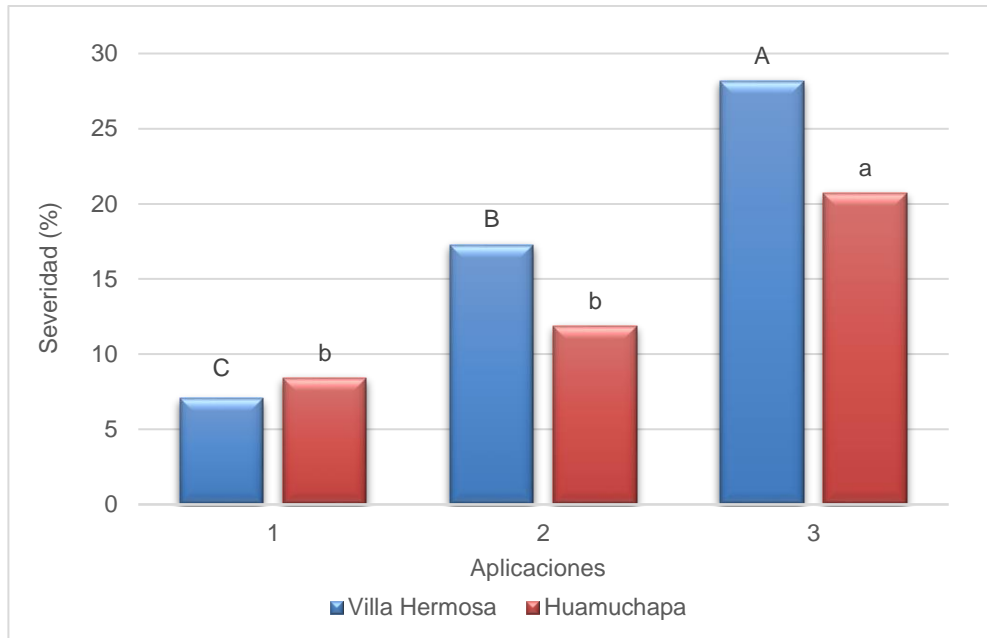


Figura 17. Severidad promedio en cáliz, por aplicación, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa; Barras con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey ($p= 5\%$).

Con respecto al comportamiento de los tratamientos, en las Figuras 18 y 19 se muestran los perfiles promedio a través de los tres estratos. Para ambas localidades se observó que a medida que pasa el tiempo la severidad avanza en las hojas, en el tratamiento 7 (testigo), la severidad fue mayor, mientras que en los tratamientos 1 y 2, la severidad fue menor al aplicar los biopolímeros en combinación con *trichoderma l*.

Teramoto *et al.* (2013), en su estudio verificaron que las temperaturas entre 23.3 a 29.5 °C y alta humedad relativa de (100 %), son favorables para el desarrollo de *Corynespora cassicola*.

Ortega-Acosta *et al.* (2019), reportaron temperaturas de 25.68 - 29.09 °C y con una humedad relativa de 100 %, las cuales son favorables para el crecimiento de *Corynespora cassicola*, durante dos ciclos agrícolas en el cultivo de jamaica, en el municipio de Tecoaapa, Gro.

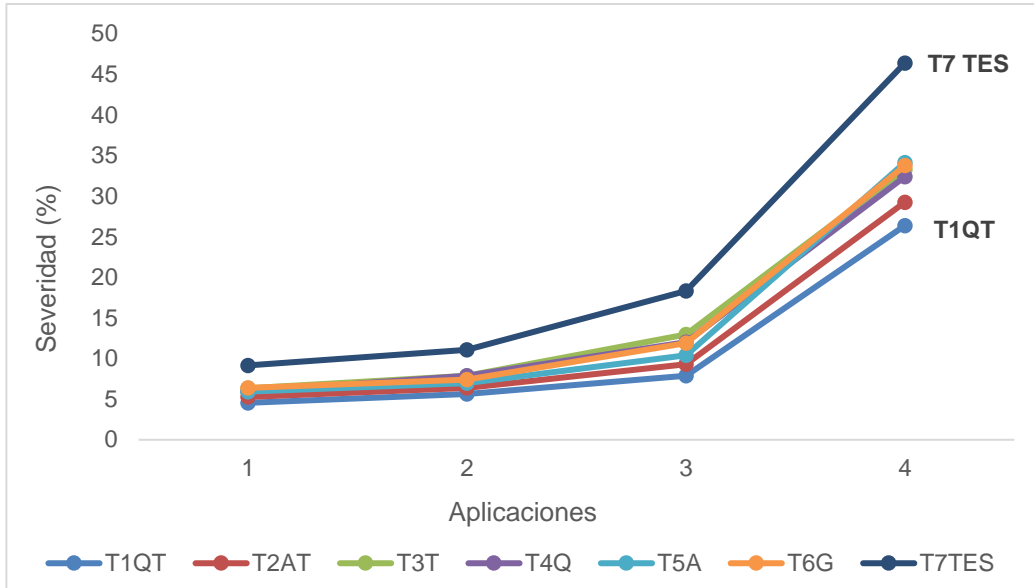


Figura 18. Perfil de Severidad promedio a través de los tres estratos en hojas en función de las aplicaciones, localidad Villa Hermosa; T1QT: Quitosano + *Trichoderma I*, T2AT: Alginato + *Trichoderma I*, T3T: *Trichoderma I*, T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.

