



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO



Centro Universitario UAEM Tenancingo

EFFECTIVIDAD DE *Trichoderma* spp. SOBRE *Puccinia horiana* Y RESPUESTA
EN EL CRECIMIENTO DE *Chrysanthemum morifolium* VAR. DELANO

TESIS

QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:
INGENIERO AGRÓNOMO EN FLORICULTURA

P R E S E N T A
VICTOR MARTINEZ TAPIA

DIRECTORES:
M. en C. Grisel Domínguez Arizmendi
Dr. en C. Rómulo García Velasco

ASESORA
M. en C. Leticia Bravo Luna

Tenancingo, Estado de México

Noviembre de 2020

ÍNDICE

ÍNDICE DE CUADROS	IV
ÍNDICE DE FIGURAS	V
RESUMEN	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	4
2.1. Clasificación taxonómica de <i>Chrysanthemum</i> spp.....	4
2.1.1. Generalidades del crisantemo.....	4
2.1.2. Requerimientos nutricionales y fisiológicos del crisantemo.....	8
2.1.2.1. Fotoperiodo.....	8
2.1.2.2. Temperatura	9
2.1.2.3. Humedad relativa.....	10
2.1.2.4. Suelo y sustratos	10
2.1.2.5. Riego	10
2.1.2.6. Nutrición y deficiencias	11
2.3. Importancia del cultivo de crisantemo en México.....	16
2.4. Enfermedades fungosas en crisantemo	18
2.4.1. <i>Septoria obesa</i> y <i>Septoria chrysantemella</i> (tizón foliar)	19
2.4.2. <i>Cercospora chrysanthemi</i> y <i>Pseudocercospora chrysanthemicola</i> (mancha foliar).....	20
2.4.4. <i>Alternaria chrysanthemi</i> , <i>Alternaria alternate</i> y <i>Alternaria tenuissima</i> (tizón foliar).....	22
2.4.5. <i>Puccinia chrysanthemi</i> (roya café).....	24
2.4.5.1. Clasificación taxonómica de <i>P. chrysanthemi</i>	25
2.4.5.2. Síntomas.....	25
2.4.5.3. Ciclo biológico.....	27
2.4.6. <i>Puccinia horiana</i> (roya blanca).....	27
2.4.6.1. Clasificación taxonómica de <i>Puccinia horiana</i>	29
2.4.6.2. Características morfológicas.....	29
2.4.6.3. Síntomas.....	30
2.4.6.4. Ciclo biológico.....	31
2.5. Métodos de manejo de <i>Puccinia horiana</i>	32
2.5.1. Manejo químico.....	32
2.5.2. Prácticas culturales.....	34

2.5.3. Manejo biológico	35
2.6. <i>Trichoderma</i> spp.	35
2.6.1 Clasificación taxonómica	36
2.6.2 Mecanismos de acción	36
2.6.2.1. Competencia.....	37
2.6.2.2. Micoparasitismo	37
2.6.2.3. Antibiosis	38
2.6.2.4. Estimulación de crecimiento vegetal.....	39
2.6.2.5. Inducción de resistencia	41
3. JUSTIFICACIÓN	44
4. HIPÓTESIS	45
5. OBJETIVOS	45
5.1 Objetivo General	45
5.2 Objetivos específicos	45
6. MATERIALES Y MÉTODOS	46
6.1. Cepas de <i>Trichoderma</i> spp.....	46
6.2. Plantas de crisantemo.....	47
6.3. Plantación	48
6.4. Manejo de las plantas de crisantemo.....	48
6.5. Inoculación de <i>Trichoderma</i> spp.	48
6.6. Incorporación de la fuente de inóculo (<i>Puccinia horiana</i>).....	49
6.7. Variables evaluadas.....	51
6.8. Diseño experimental y análisis estadístico.....	53
7. RESULTADOS	55
7.1. Síntomas ocasionados por <i>Puccinia horiana</i> en plantas de crisantemo var. Delano.....	55
7.2. Incidencia de roya blanca en plantas de crisantemo.....	57
7.3. Índice de severidad	59
8. DISCUSIÓN	63
9. CONCLUSIONES	69
10. RECOMENDACIONES	70
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	71

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Valor de la producción y superficie cosechada de crisantemo como flor de corte y en macetería, en México durante el periodo 2015-2018.....	16
Cuadro 2. Valor y volumen de las exportaciones de crisantemo como flor de corte a Estados Unidos en el periodo 2016-2018.....	17
Cuadro 3. Especies en maceta de mayor importancia producidas en el municipio de Atlacomulco, Estado de México, durante el año 2018.....	18
Cuadro 4. Índice de severidad y porcentaje de reducción del índice de severidad de roya blanca en plantas de crisantemo var. Delano.....	59
Cuadro 5. Altura, número de hojas, diámetro de tallo (cm), peso fresco (g) y peso seco (g) en plantas de crisantemo var. Delano, sin inocular e inculadas con <i>Trichoderma barbatum</i> y <i>T. asperellum</i>	61

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Tipo de inflorescencias en crisantemos: 1. Encorvadas irregulares; 2. Reflexos; 3. Encorvadas regulares; 4. Decorativas; 5. Intermedias; 6. Pompones; 7. Sencillas y semi dobles; 8. Anémonas; 9. Cuchara; 10. Pluma; 11. Araña; 12. Cepillo; 13. Exóticas. (Fuente: National Chrysanthemum Society, 2017).	8
Figura 2. Síntomas de <i>Septoria obesa</i> (a y b), y <i>S. chrysantemella</i> (c, d y e) en hojas de crisantemo. (Fuente: Horst y Nelson, 1997).	20
Figura 3. Síntomas de <i>Golovinomyces chrysantemi</i> (antes <i>Oidium chrysanthemi</i>) en el envés de una hoja de crisantemo. (Fuente: Horst y Nelson, 1997).	22
Figura 4. Síntomas de <i>Alternaria</i> spp. en el haz en una hoja de crisantemo. (Fuente: Domínguez-Serrano, 2012).	24
Figura 5. Síntomas de <i>Puccinia chrysanthemi</i> en el envés de una hoja de crisantemo. (Fuente: Horst y Nelson, 1997).	26
Figura 6. Distribución de <i>Puccinia horiana</i> alrededor del mundo. Fuente: EPPO (2019).	28
Figura 7. Síntomas de <i>Puccinia horiana</i> en el haz y en el envés de una hoja de crisantemo. (Fuente: EPPO, 2019).	31
Figura 8. Ciclo biológico de la roya blanca del crisantemo causada por <i>Puccinia horiana</i> (Fuente: García-Velasco, 2005).	32
Figura 9. Capítulo de crisantemo var. Delano	47
Figura 10. Línea de tiempo del establecimiento del experimento y las actividades de inoculación de <i>Trichoderma</i> spp., incorporación de la fuente de inóculo (<i>Puccinia horiana</i>) y fertilización.	50
Figura 11. Escala diagramática para la evaluación de la severidad de <i>Puccinia horiana</i> en crisantemo (Jaraba <i>et al.</i> , 1999) (Obtenido de Nieto-Ángel <i>et al.</i> , 2001).	54
Figura 12. Síntomas iniciales de roya blanca en el haz de las hojas de crisantemo, var. Delano de las plantas testigo a los 17 días después de la incorporación de la fuente de inóculo.	55
Figura 13. Síntomas de roya blanca en hojas de crisantemo var. Delano de las plantas testigo, a los 21 días después de la incorporación de la fuente de inóculo.	56
Figura 14. Síntomas avanzados de roya blanca en el haz de las hojas de crisantemo var. Delano en plantas testigo a los 30 días después de la incorporación de la fuente de inóculo.	56
Figura 15. Pústulas de roya blanca en el envés de las hojas de crisantemo var. Delano en plantas del testigo a los 30 días después de la incorporación de la fuente de inóculo.	57

Figura 16. Cinética de la incidencia de roya blanca en plantas de crisantemo var. Delano, sin inocular (testigo) e inoculadas con *Trichoderma barbatum* y *T. asperellum*..... 58

Figura 17. Cinética de la severidad de roya blanca en el envés de hojas de crisantemo var. Delano: a) Testigo; b) *Trichoderma barbatum* y c) *T. asperellum*.60

RESUMEN

El crisantemo (*Chrysanthemum morifolium*) como flor de corte, es la especie más cultivada en México por encima de la rosa. El cultivo es atacado por diferentes patógenos entre los cuales se encuentra *Puccinia horiana*, agente causal de la roya blanca, los síntomas iniciales aparecen en el haz de las hojas como pequeños puntos de color verde claro a blanco, seguido por la presencia de pústulas en el envés, el daño que ocasiona es severo llegando a defoliar la planta si no se maneja oportunamente. Por lo anterior se planteó por objetivos: determinar la incidencia y la severidad de *Puccinia horiana* en crisantemo var. Delano y la estimulación de crecimiento vegetal por efecto de *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma barbatum*. Sobre el sustrato de cada planta, por separado se inoculó una suspensión de 10^7 conidios por mL de la respectiva especie al momento de la plantación, dos aplicaciones más fueron realizadas a los 15 y 30 días después de la plantación (ddp); el testigo consistió en plantas sin inocular. Durante todo el periodo de investigación se incubaron en una cámara de crecimiento de plantas a 23 °C, humedad relativa superior al 80 %, fotoperiodo de 9 horas luz y 15 oscuridad. Quince ddp se incorporaron al azar en cada tratamiento cinco plantas de crisantemo con síntomas de *P. horiana*; la revisión de las plantas fue cada dos días a partir del día posterior a la incorporación de la fuente de inóculo (ddi) para registrar la incidencia. El experimento finalizó 45 ddp, momento en el que se determinó: el índice de severidad (IS), diámetro de tallo, número de hojas, altura, peso fresco y seco. El experimento se estableció en un diseño completamente al azar con tres tratamientos y 30 repeticiones cada uno, los datos se analizaron con un ANOVA y