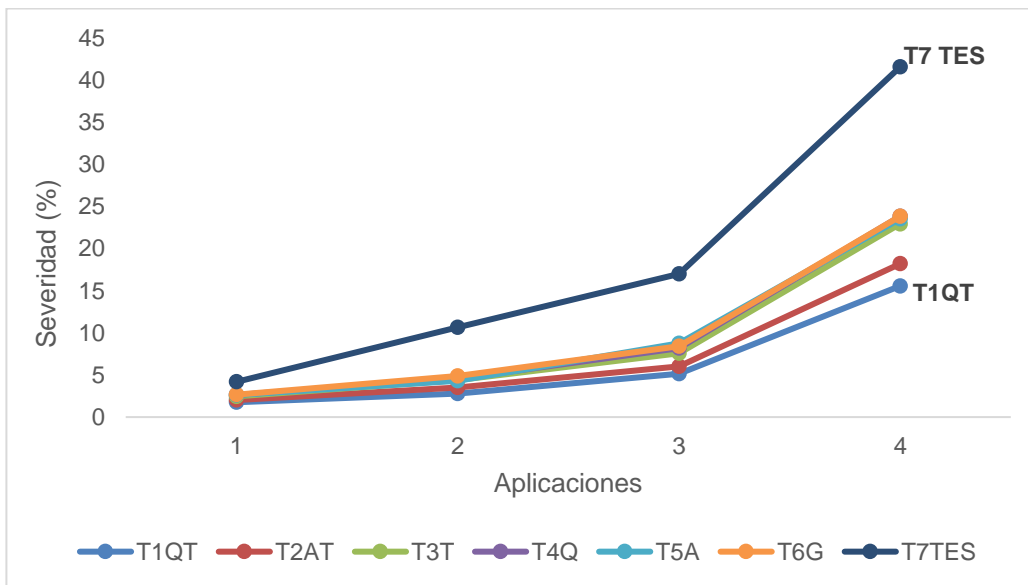


Figura 19. Perfil de Severidad promedio a través de los tres estratos en hojas en función de las aplicaciones, localidad Huamuchapa; T1QT: Quitosano + *Trichoderma I*, T2AT: Alginato + *Trichoderma I*, T3T: *Trichoderma I*, T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.

En las Figuras 20 y 21 se muestran los perfiles promedio a través de los tres estratos, del comportamiento de la severidad en cálices en función del tiempo de la aplicación. Para ambas localidades, se muestra que a medida que paso el tiempo la severidad en los cálices avanzó, en el tratamiento 7 (testigo) se tuvo la mayor severidad, mientras en el tratamiento 1, la severidad fue menor al aplicar los biopolímeros en combinación con *Trichoderma I*, en el cultivo de jamaica en la etapa de desarrollo de cáliz.