comparación de medias Tukey ($P > 0.05$) con el programa InfoStat. La enfermedad se manifestó a los 17 días después de la incorporación de la fuente de inóculo, al día 21 se presentaron síntomas en el 97 % de las plantas del testigo y en el 50 % de las inoculadas con *T. barbatum* y *T. asperellum*. Se presentaron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) en el IS y número de hojas, respecto al testigo; el IS disminuyó 80 y 75 % con *T. barbatum* y *T. asperellum*, respectivamente, el número de hojas aumentó 12.8 % con *T. asperellum* y 10.1 % con *T. barbatum*. Los resultados demuestran el potencial de las especies de *Trichoderma* como agentes de control biológico de *P. horiana*; a pesar de que, durante el periodo de evaluación, con ambas especies aumentó el número de hojas, esta variable no es suficiente para aseverar que tienen el potencial de estimular el crecimiento vegetal en el cultivo de crisantemo.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) como flor de corte, es la especie más cultivada en México por encima de la rosa. En el año 2018, se registró una exportación de 818,321 kg, con un valor estimado de USD \$ 702,023 (SIAVI, 2019). Por otro lado, el crisantemo en maceta tiene importancia en el Estado de México, específicamente en San Lorenzo Tlacotepec, Atlacomulco donde se produce durante todo el año, y se registra un valor de producción de \$ 12,7000,720 (SIAP, 2019), siendo la celebración más importante para la producción de esta especie el día de muertos (finales del mes de octubre e inicio de noviembre); cabe señalar que bajo este sistema de producción en el año 2018 el SIAP reportó un valor de \$ 18,213,640.00 (SIAP, 2019).

En el follaje, el cultivo es atacado por diversos fitopatógenos fungosos, cuyas enfermedades ocasionan pérdidas considerables debido a los daños que ocasionan; tales afectaciones generalmente se manifiestan como manchas y defoliación, lo que disminuye el valor estético y comercial. Entre las enfermedades más devastadoras destaca la roya blanca causada por el hongo *Puccinia horiana* Henn; su manejo se ha basado principalmente en el uso de productos químicos, los cuales no han erradicado la enfermedad, sino por el contrario han provocado el desarrollo de resistencia, trayendo como consecuencia daños perjudiciales al ambiente y a la salud de las personas que trabajan con estos productos (García-Velasco *et al.*, 2005).

Una alternativa para el manejo de *P. horiana* es el uso de agentes de control biológico; al respecto, Rodríguez *et al.* (1996) evaluaron el efecto de *Lecanicillium*

(antes *Verticillium*) *lecanii* Zimm, que redujo significativamente la severidad en un 53.3 % respecto al testigo. Por su parte García-Velasco *et al.* (2005) reportan que el hongo *Cladosporium* sp. tiene la capacidad de hiperparasitarla. En otro estudio, Rares *et al.* (2015) reportaron la disminución de la severidad en 46 % respecto al testigo en plantas de crisantemo utilizando *Trichoderma* sp.

El uso de *Trichoderma* spp. para el manejo de enfermedades ha tenido gran éxito, debido a los diferentes mecanismos de acción directos e indirectos que presenta. Entre los mecanismos directos se encuentran: antibiosis, micoparasitismo y competencia; en cuanto a los mecanismos de acción indirectos se reporta: la estimulación del crecimiento vegetativo e inducción de resistencia sistémica en las plantas (Yedidia *et al.*, 2001; Yedidia *et al.*, 2003; Howell, 2003; Harman *et al.*, 2004; Harman, 2006; Vinale, 2008; Contreras-Cornejo *et al.*, 2016; Kashyap *et al.*, 2017).

En lo que respecta a la estimulación de crecimiento vegetativo, Cubillos *et al.* (2009) compararon la inoculación de una cepa nativa y una comercial de *T. harzianum* en semillas y plantas de maracuyá; entre sus observaciones destacan que con la cepa nativa se presentaron mejores resultados frente a la cepa comercial. En otro estudio Guzmán-Valle (2012) inoculó *T. asperellum* en semillas de cebolla, y obtuvo plantas con mayor peso fresco y peso seco, respecto al testigo. Por su parte Candelero *et al.* (2015) reportaron la efectividad de *Trichoderma* spp. en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq., las cuales al final del experimento presentaron mayor altura y mayor peso seco, respecto al testigo. Por su parte Chávez-García (2006) evaluó el efecto de diferentes cepas de *Trichoderma* sp. en plántulas de crisantemo, en la etapa de

enraizamiento las cuales tuvieron mayor peso fresco foliar, peso seco foliar, longitud foliar y longitud de la raíz, respecto al testigo.

Prasanna *et al.* (2016) evaluaron microorganismos benéficos en dos variedades de crisantemos (Golden Ball y White Star), entre los que se encontraban combinaciones de *Trichoderma* sp. con *Anabaena* sp. y *T. viridae* con *Azotobacter* sp. las cuales aumentaron el peso fresco y peso seco, respecto al testigo.

Con respecto a la inducción de resistencia sistémica en plantas contra el ataque de fitopatógenos, Ezziyyani *et al.* (2005) observaron que la inoculación de *T. harzianum* en las raíces de pimiento (*Capsicum annuum* L.) produce una reacción sistémica en las hojas que induce la producción de proteínas relacionadas con la patogénesis. Por su parte, Yoshioka *et al.* (2011) reportaron que el tratamiento con *T. asperellum* en el sustrato causa inducción de resistencia sistémica en plantas de *Arabidopsis thaliana* contra la mancha bacteriana de la hoja ocasionada por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Guzmán (2012) reportó que la aplicación *T. asperellum* en plantas de cebolla (*Allium cepa* L.) indujo una respuesta sistémica en las hojas al incrementar la actividad enzimática.

Por ende, los objetivos del presente trabajo fueron determinar la incidencia y la severidad de *Puccinia horiana* en crisantemo var. Delano y la estimulación de crecimiento vegetal por efecto de *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma barbatum*.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Clasificación taxonómica de *Chrysanthemum* spp.

De acuerdo con Hasler (2019), el género *Chrysanthemum* se ubica en la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Plantae

Filo: Tracheophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Asterales

Familia: Asteraceae

Género: *Chrysanthemum*

2.1.1. Generalidades del crisantemo

El género *Chrysanthemum* comprende varias especies con floración en distintas épocas del año. Las más reconocidas son: *C. indicum* L., *C. sinensis* Sabine y *C. morifolium* Ramat. Esta última tiene gran importancia en el mercado nacional e internacional, presenta hojas lobuladas o dentadas, que pueden ser lisas o rugosas, casi siempre aromáticas y de color variante del verde claro al verde oscuro; las flores presentan inflorescencias en capítulo comúnmente formado por flores femeninas y hermafroditas (Salmeron, 1975; Arbos, 1992; Horst y Nelson, 1997). La Sociedad Nacional de Crisantemos de Estados Unidos (National Chrysanthemum Society, USA) (2017) reporta que las inflorescencias se clasifican en 13 grupos: encorvadas irregulares, reflexos, encorvadas regulares, decorativas, intermedias, pompones,

sencillas y semi dobles, anémonas, cuchara, pluma, araña, cepillo, exóticas (Figura1); cuyas características se describen a continuación:

- 1) Encorvadas irregulares: las flores generalmente son lisas, anchas y largas, se curvan de manera irregular de tal forma que la flor alcanza un tamaño grande. La amplitud y la profundidad son casi iguales. Los floretes superiores pueden ser regulares o irregulares; los inferiores pueden llevar un patrón irregular.
- 2) Reflexos: los floretes radiales pueden ser estrechos o anchos, se superponen de manera regular o irregular. Las flores son grandes de forma globular o algo aplanadas son casi iguales en amplitud y profundidad. Los floretes centrales son curvados y acortados; los inferiores pueden tener nudillos u hoyuelos.
- 3) Encorvadas regulares: los floretes radiales son cortos, pueden ser delgados o anchos, se curvan suavemente para formar una floración globular. El color del anverso puede estar oculto. Por lo general la amplitud y la profundidad son iguales para formar una especie de bola.
- 4) Decorativas: los floretes radiales pueden ser cortos, anchos o estrechos, largos y puntiagudos. Los floretes superiores pueden curvarse mientras que los floretes inferiores son reflexos. Las floraciones suelen ser más planas que globulares.
- 5) Intermedias: los floretes radiales son anchos a estrechos y pueden ser más cortos que los de otras clases. Los floretes inferiores pueden ser más largos y pueden parecer parcialmente curvados; algunos pueden parecer reflexos.

Algunas variedades parecen tener centros ligeramente aplanados o sumidos.

Las flores presentan una forma abierta y puede verse el color del anverso.

Algunas tienen un efecto bicolor, en general la floración es globular.

- 6) Pompones: los floretes radiales son cortos, lisos y anchos pueden ser curvos o reflexos de manera regular para producir una floración firme en forma de bola. En variedades de botón pequeño y en estado inmaduro son de apariencia semi circular. En flores maduras se puede ver el color del anverso.
- 7) Sencillas y semi dobles: los floretes radiales tienen forma de correa, son cóncavos o convexos en una a cinco filas en ángulo recto del tallo, algunos pueden curvarse hacia arriba o abajo en la punta del florete. En los tipos simples, está presente una fila de floretes. Los floretes suelen ser anchos y pueden tener forma de barco. En los tipos semidobles, las flores del radio pueden variar de anchas a estrechas, cortas o largas. El disco es circular y está formado por floretes ligeramente inmaduros.
- 8) Anémonas: los floretes radiales varían de una estructura ligulada a tubular. Los floretes ligulados varían desde cortos o anchos, aplanados y casi de igual longitud. Las variedades que tienen floretes radiales tubulares usualmente se irradian rígidamente en forma de cerillo en la porción distal. La característica distintiva de esta floración es el prominente disco elevado. Los floretes del disco pueden ser de un color similar al de los floretes radiales o pueden contrastar.
- 9) Cuchara: Las corolas tubulares alargadas se irradian horizontalmente desde un disco prominente. El disco circular puede ser plano o ligeramente redondeado. La mayoría de los floretes radiales tubulares son rectos y

generalmente estrechos, algunos presentan una apariencia más ancha y parecida a una cinta.

- 10) Pluma: los floretes radiales son alargados, tubulares y rectos. No están enrollados, pero pueden reflejarse ligeramente, algunos pueden estar cerrados hasta la punta y son puntiagudos, otros están abiertos y espatulados. La floración es completamente doble sin disco aparente.
- 11) Araña: los floretes radiales son largos y tubulares, pueden ser muy finos y asumen una amplia variedad de direcciones. Las puntas de los floretes pueden estar abiertas y espatuladas o cerradas, pero deben mostrar espirales o ganchos definidos en los extremos. Algunas puntas de las flores pueden tener forma de plumas o cortes.
- 12) Cepillo: los floretes radiales son tubulares, de muy finos a medianos de diámetro. En flores similares a los cardos, los floretes son algo aplanados y retorcidos.
- 13) Exóticas: los tipos de flores que no se ajustan a las descripciones de las clasificaciones anteriores se colocan en este grupo. Estos tipos de flores generalmente son una combinación de dos o más clases. Los floretes radiales pueden ser tubulares o en forma de tira, espatulados o cerrados, de aplanados a puntiagudos. Algunos tienen pubescencia similar a un cabello o puntas en forma de plumas. La dirección de crecimiento y disposición de las flores es distintiva. Algunas formas de floración pueden parecer extremadamente retorcidas o arremolinadas (Figura 1, 13).



Figura 1. Tipo de inflorescencias en crisantemo: 1. Encorvadas irregulares; 2. Reflexos; 3. Encorvadas regulares; 4. Decorativas; 5. Intermedias; 6. Pompones; 7. Sencillas y semi dobles; 8. Anémonas; 9. Cuchara; 10. Pluma; 11. Araña; 12. Cepillo; 13. Exóticas. (Fuente: National Chrysanthemum Society, 2017).

2.1.2. Requerimientos nutricionales y fisiológicos del crisantemo

2.1.2.1. Fotoperiodo

Estas plantas se consideran de día corto, puesto que muchas variedades florecen al alargarse las noches; el punto crítico se halla entre las 13 y 14 horas de luz, cuando el número de horas es inferior se produce la floración. De esta forma las variedades más precoces son menos sensibles y forman las flores con menos oscuridad, mientras que, las variedades más tardías necesitan más horas de oscuridad para florecer. Con más de 15 horas diarias de luz las plantas continúan

desarrollándose sin florecer; con mucha sombra las flores son pequeñas y los tallos delgados descendiendo considerablemente la calidad del producto. Vista la reacción de muchas variedades de crisantemos a la duración del día, puede provocárseles la floración en diferentes épocas del año, ya sea aplicando luz artificial, o bien, reduciendo la duración del día tapando las plantas con plástico o tela negra. Se debe tener en cuenta que la temperatura tiene una función muy importante en el momento de aplicar este tipo de técnicas, puesto que la baja temperatura nocturna retarda o inhibe la iniciación y el desarrollo del botón floral, de igual forma que la temperatura demasiado elevada, aunque se aplique luz en invierno u oscuridad en verano. El tiempo durante el cual debe aplicarse esta técnica dependerá de la altura que alcance la planta, o de si se quiere adelantar o retrasar la floración (Arbos, 1992; Hayama y Coupland, 2003).

2.1.2.2. Temperatura

La temperatura en el crisantemo para flor de corte puede variar, por ejemplo, en algunas variedades puede haber 11 °C de temperatura mínima o inferior por la tarde, siempre que durante el día exista temperatura de 16 °C o más. Muchas variedades necesitan un período de frío para inducirlas a la floración, este período se sitúa entre los 5 y 10 °C; mientras que, otras variedades con temperaturas mínimas inferiores a los 11 °C tienden a formar el botón floral pronto, aunque se les aplique el día largo. A la mayoría de las variedades, el exceso de temperatura retrasa la floración, considerándose una temperatura elevada superior a 32 °C. La temperatura nocturna ideal para los crisantemos en maceta es de 18 °C durante las primeras cuatro semanas posteriores al establecimiento del esqueje en la maceta. Las siguientes

cuatro o cinco semanas, las temperaturas nocturnas deberán ser de 16 a 17 °C (Jiménez y Caballero, 1990; Arbos, 1992; Crater, 1996).

2.1.2.3. Humedad relativa

Durante la fase de crecimiento se recomienda humedad relativa del 65 al 75 % para que las plantas se desarrollen en perfectas condiciones; si la humedad se encuentra por debajo del intervalo óptimo, los tallos pueden ser cortos e incluso se retrasa la floración. Cuando emergen las flores es conveniente que la humedad relativa no sea alta con el fin de prevenir los ataques de patógenos (Arbos, 1992).

2.1.2.4. Suelo y sustratos

El crisantemo es una planta poco exigente en cuanto al suelo se refiere, aunque como ocurre en otras plantas, cuanto mejores sean las condiciones del terreno, más grande y de mejor calidad serán las flores. En general, puede decirse que los suelos de consistencia media, con un buen drenaje, ricos en humus y con pH entre 6 y 7 son los más adecuados para su cultivo. El cultivo se puede establecer en un sistema hidropónico, ya que es más fácil el control de las propiedades físicas del sustrato, en comparación con la utilización del sustrato directamente (Arbos, 1992; Barbosa *et al.*, 2000).

2.1.2.5. Riego

Es muy importante regar con frecuencia después de la plantación, a fin de mantener convenientemente el esqueje y así provocar la aparición de raíces adventicias. Es aconsejable regar dos veces al día, durante los primeros días; mientras que, en el

desarrollo se tiene que regar dependiendo de las necesidades del cultivo y de las condiciones climáticas.

El cultivo de crisantemo es un gran consumidor de agua, por lo que se debe tener una buena vigilancia del riego. En macetería se utiliza el riego a mano porque se puede proporcionar mejor la cantidad de agua. Si la cantidad de agua es insuficiente la planta sufre estrés hídrico (Jiménez y Caballero, 1990; Arbos 1992; Crater, 1996).

2.1.2.6. Nutrición y deficiencias

El suelo de cultivo debe de estar bien trabajado, subsolado y bien drenado, puesto que el sistema radicular alcanza los 60 cm de profundidad. En el momento de aplicar el fertilizante es aconsejable partir de un análisis del suelo (Arbos, 1992). Un problema frecuente entre los productores, es que no se sigue un plan de fertilización acorde a las necesidades reales de demanda de nutrientes por parte del cultivo a lo largo de su ciclo de producción (Quesada-Roldán y Bertsh-Hernández, 2013).

En particular, uno de los problemas que enfrenta la producción de crisantemo, es la disminución del rendimiento y la calidad, debido a los desbalances nutrimentales que resultan de una fertilización inadecuada, principalmente de nitrógeno, fósforo, potasio, calcio y magnesio (Valdez-Aguilar *et al.*, 2015). De acuerdo con Horst y Nelson (1997), algunos de los requerimientos nutricionales en el cultivo del crisantemo son los siguientes:

Nitrógeno (N): el óptimo nivel de nitrógeno en hojas maduras debe estar entre las 45,000 y 60,000 ppm, los niveles por debajo de los 20,000 ppm causan serios síntomas de deficiencias, incluyendo hojas jóvenes más

pequeñas de lo normal, una clorosis verde pálido, en avanzadas etapas, también suele presentarse pigmentación rojiza y manchas necróticas desarrolladas cerca de los márgenes de las hojas inferiores. Las hojas afectadas pueden ahuecarse y posteriormente morir. Se retrasa la floración y el tamaño de la inflorescencia se reduce. El uso excesivo de nitrógeno provoca que las hojas sean frágiles.

Fósforo (P): los niveles óptimos de fósforo en hojas recién maduras oscilan entre 4,000 y 12,000 ppm. Niveles inferiores a las 2,600 ppm causan serias deficiencias, uno de los síntomas iniciales es el tamaño pequeño en hojas jóvenes, dando una apariencia de crecimiento alto y delgado. Eventualmente las hojas desarrollan un tono verde grisáceo. Etapas siguientes de la deficiencia incluyen clorosis, necrosis marginal y la pérdida de hojas inferiores.

Potasio (K): los niveles óptimos de potasio rondan entre las 35,000 y las 80,000 ppm. Niveles por debajo de las 27,500 ppm causan serias deficiencias. Los síntomas de deficiencias comienzan manifestándose como clorosis marginal en las hojas que se encuentran a la mitad del tallo, conforme la deficiencia va progresando se desarrolla necrosis en las hojas inferiores. Las hojas que se encuentran en la mitad del tallo pueden desarrollar clorosis intervenal, con apariencia similar a la que se desarrolla por la deficiencia de hierro. Los tallos son débiles, delgados y altos, también pueden estar torcidos. El sistema radicular es pequeño y reduce la intensidad del color de las flores.