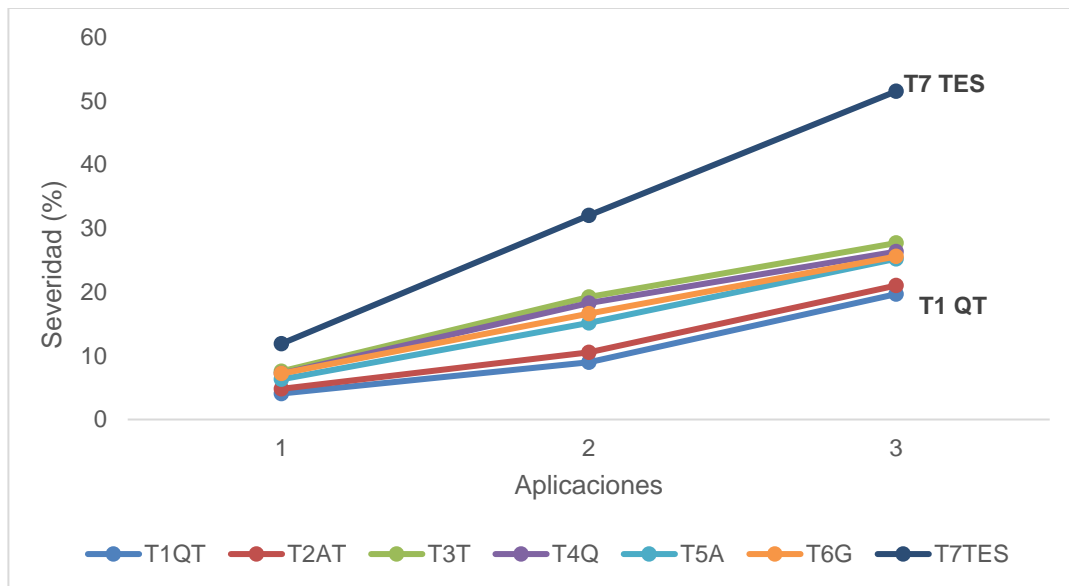


Figura 20. Perfil de Severidad promedio a través de los tres estratos en cáliz en función de las aplicaciones, localidad Villa Hermosa; T1QT: Quitosano + *Trichoderma I*, T2AT: Alginato + *Trichoderma I*, T3T: *Trichoderma I*, T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.

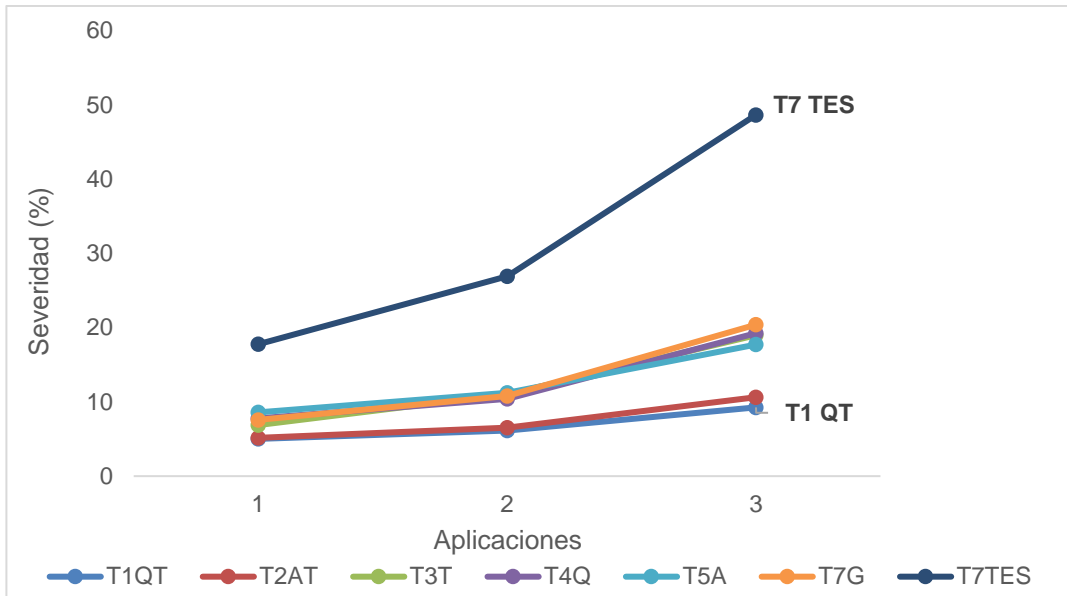


Figura 21. Perfil de Severidad promedio a través de los tres estratos en cáliz en función de las aplicaciones, localidad Huamuchapa; T1QT: Quitosano + *Trichoderma I*, T2AT: Alginato + *Trichoderma I*, T3T: *Trichoderma I*, T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.

3.3 Cosecha y secado del cultivo de jamaica

La cosecha de la jamaica se realizó una vez que el cáliz estaba completamente maduro para su cosecha, a principios del mes de diciembre de 2021. Para su cosecha se utilizan estacas para llevar a cabo el despique, con la finalidad de determinar el rendimiento por cada tratamiento (Figura 22).



Figura 22. a) Corte y b) despique de *Hibiscus sabdariffa*, en ambas localidades.

3.5 Peso seco de cáliz localidad Villa Hermosa y Huamuchapa

Respecto al rendimiento por hectárea de *Hibiscus sabdariffa*, se puede ver en la Figura 23 que los menores rendimientos se obtuvieron en el tratamiento 7 (testigo) con 285.71 y 195.24 kg ha⁻¹, en Villa Hermosa y Huamuchapa, respectivamente; mientras que con el tratamiento 1 (quitosano + *trichoderma*) se obtuvieron los mejores rendimientos, de 523.81 y 451.19 kg ha⁻¹ en Villa Hermosa y Huamuchapa, respectivamente.