Calcio (Ca): los niveles óptimos de calcio en hojas recién maduras se encuentran entre las 15,000 a 40,000 ppm. Niveles por debajo de las 4,000 ppm causa serios problemas de deficiencia que incluyen debilitamiento, formas irregulares y clorosis en las hojas; posteriormente aparecen manchas de color café en los márgenes de las hojas afectadas que aumentan de tamaño hasta cubrir todo el margen.

Las plantas que presentan deficiencias detienen su crecimiento, las raíces mueren y la planta se marchita. Conforme avanza la deficiencia, el ápice de los brotes muere. Las hojas que se encuentran a la mitad del tallo eventualmente desarrollan manchas cloróticas. Las flores son propensas a las lesiones por calor.

Magnesio (Mg): los niveles óptimos de magnesio en hojas recién maduras se encuentran entre las 5,000 y 15,000 ppm. Niveles por debajo de las 550 ppm causan serios problemas de deficiencias como lo es la necrosis en los márgenes de las hojas inferiores, clorosis intervenal en los márgenes de las hojas que se encuentran en la mitad del tallo y también las que se encuentran en la parte inferior; además se pueden presentar áreas color amarillo claro a blanco o color morado a rojo. Las hojas afectadas tienden a enrollarse hacia abajo, con deficiencia severa los márgenes desarrollan una pigmentación rojiza bronceada. Las raíces permanecen normales, pero las flores son pequeñas.

Azufre (S): los niveles óptimos de azufre en hojas maduras oscilan entre los 3,000 y 7,500 ppm. Las deficiencias se comienzan a presentar a niveles por

debajo de las 2,500 ppm. Los primeros síntomas aparecen en las hojas nuevas con una ligera clorosis (excepto en las puntas) y progresan con un amarillamiento de las raíces.

Hierro (Fe): los niveles óptimos de hierro en hojas recién maduras se encuentran entre las 100 y 300 ppm, niveles por debajo de las 35 ppm causa serias deficiencias, incluyendo un rápido desarrollo de clorosis intervenal en hojas jóvenes y un lento crecimiento. En etapas avanzadas, la clorosis sigue progresando cerca de toda la hoja comenzando con una tonalidad blanca. Se pueden desarrollar áreas necróticas irregulares y grandes que afectan a las hojas. La floración se ve retrasada.

Manganeso (Mn): los niveles óptimos de manganeso en hojas recién maduras se encuentran entre las 50 y 300 ppm, los niveles por debajo de las 4 ppm causan serios síntomas de deficiencia. Las hojas desarrollan necrosis marginal e intervenal. Las hojas jóvenes rápidamente desarrollan clorosis uniforme verde claro por toda la hoja, las nuevas hojas son pequeñas y la floración se ve retrasada. Conforme la severidad de la deficiencia va progresando se empiezan a desarrollar manchas necróticas en las hojas superiores. En las hojas inferiores se desarrollan manchas color café que gradualmente se necrosan, las manchas necróticas pueden desarrollarse en la parte inferior de los peciolo, causando que las hojas caigan.

Cobre (Cu): los niveles óptimos de cobre en hojas recién maduras están entre las 6 y 100 ppm, los niveles por debajo de las 5 ppm causan serios síntomas de deficiencia. Inicialmente se observan cuando los entrenudos y

las hojas empiezan a elongarse y la planta es aparentemente alta y delgada. Algunas veces la floración se ve retrasada. Las hojas que se encuentran en la mitad del tallo pueden presentar una clorosis cerca de los márgenes. Tanto las venas como el tejido intervenal son afectados. Los síntomas de la clorosis se extienden lentamente a otras hojas de las plantas.

Zinc (Zn): los niveles óptimos de zinc en hojas recién maduras se encuentran entre las 15 y las 200 ppm, niveles por debajo de las 7 ppm causan serios síntomas de deficiencia, como desarrollar pequeñas manchas cloróticas en las hojas de la mitad del tallo y las superiores. Después, las hojas inferiores se ven afectadas. Las manchas eventualmente van agrandándose y los centros de estas se tornan necróticas.

Boro (B): los niveles óptimos de boro en hojas recién maduras se encuentran entre las 30 y las 100 ppm, niveles por debajo de las 20 ppm causan serios síntomas de deficiencias, inicialmente comienza con una clorosis clara en las hojas alrededor de los márgenes o sobre toda la hoja en la parte media superior de las plantas. Las hojas de la mitad y posteriormente las hojas superiores se vuelven ligeramente cloróticas y quebradizas. Las hojas pueden deformarse y doblarse hacia abajo. Síntomas avanzados incluyen marchitamiento temporal de las hojas superiores, pérdida del meristemo apical, secado del tallo y subsecuentemente desarrollan múltiples malformaciones en brotes laterales. La progresión de los síntomas de la deficiencia es lenta cuando el cultivo es expuesto a periodos cortos de luz para promover la floración. La deficiencia detiene el desarrollo de las flores.

2.3. Importancia del cultivo de crisantemo en México

El Estado de México es una zona importante en la producción de crisantemo como flor de corte y macetería. Durante el periodo 2015 a 2018, la producción de flor de corte se ha mantenido estable; por ejemplo: en 2015 se cosecharon 2,464.65 ha, con un valor de \$ 1,906,137,000; y para el año 2018, fueron 2,681.65 ha cuyo valor fue de \$ 1,936,555,000 (Cuadro 1) (SIAP, 2019).

En cuanto a la producción de macetería durante el mismo periodo se han presentado ligeros aumentos; del 2015 al 2018 la superficie aumentó 23 % y el valor de la producción incrementó en 28.2 % (Cuadro 1) (SIAP, 2019). Lo anterior trae consigo la generación de empleos directos e indirectos, así como una derrama económica significativa.

Cuadro 1. Valor de la producción y superficie cosechada de crisantemo como flor de corte y en macetería, en México durante el periodo 2015-2018.

Año	Flor de corte		Macetería	
	Valor*	Superficie (ha)	Valor*	Superficie(ha)
2015	1,906,137	2,464.65	14,203.80	4.40
2016	1,800,577	2,768.35	17,609.27	5.40
2017	1,915,085	2,765.26	17,327.88	5.50
2018	1,936,555	2,681.75	18,213.64	5.45

Fuente: SIAP (2019). *Valor en miles de pesos mexicanos.

En lo que respecta a la comercialización en el extranjero, históricamente solo se exporta la flor de corte, siendo uno de los destinos Estados Unidos. En el año 2015 no se registraron ventas a dicho país, pero a partir de 2016 se incrementaron considerablemente, siendo el año 2018 el año cuando se registró la mayor

exportación con 818,321 kg, equivalentes a USD \$ 702,023 (Cuadro 2) (SIAVI, 2019).

Cuadro 2. Valor y volumen de las exportaciones de crisantemo como flor de corte a Estados Unidos en el periodo 2016-2018.

Año	Valor (dólares)	Volumen (kg)
2015	NRE*	NRE
2016	506	616
2017	26,297	27,603
2018	702,023	818,321

Fuente: SIAVI (2018). *NRE: No se reportó exportación.

En lo que respecta a la producción de crisantemo en macetería, el Estado de México es el estado que mayor valor económico reporta de dicha especie, siendo el municipio de Atlacomulco el único productor del estado, cuyo valor de la producción en 2018 fue de \$ 12,700,920. En otros puntos de la República Mexicana destaca Xochimilco, Ciudad de México, el cual es el mayor productor de crisantemo en todo el país con un valor de la producción de \$ 5,512,720; sin embargo, este valor es menor que el de Atlacomulco. Ambos lugares sumaron los \$ 18,213,640 que se reportaron dicho año (SIAP, 2019).

Además del crisantemo existen otras especies de importancia que se cultivan en maceta, entre estas se encuentran: geranio (*Pelargonium hortorum* Bailey), nochebuena (*Euphorbia pulcherrima* Wild ex Klotzsch) y rosa (*Rosa* spp.), especies que destacan en superficie y valor; no obstante en cuanto a valor por hectárea, el crisantemo es la especie que sobresale ya que por hectárea su valor económico es de \$ 5,184,040, siendo superior al de la rosa cuyo valor es de \$ 2,652,620, al de la

nochebuena con un valor de \$ 3,092,320, y al de geranio que es la especie con mayor superficie teniendo un valor por \$ 3,709,490 (Cuadro 3) (SIAP, 2019).

Cuadro 3. Especies en maceta de mayor importancia producidas en el municipio de Atlacomulco, Estado de México, durante el año 2018.

Especie	Superficie cosechada (ha)	Valor*	Valor por ha
Geranio	16.83	62,430.82	3,709.49
Nochebuena	10.55	32,624.01	3,092.32
Rosa	10.65	28,250.48	2,652.62
Crisantemo	2.45	12,700.92	5,184.04

Fuente: SIAP, 2019. *Miles de pesos mexicanos.

2.4. Enfermedades fungosas en crisantemo

Uno de los factores que afectan la calidad de las plantas de crisantemo son las enfermedades que se presentan tanto en la raíz como en los órganos aéreos. Los hongos fitopatógenos que afectan el follaje son: *Septoria obesa* Syd. & P. Syd, *Septoria chrysantemella* Sacc (Figura 2), *Cercospora chrysanthemi* Heald & F. A. Wolf, *Pseudocercospora chrysanthemicola* (Yen) Deighton (Figura 3), *Golovinomyces chrysantemi* Rabenh (Figura 4), *Alternaria chrysantemi* E.G. Simmons & Crosier, *Alternaria alternata* (Fr.) Keissl, *Alternaria tenuissima* (Nees) Wiltshire (Figura 5), *Puccinia chrysantemi* Roze (Figura 6) y *Puccinia horiana* Henn (Figura 7).