Los agricultores de jamaica establecen genotipos criollos los cuales son cosechados en el mes de diciembre, obteniendo rendimientos bajos, los cuales promedian en 250 kg ha⁻¹, en asociación con maíz (Ariza Flores & Gálvez Marroquín, 2020).

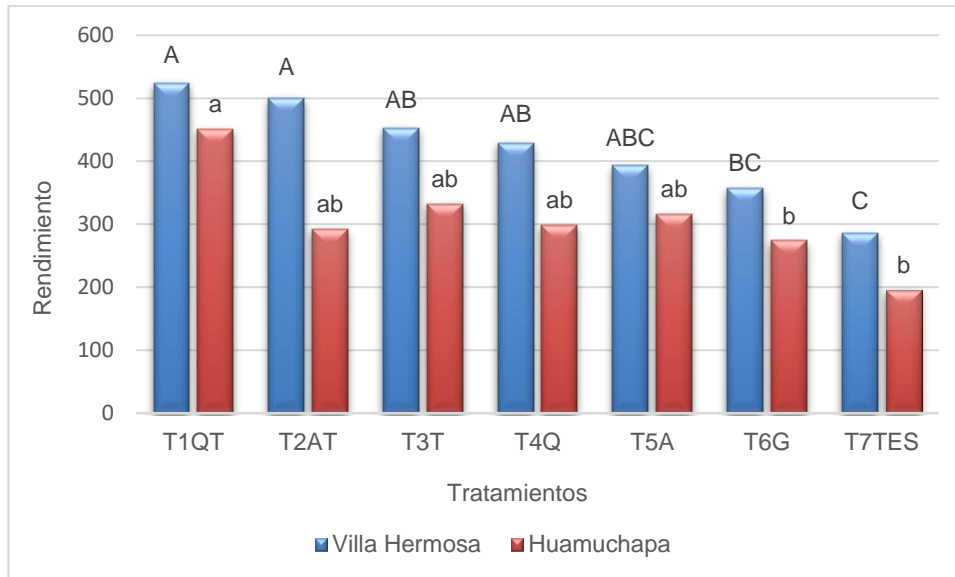


Figura 23. Rendimiento de *Hibiscus sabdariffa* en seco, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa; Barras con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey ($p=5\%$). T1QT: Quitosano + *Trichoderma I*, T2AT: Alginato + *Trichoderma I*, T3T: *Trichoderma I*, T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo.

3.7 Análisis económico de la producción de jamaica (*Hibiscus sabdariffa*)

Ingresos.

Los ingresos se lograron multiplicando los rendimientos que se obtuvieron por hectárea por el precio unitario del producto en el mercado.

$$I = R * Pu$$

Donde: I=Ingreso; R=Rendimiento; Pu=Precio unitario del producto en el mercado.

3.7.1 Costos de producción por hectárea

El costo total fue de \$ 14,060 pesos por hectárea, encontrando que el 22.4 % se debe a los costos fijos, que corresponden a \$ 3,500 pesos y el 77.5 % a los costos

variables con \$ 10,910 (Cuadro 6). En el apéndice se muestra el desglose a mayor detalle de estos costos.

Cuadro 6. Costos fijos y variables de la producción de la jamaica (*Hibiscus sabdariffa*) en Villa Hermosa y Huamuchapa, Gro.

Concepto	Total (pesos/ ha)	%
costos fijos	3,150	22.4
Renta del terreno	1,500	10.6
transporte	1,650	11.7
costos variables	10,910	77.5
limpia del terreno	2,000	14.2
siembra	600	4.2
Control de malezas	1,800	12.8
Control de plagas	1,150	8.2
labores culturales	480	3.4
Cosecha	4,400	31.3
Recolección de semilla	240	1.7
Secado	240	1.7
Costo total (pesos/ha)	14,060	99.8

El rendimiento promedio por hectárea de los calices secos de la jamaica, a nivel municipio es de 250 a 300 kg ha⁻¹, el precio es variable de acuerdo con la variedad de la jamaica, en los dos años anteriores se ha mantenido el precio de la jamaica criolla en \$ 100.00 pesos por kilogramo. Cabe mencionar que la diferencia en el precio radica en la calidad del producto, la flor de jamaica criolla destaca por su acidez en comparación con la tempranilla que tiene más color que acidez.

Cabe mencionar que a pesar que la superficie cosechada y el rendimiento por unidad de superficie se consideran bajos, los campesinos logran conseguir elevados ingresos, esto se debe al buen nivel de comercialización y el incremento en la demanda.