2.4.1. *Septoria obesa* y *Septoria chrysantemella* (tizón foliar)

Septoria spp. se encuentra presente en todo el mundo donde se siembra crisantemo, ocasiona importantes pérdidas en áreas lluviosas. Las ganancias de los crisantemos se ven reducidas ya que hay pérdida total de los tallos, además de que se incrementan los gastos de producción por las medidas de manejo que se llevan a cabo (Tlapal y Mendoza, 2002).

Inicialmente produce pequeños puntos de color café que aumentan de tamaño hasta unirse o coalescer formando manchas oscuras de forma irregular que afectan algunas veces hasta un tercio de la hoja (Figura 2). El tejido infectado de la hoja se amarillenta, se marchita y muere, por lo que las hojas presentan una apariencia cortada. Los síntomas visibles se presentan en un periodo de 8 a 21 días después que ocurre la infección. La diagnosis se basa en el tipo de cuerpos fructíferos que el hongo produce y que puede observarse a simple vista como puntos negros que sobresalen de la epidermis y que son picnidios globosos con conidios bicelulares, hialinos y constreñidos en el centro (Romero, 1996).

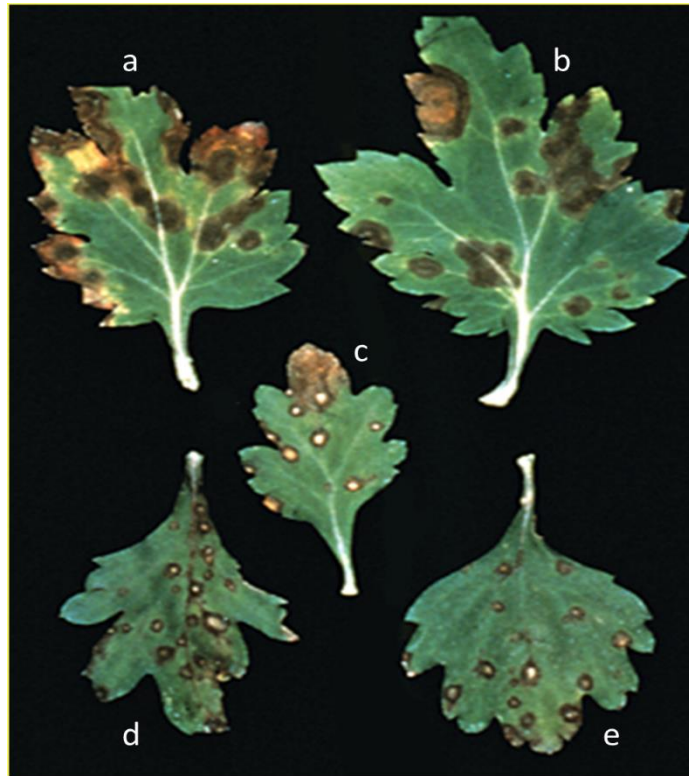


Figura 2. Síntomas de *Septoria obesa* (a y b), y *S. chrysanthemella* (c, d y e) en hojas de crisantemo. (Fuente: Horst y Nelson, 1997).

2.4.2. *Cercospora chrysanthemi* y *Pseudocercospora chrysanthemicola* (mancha foliar)

Cercospora es uno de los géneros más importantes de hongos patógenos de plantas, ocasiona grandes pérdidas en los cultivos y se presenta en una amplia variedad de plantas en todo el mundo (To-Anun *et al.*, 2011).

Heald y Wolf (1911), reportaron que *Cercospora chrysanthemi* en *Chrysanthemum* sp., desarrolla manchas elevadas sub-circulares a irregulares de color café, convirtiéndose en gris al paso del tiempo, cuando las manchas son abundantes las hojas se vuelven completamente cafés.

Hsieh y Goh (1990), mencionan que *Cercospora chrysanthemicola* es sinónimo de *Pseudocercospora chrysanthemicola*, este patógeno se localiza sobre las hojas de *Chrysanthemum morifolium* y produce manchas sub-circulares de 0.1 hasta 1.0 cm de diámetro que pueden estar dispersas o agrupadas hasta formar grandes manchas de hasta 1.5 cm de ancho, inicialmente son amarillentas por el haz y café grisáceo en el envés, posteriormente se tornan de color café oscuro, algunas veces con un margen estrecho color café (Crous *et al.*, 2004).

2.4.3. *Golovinomyces chrysanthemi* (cenicilla)

La cenicilla es una enfermedad fúngica muy común del crisantemo. Este patógeno es una seria amenaza que puede causar pérdidas económicas significativas. El control de dicha especie requiere múltiples aplicaciones de fungicidas. Se desconoce su origen exacto, pero existe evidencia respaldada que fue introducido desde el este de Asia (Bradshaw *et al.*, 2017).

Los síntomas que se presentan son: manchas foliares color blanco y apariencia polvorienta, se encuentran principalmente en el haz de las hojas inferiores, además se puede presentar en tallos. En las hojas jóvenes se presentan enrollamientos y deformaciones, ocasionalmente en hojas maduras. De igual forma pueden sufrir deformación las partes jóvenes de las plantas como botones, tallos y hojas los cuales dejan de crecer (Figura 3) (Horst y Nelson, 1997; Bradshaw *et al.*, 2017).



Figura 3. Síntomas de *Golovinomyces chrysantemi* (antes *Oidium chrysanthemi*) en el envés de una hoja de crisantemo. (Fuente: Horst y Nelson, 1997).

2.4.4. *Alternaria chrysantemi*, *Alternaria alternate* y *Alternaria tenuissima* (tizón foliar)

Alternaria es un género muy común y ampliamente distribuido en el suelo, algunas especies son parásitos de plantas vivas o se comportan como saprófitas sobre sustratos orgánicos (Rotem, 1994). Incluye numerosas especies que pueden invadir los cultivos vegetales antes y después de la cosecha. Así mismo, es responsable de considerables pérdidas económicas en el sector agrícola, debido a que reduce el rendimiento de las cosechas y produce alteraciones en los vegetales durante su almacenamiento (Pavón *et al.*, 2009).

Rotem (1994), menciona que el intervalo de temperatura para la esporulación del hongo comúnmente es menor a la que necesita el desarrollo vegetativo, pero la temperatura mínima oscila entre los 5 °C y la máxima entre 30 y 35 °C, siendo la temperatura óptima de 15 a 30 °C.

Hegde (1988), reportó que los síntomas iniciales son manchas verde amarillentas de 3 a 4 mm de diámetro, presentándose inicialmente en las hojas senescentes, mientras que en hojas jóvenes los síntomas aparecen después de cinco días de la infección. Estas manchas inicialmente son circulares, y se amplían conforme avanza la enfermedad, convirtiéndose en irregulares de color marrón oscuro a negro parduzco, que con el tiempo cubren la hoja entera causando el tizón foliar y provocando la defoliación; sobre las hojas superiores los síntomas son similares, pero las flores se mantienen libres de la infección.

En México, las especies que atacan el cultivo de crisantemo son *Alternaria alternata* y *A. tenuissima*. Los síntomas que presentan son manchas de 1 a 2 cm, de forma redondas a ovals de color café a negro, algunas con halos y otras con hojas enteras de color amarillo (Figura 4) (Domínguez-Serrano *et al.*, 2016). Para que *A. alternata* infecte, se requiere temperatura mínima de 18-21 °C y máxima de 26-31 °C, con humedad relativa del 60 al 90 % durante la mañana y de 44-86 % por la tarde (Arun Kumar *et al.*, 2011).



Figura 4. Síntomas de *Alternaria* spp. en el haz en una hoja de crisantemo. (Fuente: Domínguez-Serrano, 2012).

2.4.5. *Puccinia chrysanthemi* (roya café)

La roya café es usualmente de menor importancia en las plantaciones de crisantemo, ocasionalmente causa serios problemas de defoliación y de estética. El primer reporte de la roya café fue en Inglaterra en 1897, aunque es probable que se haya presentado antes. La enfermedad fue reportada en los Estados Unidos al mismo tiempo que fue observada en toda Europa. Ahora esta aparentemente presente en todos los lugares donde se cultiva crisantemo. Presuntamente la roya café estuvo presente y ampliamente distribuida en Japón antes que fuera reportada

en Europa y América, y es asumido que fue transportada a estos lugares en embarcaciones de crisantemos provenientes de Japón (Horst y Nelson, 1997; Demers *et al.*, 2015).

2.4.5.1. Clasificación taxonómica de *P. chrysanthemi*

De acuerdo con Kirk (2019), *P. chrysanthemi* se ubica en la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Fungi

Filo: Basidiomycota

Clase: Pucciniomycetes

Orden: Pucciniales

Familia: Pucciniaceae

Género: *Puccinia*

Especie: *P. chrysanthemi*

2.4.5.2. Síntomas

La roya café es causada por *P. chrysanthemi*, estructuras como las picneas y aecias se desconocen. Las uredias son de color café claro y pueden estar dispersas o en racimos. Las urediosporas son globosas o elipsoides, equinuladas y de color café. Las telias contienen teliosporas café oscuro, oblongas a elipsoides, bicelulares, redondeadas y engrosadas en la punta (Horst y Nelson, 1997; Demers *et al.*, 2015).

Los síntomas aparecen como manchas de color amarillo pálido visibles en ambos lados de las hojas, posteriormente se tornan de un color café oscuro lo que da la pauta para la formación de pústulas en el envés de las hojas, conforme avanza la enfermedad se forman anillos de pústulas secundarias alrededor de la pústula original (Figura 5). Esas pústulas son llamadas uredias, las esporas que producen son las urediosporas. La parte central de la hoja en la que se encuentra la pústula muere y se torna de color café a negro. Eventualmente las hojas afectadas se marchitan. Las flores también pueden presentar daños, pero las infecciones al tallo no han sido observadas. *Puccinia chrysanthemi* está muy distribuida, pero las pérdidas son menores a comparación con *Puccinia horiana* (Horst y Nelson 1997; Demers *et al.*, 2015).