3.7.2 Rentabilidad económica

La relación beneficio-costos (B/C) se considera como un indicador para establecer la rentabilidad económica de una actividad productiva, (Terrones, 2019; Terrones y Sánchez, 2011). Se cuantifica mediante la siguiente expresión:

$$B/C = \frac{\text{Ingresos totales netos}}{\text{Costos totales}}$$

En su estudio Terrones y Sánchez (2011) y Terrones (2019), establecen que, si la relación beneficio-costos (RCB) es igual a la unidad, los ingresos adquiridos se consideran iguales a los gastos generados por lo tanto el campesino recupera lo invertido; si la RCB es menor a la unidad, la actividad se considera no viable económicamente debido a que se generan pérdidas; si la RCB es mayor a la unidad, la actividad presenta rentabilidad económica, es decir, se recupera lo invertido y genera ganancias.

Tomando en consideración los cálices de la jamaica criolla, con un rendimiento de 250 kg ha⁻¹, a un precio de \$ 100 pesos por kg, se tienen los siguientes ingresos por tratamiento, como se ilustra a continuación (Cuadro 7). La ganancia por peso invertido (GPI) se obtiene simplemente dividiendo el ingreso neto entre el costo total.

Cuadro 7. Ingresos Promedios y Ganancia por Peso Invertido (entre paréntesis), por tratamiento, en las localidades de Villa Hermosa y Huamuchapa, Gro. MXN pesos por hectárea.

Tratamientos	Villa Hermosa	Huamuchapa
T1 QT	52,381 (3.73)	45,119 (3.21)
T2 AT	50,000 (3.56)	29,167 (2.07)
T3 T	45,238 (3.22)	33,214 (2.36)
T4 Q	42,857 (3.05)	29,881 (2.13)
T5 A	39,286 (2.79)	31,548 (2.24)
T6 G	35,714 (2.54)	27,381 (1.95)
T7 TES	28,571 (2.03)	19,524 (1.39)

T1QT: Qitosano + *Trichoderma l*, T2AT: Alginato + *Trichoderma l*, T3T: *Trichoderma l*, T4Q: Qitosano, T5A: Alginato, T6G: Gribac, T7TES: Testigo

En este caso inclusive en el testigo se obtiene una ganancia de la inversión y todas las ganancias son superiores a 1, significa que en la producción se

recupera todo lo invertido, es decir aun con las condiciones actuales de producción, en el municipio de Tecoaapa, el cultivo de *Hibiscus sabdariffa* en Guerrero, para los productores representa un ingreso extra, la mayoría siembran el cultivo intercalado con maíz, el cual utilizan para el consumo propio y para alimentar al ganado o venta a intermediarios, y así generan ganancias para el gasto familiar. Es importante también mencionar que la mayoría de los productores desconocen que a la jamaica se le puede dar un valor agregado, ya que desconocen los procesos de industrialización.

8.2. CONCLUSIÓN

La combinación de *Trichoderma I* y quitosano es una alternativa a los daños ocasionados en hojas y cáliz de *Hibiscus sabdariffa*, además las concentraciones encontradas fueron ideales para ser utilizadas en las aplicaciones en campo. Dichas aplicaciones se deben iniciar desde las primeras etapas del cultivo, así como a las semillas antes de la siembra, ya que a medida que pasa el tiempo la incidencia y severidad aumenta en el cultivo.

Se determinó el peso fresco y seco de los 7 tratamientos, T1QT: Quitosano + *Trichoderma I*, T2AT: Alginato + *Trichoderma I*, T3T: *Trichoderma I*, T4Q: Quitosano, T5A: Alginato, T6GRI: Gribac, T7TES: Testigo. Encontrando los mejores resultados en el tratamiento 1, QT: Quitosano + *Trichoderma I*, de peso fresco y seco de calices en kg ha⁻¹.

4. CONCLUSIÓN GENERAL

De los cuatro sustratos evaluados, el de maíz con granos enteros enriquecido con azúcar y soya presentó valores de germinación del 90 % y viabilidad de crecimiento a los cuatro días, y a las 3 semanas los granos estaban completamente cubiertos de micelio del antagonista, Los resultados de dicha investigación constituyen un aporte para la implementación de sustratos locales para su reproducción a gran escala en biopreparados de cepas nativas de *Trichoderma longibrachiatum*, además se encuentra adaptada a las condiciones climáticas del municipio de Tecoaapa, Gro.

Los biopolímeros a base de quitosano y alginato en combinación con *Trichoderma longibrachiatum*, contribuyeron a una menor incidencia y severidad de los daños ocasionados tanto en hojas como en cáliz de *Hibiscus sabdarifa*, siendo el quitosano el de mayor efectividad en el control de la enfermedad con 12.47 y 12.74 % incidencia en hojas y caliz con 14.6 y 14.81 %, en el caso de severidad en hojas (Quitosano + *Trichoderma l*) con 26.38 y 15.56 %, en caliz con 19.68 y 9.26 % con el uso de este biopolímero, en Villa Hermosa y Huamuchapa, Gro.