Figura 5. Síntomas de *Puccinia chrysanthemi* en el envés de una hoja de crisantemo. (Fuente: Horst y Nelson, 1997).

2.4.5.3. Ciclo biológico

La penetración por *P. chrysanthemi* ocurre a través de los estomas de las hojas. Las manchas de color amarillo aparecen en un periodo de 10 días después de la infección, las plantas infectadas dispersan las urediosporas procedentes de uredias jóvenes, lo cual ocurre principalmente a través del viento. Las urediosporas permanecen viables en las pústulas de hojas infectadas por varios días a temperaturas menores a los 13 °C. El intervalo óptimo de temperatura para la germinación de urediosporas es de 16 a 21 °C. La infección ocurre de 16 a 27 °C, pero no a los 6 o 31 °C. Una lámina de agua sobre el follaje es esencial para la germinación e infección de las esporas (Horst y Nelson, 1997).

2.4.6. *Puccinia horiana* (roya blanca)

La roya blanca del crisantemo es causada por *P. horiana*, fue conocida en Japón desde 1895, pero fue hasta en 1901 que Hennings la describió taxonómicamente. Antes de la década de los sesenta del siglo pasado, la enfermedad se encontraba confinada en China, para el año de 1963 se encontró en Inglaterra en una importación proveniente de Japón; a partir de ese año se diseminó rápidamente, de manera que en la actualidad está presente en todos los continentes: África, América, Asia, Europa y Oceanía (Figura 6) (Firman y Martin, 1968; Whipps, 1993).

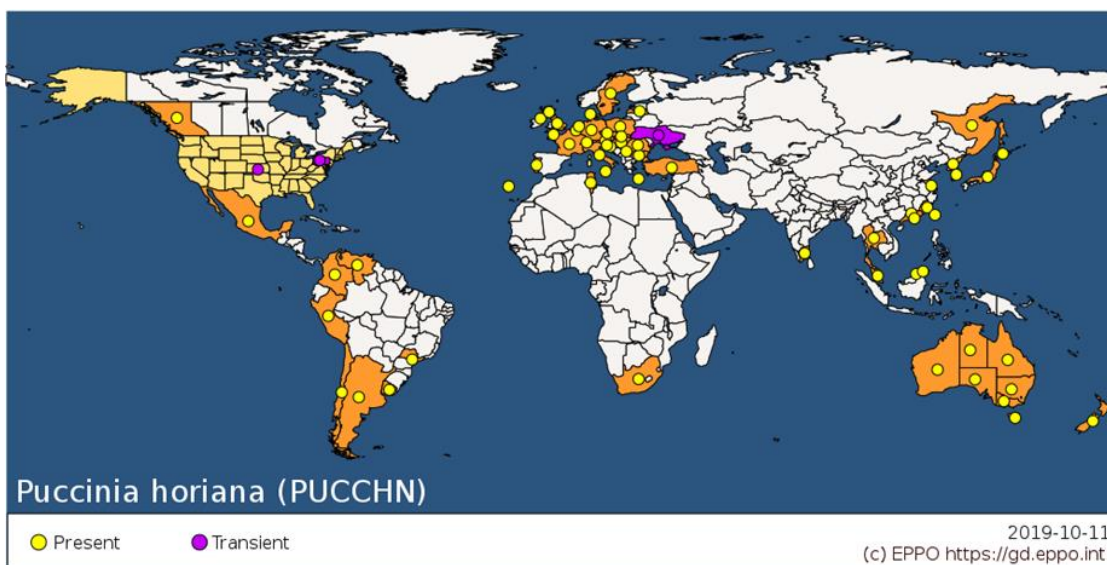


Figura 6. Distribución de *Puccinia horiana* alrededor del mundo. Fuente: EPPO (2019).

Se cree que esta enfermedad ingresó a México debido a las importaciones de esquejes de crisantemo, la enfermedad se detectó oficialmente a finales de 1992 y al año siguiente fue devastadora, ocasionó la pérdida total de 500 ha de cultivo, de acuerdo con reportes de la SARH (SARH, 1994).

Debido a la importancia económica para la floricultura, *P. horiana* está clasificada como una enfermedad cuarentenada por la Organización Europea y Mediterránea de Protección Fitosanitaria (EPPO), el Consejo Fitosanitario Interafricano (IAPSC), la Comunidad Andina (CAN) y la Organización de Protección Vegetal de América del Norte (NAPPO), y también figura como una plaga reglamentada por la Convención Internacional de Protección Fitosanitaria (IPPC) (Torres *et al.*, 2017).

2.4.6.1. Clasificación taxonómica de *Puccinia horiana*

De acuerdo con Kirk (2019), el fitopatógeno se ubica en la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Fungi

Filo: Basidiomycota

Clase: Pucciniomycetes

Orden: Pucciniales

Familia: Pucciniaceae

Género: *Puccinia*

Especie: *P. horiana*

2.4.6.2. Características morfológicas

Puccinia horiana es un parásito obligado, no presenta huésped alternativo y se disemina especialmente en material vegetal vivo, pero sus estructuras pueden ser transportadas por el viento, agua o adheridas a cualquier superficie (Firman y Martin, 1968; Horst y Nelson, 1997; Rojas-Vega, 2004). Este hongo presenta dos tipos de estructuras para su reproducción:

- 1) Teliosporas: estructuras bicelulares, se encuentran fácilmente en las pústulas elevadas, a partir de la cual emerge el basidio y se originan las basidiosporas, el rango de la temperatura necesaria oscila entre los 4 a 23 °C.

- 2) Basidiosporas: son originadas del basidio y requieren humedad relativa de más del 90 % y una película de agua en la superficie de la hoja para poder germinar. La germinación de las basidiosporas ocurre a humedad relativa del 96 % y temperatura de 4 a 23 °C con una óptima de 17 °C. Las basidiosporas son muy sensibles a la desecación y a la humedad relativa por debajo del 90 %.

2.4.6.3. Síntomas

Los síntomas de esta enfermedad aparecen en el haz de las hojas donde se observan lesiones pequeñas hundidas ligeramente, de color verde claro a amarillo, pueden alcanzar aproximadamente 5 mm de diámetro. Conforme avanza la enfermedad el centro de las manchas se tornan color café y después se necrosan. En el envés de las hojas se forman pústulas de color blanco con tinte rosado, donde se desarrollan las teliosporas con apariencia de cojinetes y consistencia cerosa; el color cambia de blanco a amarillento y posteriormente a café claro (Figura 7). Las teliosporas germinan en el mismo sitio (pústula) formando un basidio del cual se originan de 2 a 4 basidiosporas. Las hojas afectadas se marchitan, cuelgan del tallo y se secan (Firman y Martin, 1968; Rodríguez-Navarro *et al.*, 1996; Horst y Nelson, 1997; Leyva-Mir *et al.*, 2001; Rojas-Vega, 2004).

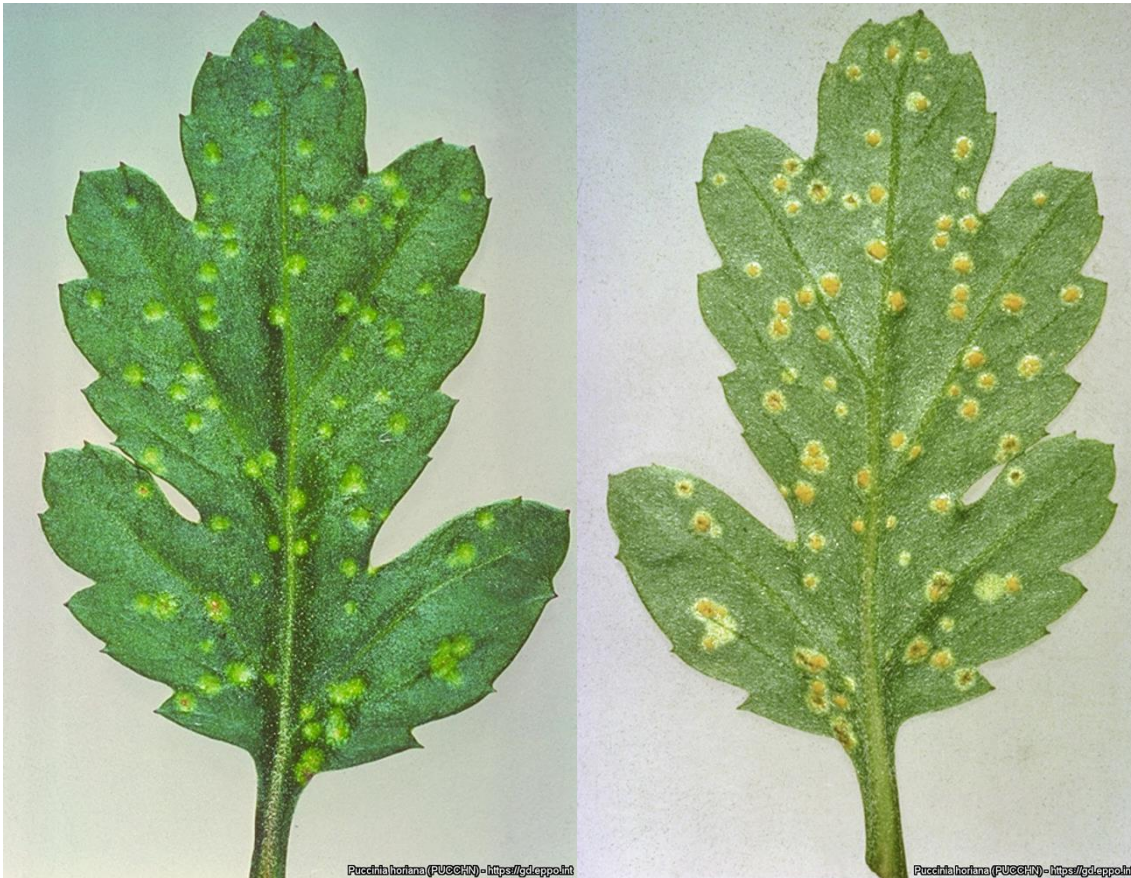


Figura 7. Síntomas de *Puccinia horiana* en el haz y en el envés de una hoja de crisantemo. (Fuente: EPPO, 2019).

2.4.6.4. Ciclo biológico

Las teliosporas de *P. horiana* germinan *in situ* sin tener un período de dormancia; estas producen un basidio en donde se forman las basidiosporas, las cuales al madurar se desprenden y al ser diseminadas por el viento pueden llegar a hojas sanas de crisantemo, penetrar a través de estomas y causar infección donde se desarrollan los síntomas y signos de la enfermedad. El ciclo se repite mientras el hospedante y las condiciones del medio sean las apropiadas (Figura 8) (García-Velasco, 2005).

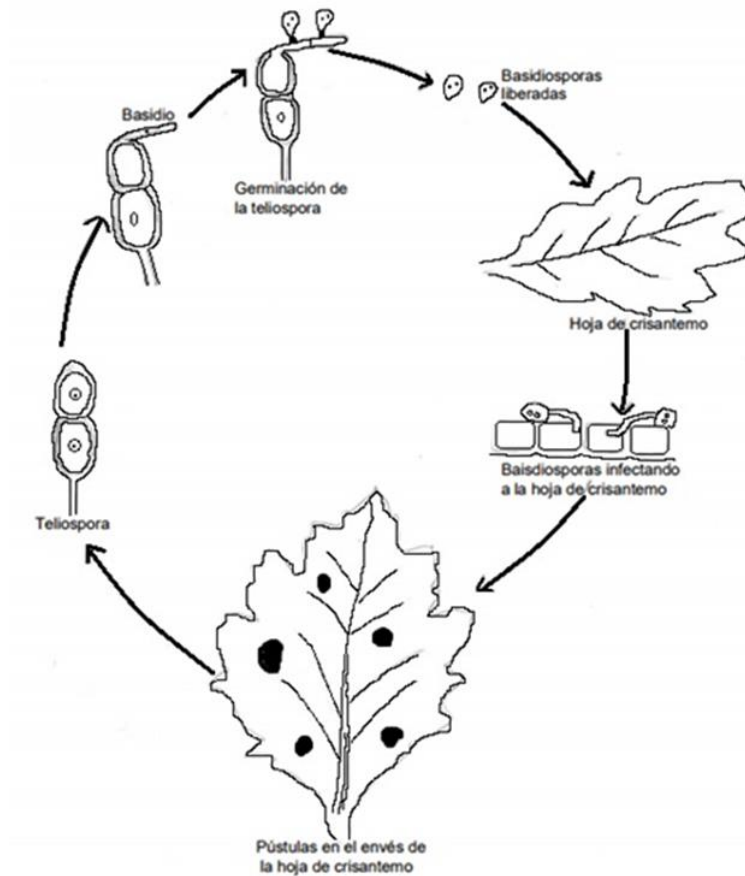


Figura 8. Ciclo biológico de la roya blanca del crisantemo causada por *Puccinia horiana* (Fuente: García-Velasco, 2005).

2.5. Métodos de manejo de *Puccinia horiana*

Entre los métodos utilizados para manejar a esta enfermedad se encuentra el químico, siendo el más utilizado; también se encuentran las prácticas culturales y por último, pero no menos importante, se encuentra el manejo biológico.

2.5.1. Manejo químico

El manejo de la roya blanca del crisantemo se basa en gran parte en el uso de productos químicos sintéticos; no obstante, este método puede no ser efectivo por

los casos de resistencia del patógeno a estos productos (Abiko *et al.*, 1977; Cook, 2001). Entre los ingredientes activos utilizados se encuentran:

- Clorothalonil (multisitio): inhibe la respiración de las células del hongo.
- Mancozeb (multisitio): impide la actividad de las enzimas sulfhidrúlicas en general y de la cisteína en particular formando complejos con enzimas que contienen metales como las que intervienen en la producción del ATP.
- Metconazole (G3): su acción es mediante la inhibición del ergosterol.
- Myclobutanil (G3): actúa impidiendo la biosíntesis de los ergosteroles de los hongos o sustancias presentes en las membranas de las células en donde regulan los intercambios entre el medio ambiente y el interior.
- Propiconazole (G3): impide la biosíntesis del ergosterol por inhibición de la C14 desmetilación de los esteroides.
- Tebuconazole (G3): influye sobre el proceso de la biosíntesis del ergosterol en los hongos patógenos impidiendo la formación de las paredes celulares.
- Triadimefon (G3): su acción tóxica se desarrolla principalmente sobre el metabolismo de los lípidos y en particular impidiendo la biosíntesis del ergosterol al inhibir la desmetilación de los esteroides.
- Triticonazole (G3): es un inhibidor de la desmetilación.
- Azoxystrobin (G11): pertenece al grupo de las estrobilurinas, inhibe la respiración mitocondrial en las células de los patógenos deteniendo la transferencia de electrones entre el citocromo b al c1, en el sitio de oxidación del ubiquinol, causando la no formación de ATP que es la fuente de energía para el trabajo celular.

- Fluoxastrobin (G11): impide el transporte de electrones en el complejo 3 entre los citocromos b y c1 en la cadena respiratoria de las mitocondrias.
- Trifloxystrobin (G11): se caracteriza por su efecto mesostémico, es decir, por ser absorbido en la capa cerosa actuando como protectante de la cutícula y por su redistribución en la hoja (De liñan, 2012; Palmer *et al.*, 2015; FRAC, 2020).

En un estudio realizado por Grouet y Allaire (1973; citado por García-Velasco, 2005), se detectó que el fungicida oxycarboxin era efectivo a concentraciones de 750-1000 ppm; por su parte, Abiko *et al.* (1977) reportaron en Japón siete aislamientos tolerantes a dicho fungicida; ya que, en comparación con aislamientos sensibles, se requirieron concentraciones 5 a 10 veces más altas para inhibir la germinación de teliosporas y de 10 a 20 veces más para la formación de basidiosporas.

En el año 2000, en Cambridgeshire y el Oeste de Sussex en Reino Unido, no presentaron efectividad contra este patógeno propiconazole, myclobutanil y azoxystrobin, los aislamientos fueron confirmados como tolerantes al propiconazole a 100 mg i. a. L⁻¹ y a estrobilurina a 100 y 500 mg i. a. L⁻¹; mientras que el aislamiento sensible fue controlado a estas concentraciones (Cook, 2001).

2.5.2. Prácticas culturales

Otra alternativa para el manejo del patógeno es el uso de material propagativo libre de la enfermedad, tratamiento del sustrato con vapor, colecta y eliminación de material enfermo para reducir la cantidad de inóculo (Tlapal, 2002). En un estudio

realizado por Rodríguez-Navarro *et al.* (1996) se obtuvieron resultados favorables en la reducción de la severidad al utilizar sales inorgánicas como lo son: el sulfato de cobre que tuvo una reducción en la severidad del 84.5 %, bicarbonato de potasio con el 82 % y el bicarbonato de sodio con una reducción del 67 %. Además, se utilizó una cubierta epidermal que tuvo una disminución del 62 %.

2.5.3. Manejo biológico

Por otro lado, está el uso de agentes de control biológico que tiene gran efectividad. Whipps (1993) observó que *Lecanicillium* (antes *Verticillium*) *lecanii* parasitó el 90 % de las pústulas de *P. horiana*. En otro estudio Rodríguez-Navarro *et al.* (1996) reportaron la disminución de la enfermedad utilizando *L. lecanii*, quien tuvo una disminución respecto al testigo del 53.5 %. Por otra parte, también se encuentra *Cladosporium* spp., del cual García-Velasco *et al.* (2005) reportan que tiene la capacidad de hiperparasitar las pústulas de *P. horiana*, teniendo una efectividad del 84 % de pústulas parasitadas; por otro lado, Rares *et al.* (2014) lograron la disminución en la severidad de *P. horiana* utilizando una cepa de *Trichoderma* sp., con la que disminuyó la severidad en 43.06 % respecto al testigo.

2.6. *Trichoderma* spp.

Las especies del género *Trichoderma* son agentes de control biológico de varios patógenos del suelo y foliares. Poseen diferentes mecanismos de acción que emplean de manera directa como micoparasitismo y antibiosis (Howell, 2003; Vinale, 2008). También destaca por su capacidad de mejorar el crecimiento de las

plantas (Samuels, 1996; Yedidia *et al.*, 2003) e inducir resistencia sistémica contra fitopatógenos (Yedidia *et al.*, 1999; Yedidia *et al.*, 2003; Howell, 2003; Vinale, 2008).

Trichoderma presenta micelio ramificado con apariencia de un pequeño árbol, en su micelio se produce un ensanchamiento que toma formas globosas u ovoides, conocidas como clamidosporas; estas son estructuras de supervivencia que toleran condiciones ambientales adversas (Druzhinina *et al.*, 2006).