En el análisis económico destacó el T1QT, Quitosano + *Trichoderma l*, obtuvo los mejores resultados en rendimiento con 523.81 y 451.19 kg ha⁻¹, con un ingreso promedio y ganancia por peso invertido de \$ 52,381 (3.73) y \$ 45,119 (3.21) en ambas localidades de estudio.

5. BIBLIOGRAFÍA

- Ariza Flores, Rafael & Gálvez Marroquín, Luis Antonio. (2020). *Quinba R-TC: Nueva variedad de jamaica tipo criolla de alto rendimiento. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. Vol 11 núm. 5 (2020).* <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i5.1044>.
- Barrón-Coronado, A. K., Ayala-Escobar, V., Leyva-Mir, S. G., Nava-Díaz, C., Aranda-Ocampo, S., & Hernández-Morales, J. (2019). First Report of *Coniella javanica* Causing Blight on Roselle Leaves and Calyx in Guerrero, Mexico. *Plant Disease*, 103(5), 1030. <https://doi.org/10.1094/PDIS-09-18-1609-PDN>
- Bautista-Baño S, Sivakumar D, Bello-Pérez A, Villanueva-Arce R, Hernández-López M. A (2013). review of the management alternatives for controlling fungi on papaya fruit during the postharvest supply chain. *Crop Protection*.49:8-20. doi: 10.1016/j.cropro.2013.02.011.
- Berumen Varela, G., Coronado Partida, L. D., Ochoa Jiménez, V. A., Chacón López, M. A., Gutiérrez Martínez, P (2015). Efecto del quitosano en la inducción de resistencia contra *Colletotrichum* sp. en mango (*Mangifera indica* L.) cv. Tommy Atkins. *Investigación y Ciencia de la Universidad Autónoma de Aguascalientes*. Número 66: 16-21.
- Déon, M., Fumanal, B., Gimenez, S., Bieysse, D., Oliveira, R. R., Shuib, S. S., Breton, F., Elumalai, S., Vida, J. B., Seguin, M., Leroy, T., Roeckel-Drevet, P., & Pujade-Renaud, V. (2014). Diversity of the cassiicolin gene in *Corynespora cassiicola* and relation with the pathogenicity in *Hevea brasiliensis*. *Fungal Biology*, 118(1), 32-47. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.10.011>
- Dharani, S. R., Srinivasan, R., Sarath, R., & Ramya, M. (2020). Recent progress on engineering microbial alginate lyases towards their versatile role in biotechnological applications. *Folia Microbiologica*, 65(6), 937-954. <https://doi.org/10.1007/s12223-020-00802-8>
- El Hadrami, A., Adam, L. R., El Hadrami, I., & Daayf, F. (2010). Chitosan in Plant

- Protection. *Marine Drugs*, 8(4), 968-987.
<https://doi.org/10.3390/md8040968>
- Hernández-Melchor D. J, Ferrera-Cerrato R, Alarcón A. (2019). Trichoderma: Importancia Agrícola, Biotecnológica, y Sistemas de Fermentación para Producir Biomasa y Enzimas de Interés Industrial. *Chilean J. Agric. Anim. Sci., ex Agro-Ciencia*, 35(1): 98-112. DOI.<https://doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>
- Hernández-Morales, J., Ochoa-Martínez, D. L., Ortega-Acosta, S. Á., & Vega-Muñoz, R. (2018). Survey on alternative hosts of *Corynespora cassiicola*, the cause of the leaf and calyx spot, in the surroundings of roselle fields in Mexico. *Tropical Plant Pathology*, 43(3), 263-270.
<https://doi.org/10.1007/s40858-017-0206-9>
- Li, K., Xing, R., Liu, S., & Li, P. (2020). Chitin and Chitosan Fragments Responsible for Plant Elicitor and Growth Stimulator. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 68(44), 12203-12211.
<https://doi.org/10.1021/acs.jafc.0c05316>
- Liu Jia Tiana Shipinga Menga Xianghong Xu Yong. (2007). Effects of chitosan on control of postharvest diseases and physiological responses of tomato fruit. *Postharvest Biology and Technology*, Volume 44, Issue 3, Pages 300-306. <https://doi.org/10.1016/j.postharvbio.2006.12.019>
- López-Díaz S., Sandoval-Flores M. G., Flores-Pantoja L. E., Jiménez-Mejía R., Santoyo G., Loeza-Lara P. D (2021). Quitosanos y compósito quitosano-octanoato de sodio reducen la pudrición de fresa en postcosecha. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas volumen 12 número 6*
- López-Padrón L., Martínez-González L., Pérez-Domínguez G., Reyes-Guerrero Y., Núñez-Vázquez M., Cabrera-Rodríguez (2020). Las algas y sus usos en la agricultura. Una visión actualizada. *Revista Cultivos Tropicales*, 41 (2)
- Lupo Pasin, B., González Azón, C. y Maestro Garriga, A. (2012).

- Microencapsulación en alginato para alimentos. Tecnologías y aplicaciones. *Revista Venezolana de Ciencia y Tecnología de Alimentos*, 3(1), 130-151
- Martínez Sánchez, C. (2010). *Etiología e incidencia de hongos asociados al manchado de cálices de jamaica (Hibiscus sabdariffa L.) en Guerrero, México*. <http://localhost:8080/xmlui/handle/10521/260>
- Martínez, B., Infante, D., & Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1-11.
- Martínez B., Infante D., Peteira B (2015). Taxonomía polifásica y variabilidad en el género *Trichoderma*, *Revista Protección Vegetal*. Vol. 30 11-22, ISSN: 2224-4697.
- Mulkay-Vitón T. (2017). Efecto de Sales de Quitosano en la Calidad Poscosecha del Mango 'Tommy atkins'. *Cultivos Tropicales*, vol. 38, núm. 3, pp. 135-141
- Noriega-Cantú, D. H., Garrido-Ramírez, E. R., Pereyda-Hernández, J., Toledo-Aguilar, R., Vasquez-Ortiz, R., Alejo-Jaimes, A., & González-Mateos, R. (2021). Incidencia y distribución Geografica del Manchado del Cáliz de jamaica en Guerrero, México. 8.
- Ortega-Acosta, S. A., Hernández-Morales, J., Ochoa-Martínez, D. L., & Ayala-Escobar, V. (2015b). First Report of *Corynespora cassiicola* Causing Leaf and Calyx Spot on Roselle in Mexico. *Plant Disease*, 99(7), 1041-1041. <https://doi.org/10.1094/PDIS-04-14-0438-PDN>
- Ortega-Acosta, S. Á., Ochoa-Martínez, D. L., Leyva-Mir, S. G., Velasco-Cruz, C., Mora-Aguilera, J. A., & Hernández-Morales, J. (2019). Control químico del manchado de hojas y cálices de jamaica en Guerrero, México. *Summa Phytopathologica*, 45, 38-43. <https://doi.org/10.1590/0100-5405/182006>
- Ortega-Acosta, S. Á., Velasco-Cruz, C., Hernández-Morales, J., Ochoa-Martínez, D. L., Hernández-Ruiz, J., (2016). Escalas logarítmicas diagramáticas para evaluar la severidad del manchado de hojas y cálices de jamaica.

Revista mexicana de fitopatología, 34(3), 270-285.
<https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.1606-6>

- Ramírez-Benítez, J. E., Arjona Sabido, Raúl. A., Caamal Velázquez, J. H., Rodríguez Ávila, N. L., Solís Pereira, S. E., & Lizama Uc, G. (2019). Inhibición del crecimiento y modificación genética de *Phytophthora capsici* usando quitosano de bajo grado de polimerización. *Revista Argentina de Microbiología*, 51(1), 12-17. <https://doi.org/10.1016/j.ram.2018.03.003>
- Riaz Rajoka, M. S., Mehwish, H. M., Wu, Y., Zhao, L., Arfat, Y., Majeed, K., & Anwaar, S. (2020). Chitin/chitosan derivatives and their interactions with microorganisms: A comprehensive review and future perspectives. *Critical Reviews in Biotechnology*, 40(3), 365-379. <https://doi.org/10.1080/07388551.2020.1713719>
- Rodríguez Pedroso, A. T., Plascencia Jatomea, M., Bautista Baños, S., Cortéz Rocha, M. O., & Ramírez Arrebato, M. Á. (2015). Actividad antifúngica in vitro de quitosanos sobre *Bipolaris oryzae*, patógeno del arroz. *Acta Agronómica*, 65(1). <https://doi.org/10.15446/acag.v65n1.48235>
- SIAP. (2019). *Anuario Estadístico de la Producción Agrícola*. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- SMN., S. M. N., & Comisión Nacional del Agua. (s. f.). *NORMALES CLIMATOLÓGICAS*. Recuperado 20 de septiembre de 2021, de <https://smn.conagua.gob.mx/es/informacion-climatologica-por-estado?estado=gro>
- Sandle, T. 2014. *Trichoderma*. p. 644-646. En C.A. Batt y M.-L. Tortorello (eds.) *Encyclopedia of Food Microbiology*, London, UK.
- Tang, L., Guo, E., Zhang, L., Wang, Y., Gao, S., Bao, M., Han, F., & Yu, W. (2022). The Function of CBM32 in Alginate Lyase VxAly7B on the Activity on Both Soluble Sodium Alginate and Alginate Gel. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2021.798819>
- Teramoto, A., Parisi, M. C. M., & Cunha, M. G. (2013). Caracterização fisiológica de isolados de *Corynespora cassiicola*. *Tropical Plant Pathology*, 38, 313-322. <https://doi.org/10.1590/S1982-56762013005000012>

- Terrones, C. A. 2019. Producción de jitomate en invernadero en San Juan Tilcuautla, Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Agronegocios* 44:170-183.
- Terrones, C. A; Sánchez, T. Y. 2011. Análisis de la rentabilidad económica de la producción de jitomate bajo invernadero en Acaxochitlán, Hidalgo. *Revista Mexicana de Agronegocios* 17(29): 752-761.
- Zeilinger, S., Gruber, S., Bansal, R., & Mukherjee, P. K. (2016). Secondary metabolism in *Trichoderma* – Chemistry meets genomics. *Fungal Biology Reviews*, 30(2), 74-90. <https://doi.org/10.1016/j.fbr.2016.05.001>
- Zin, N. A., & Badaluddin, N. A. (2020). Biological functions of *Trichoderma* spp. For agriculture applications. *Annals of Agricultural Sciences*, 65(2), 168-178. <https://doi.org/10.1016/j.aoas.2020.09.003>

APENDICES

Cuadro 8. Desglose de costos fijos y costos variables por hectárea.

Concepto	cantidad	unidad de medida	precio unitario (\$)	importe (\$)
Renta de terreno	1 ha	ha	1,500	1,500
limpia del terreno	10	jornales	120 (pagado)	1,200
			80 (comida)	800
control de plagas	6	botes	80	460
mano de obra	3	jornales	150 (pagado)	
			80 (comida)	690
control de maleza	15	jornales	120	1800
siembra				
semilla de jamaica	3	kg	40	120
mano de obra	4	jornales	120	480
otras labores culturales				
deshije de la jamaica	2	jornales	120	240
poda de la jamaica	2	jornales	120	240
cosecha				
corte de la ramas de jamaica	3	jornales	120	360
acarreo de la ramas	2	jornales	120	240
despique manual	30	jornales	120	3,600
costales para guardar los cáliz	20	costales	10	200
transporte				
viajes	1	por día (8 días)	150	1,200
traslado hacia el comprador	3	viajes	150	450
recolección de la semilla de jamaica	2	jornales	120	240
secado	2	jornales	120	240
			Total/ ha	14,060

Cuadro 9. Incidencia promedio (a través de las cinco aplicaciones y los tres estratos) en hojas y cáliz, para cada tratamiento, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa.

Tratamientos	Severidad en hojas		Severidad en cáliz	
	Villa Hermosa	Huamuchapa	Villa Hermosa	Huamuchapa
Quitosano + <i>Trichoderma I</i>	26.38 d*	15.56 c	19.68 d	9.26 c
Alginato + <i>Trichoderma I</i>	29.26 cd	18.19 c	21.03 cd	10.63 c
<i>Trichoderma I</i>	33.28 bc	22.93 bc	27.70 b	18.98 b
Quitosano	32.41 bc	23.83 b	26.35 bc	19.25 b
Alginato	34.14 b	23.53 b	25.23 bc	17.72 b
Gribac	33.76 bc	23.83 b	25.59 bc	20.40 b

Testigo	46.40 a	41.55 a	51.52 a	48.65 a
Prob.**	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
DSH***	4.65	6.67	4.73	6.46

*: Promedios de los tratamientos por columna con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey (p= 5%). **: Prob. = Probabilidad obtenida en el Análisis de la Varianza. ***: DSH=Diferencia Significativa Honesta de Tukey.

Cuadro 10. Severidad promedio (a través de los estratos y los siete tratamientos) en hojas y cálices para las diferentes aplicaciones, localidades Villa Hermosa y Huamuchapa.

Aplicaciones	Severidad en hojas		Severidad en cáliz	
	Villa Hermosa	Huamuchapa	Villa Hermosa	Huamuchapa
1	6.28 b*	2.62 b	7.03 c	8.39 b
2	7.61 b	5.01 b	17.26 b	11.86 b
3	11.84 b	8.71 b	28.16 a	20.7 a
4	33.66 a	24.2 b		
Prob.**	0.0001	0.0001	0.0001	0.0001
DSH***	6.49	9.39	2.10	4.96

*: Promedios de los tratamientos por columna con la misma letra, para cada localidad, no son estadísticamente diferentes de acuerdo con el método de Tukey (p= 5%). **: Prob. = Probabilidad obtenida en el Análisis de la Varianza. ***: DSH=Diferencia Significativa Honesta de Tukey.