2.6.1 Clasificación taxonómica

De acuerdo con Kirk (2019) el género *Trichoderma* se ubica en la siguiente clasificación taxonómica:

Reino: Fungi

Filo: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Trichoderma*

2.6.2 Mecanismos de acción

El género *Trichoderma* spp. es utilizado como agente de control biológico debido a las relaciones antagonistas que establece con otros hongos fitopatógenos. Se han reportado mecanismos de acción directos, entre estos: competencia, micoparasitismo y antibiosis; de manera indirecta ha demostrado tener influencia en

la promoción del crecimiento de algunas plantas y en la inducción de resistencia sistémica contra fitopatógenos (Windham *et al.*, 1989; Vinale *et al.*, 2008; Infante *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2013).

2.6.2.1. Competencia

Un factor esencial para que exista la competencia es la escasez o limitación de un requerimiento (espacio, agua, nutrientes), por lo que la competencia puede definirse como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización de los recursos por uno de ellos reduzca la cantidad necesaria para los demás (Martínez *et al.*, 2013). La competencia por nutrientes de *Trichoderma* es principalmente por carbono, nitrato y hierro (Sivan y Chet, 1989). Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente de control biológico como la velocidad de crecimiento y desarrollo, y por factores externos como el pH, tipo de suelo, temperatura y humedad (Martínez *et al.*, 2013).

2.6.2.2. Micoparasitismo

Durante el proceso de micoparasitismo, *Trichoderma* spp. crece quimiótróficamente hacia el micelio del hospedante y se adhiere a las hifas de este, en las que frecuentemente se enrolla y en ocasiones penetra. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en estados tardíos del proceso parasítico que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno (Harman *et al.*, 2004). Sus etapas son:

- a) Reconocimiento

Las cepas de *Trichoderma* spp. detectan a otros hongos y crecen quimiotróficamente hacia ellos, la detección se debe parcialmente a la expresión secuencial de enzimas que degradan la pared celular (Harman *et al.*, 2004).

b) Adhesión y enrollamiento

Cuando la respuesta de reconocimiento es positiva, las hifas de *Trichoderma* spp. se adhieren a las del hospedante mediante la formación de estructuras parecidas a ganchos que se enrollan alrededor de estas. El ataque es mediante la unión de carbohidratos de la pared celular de *Trichoderma* spp. a lectinas en el hospedante (Inbar *et al.*, 1996; Harman *et al.*, 2004).

c) Actividad lítica

En esta etapa ocurre la producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del hospedante y posibilitan la penetración de las hifas del antagonista (Küçük y Kivanç, 2004).

2.6.2.3. Antibiosis

Trichoderma produce gran cantidad de metabolitos secundarios con efectividad biológica (Sivasithamparam y Ghisalberti, 1998). El término "metabolito secundario" incluye un término heterogéneo de un grupo de compuestos naturales químicamente diferentes, posiblemente relacionado con las funciones de supervivencia para el organismo que lo produce, como la competencia contra otros micro y macroorganismos, simbiosis, transporte de metales, diferenciación, etc. (Demain y Fang, 2000).

Ghisalberti *et al.* (1990) demostraron la eficacia de biocontrol de aislados de *T. harzianum* frente a *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* (mal de pie del trigo), por la producción de antibióticos tipo pirona. La producción de metabolitos secundarios por *Trichoderma* spp. depende de la especie e incluye antifúngicos, sustancias que pertenecen a una variedad de clases de compuestos químicos y estos fueron clasificados por Ghisalberti y Sivasithamparam (1991) en tres categorías:

- 1) Antibióticos volátiles: 6-pentyl-a-pirona (6PP) y la mayoría de los derivados de isocianuro.
- 2) Compuestos solubles en agua: ácido heptelídico o ácido konónico.
- 3) Antibióticos peptídicos como lo son los oligopéptidos lineales de aminoácidos 12-22 ricos en ácido α -aminoisobutírico, N-acetilado en el extremo N-terminal y que contiene un amino alcohol.

Las estructuras químicas de los antibióticos de *Trichoderma* spp. pueden deberse a dos mecanismos de acción: 1. La producción de compuestos volátiles no polares de bajo peso molecular, que dan como resultado alta concentración de antibióticos en el suelo con influencia en la población microbiana a larga distancia; y 2. El efecto de corta distancia, que puede deberse a los antibióticos polares y los antibióticos peptídicos que actúan cerca de las hifas productoras (Vinale *et al.*, 2008).

2.6.2.4. Estimulación de crecimiento vegetal

Trichoderma spp. tiene la capacidad de colonizar la superficie de las raíces induciendo un mejor desarrollo del sistema radicular, incrementando la

disponibilidad y solubilización de nutrientes. Lo anterior trae consigo, cambios sustanciales en el metabolismo de los tejidos de las plantas que conlleva a mejorar su desarrollo y productividad (Benítez *et al.*, 2004; Harman *et al.*, 2004; Vinale *et al.*, 2008).

Otros de los medios por los que estimula el crecimiento vegetal, se debe a su capacidad de multiplicarse en el suelo y adherirse a las raíces de las plantas para liberar hormonas como auxinas, giberelinas y citoquininas, las cuales inducen el desarrollo y crecimiento (Vera *et al.*, 2002).

Cubillos *et al.* (2009) evaluaron una cepa comercial y una nativa de *T. harzianum* en semillas y plantas de maracuyá, entre los resultados encontraron que la cepa nativa presentó los mejores resultados frente al testigo en variables como: longitud de tallo (63.44 %), grosor de tallo (33.33 %), número de hojas verdaderas (70 %), longitud de raíz (89.33 %) y peso seco total (125). Por su parte Candelero *et al.* (2015) reportaron la efectividad de 13 cepas de *Trichoderma* spp. y una especie de *T. harzianum*, en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq. en las variables de altura (125 %), peso seco (88 %), longitud de raíz (41 %), volumen radical (550 %) y biomasa de raíz (166 %).

En un estudio, Valencia y Arbeláez (1999) realizaron aplicaciones de *Trichoderma* sp. en plantas de crisantemo y observaron un aumento del 77 % en el crecimiento de las plantas inoculadas. Mientras que Chávez-García (2006) evaluó el efecto de *Trichoderma* sp., en plántulas de crisantemo el cual tuvo diferencias estadísticas respecto al testigo en las variables: peso fresco foliar (65 %), peso seco foliar (34

%), longitud foliar (14 %), peso fresco radicular (12 %) y altura de la planta (12 %). Por su parte, Prassana *et al.* (2016) evaluaron una cepa de *Trichoderma* sp. en dos variedades de crisantemo, en las cuales obtuvieron incrementos notables, respecto al testigo, en las variables de peso fresco (170 %) y peso seco (230 %).

2.6.2.5. Inducción de resistencia

Las plantas son resistentes a la mayoría de los microorganismos patógenos a través de la inmunidad innata; además de que poseen gran cantidad de defensas activas, que pueden expresarse en respuesta a estrés biótico. El mecanismo de defensa puede ocurrir localmente en el sitio de la infección o puede ser sistémico (Gozzo, 2003; Devendra *et al.*, 2007; Coninck *et al.*, 2015).

La inducción de la resistencia en las plantas se presenta al activarse una serie de mecanismos cuyo objetivo es defender, disminuir o contrarrestar una infección, ya sea por el ataque de microorganismos patógenos, daño físico debido a insectos u otros factores, tratamiento con diversos inductores químicos y la presencia de rizobacterias no patógenas. Se han registrado diversos avances en el conocimiento de las vías involucradas en esta resistencia; en muchos casos el ácido salicílico o el ácido jasmónico, junto con el etileno u óxido nitroso, inducen una cascada de eventos que conducen a la producción de gran variedad de metabolitos y proteínas con diversas funciones (Howell, 2003; Harman *et al.*, 2004; Vinale *et al.*, 2008).

La inducción de resistencia incluye la activación de enzimas hidrolíticas como las glucanasas, quitinasas y enzimas oxidoreductoras como las peroxidasas (Yedidia *et al.*, 2003; Harman *et al.*, 2004; Vinale *et al.*, 2008). Las glucanasas y quitinasas

son enzimas que degradan la pared celular de hongos y las peroxidasa son enzimas fundamentales para el fortalecimiento de la pared celular (Yedidia *et al.*, 1999).

Las plantas pueden activar su resistencia sistémica de dos maneras: resistencia sistémica adquirida (SAR) e inducción de resistencia sistémica (ISR). Las plantas emplean la respuesta SAR para restringir la expansión de patógenos en tejidos al inducir necrosis en el sitio local tras la infección primaria (Durrant y Dong 2004; Glazebrook, 2005; Zipfel, 2014), la cual se caracteriza por la activación de genes relacionados con ácido salicílico (SA) y proteínas relacionadas con la patogénesis (Van Loon y Van Strien 1999). En cuanto a ISR esta respuesta no causa la acumulación de proteínas relacionadas a la patogénesis, tampoco ácido salicílico, sino que se utilizan las vías reguladas por el ácido jasmonico y el etileno (Valland y Goodman, 2004).

Sobre la inducción de resistencia. Ezziyyani *et al.* (2005), observaron que el tratamiento con *T. harzianum* en las raíces de pimiento produce una reacción sistémica en las hojas que induce la producción de proteínas relacionadas con la patogénesis con actividad de peroxidasa. Por su parte, Yoshioka *et al.* (2011), reportaron que el tratamiento con *T. asperellum* en el sustrato provoca una respuesta sistémica en plantas de *Arabidopsis thaliana* contra la mancha bacteriana de la hoja ocasionada por *Pseudomonas syringae* pv. *tomato*. Guzmán-Valle (2012) reportó que la aplicación *T. asperellum* en plantas de cebolla (*Allium cepa* L.) indujo respuesta sistémica en las hojas al incrementar la actividad enzimática, además de inducir una resistencia local en bulbos y raíces. Por su parte, Vitti *et al.* (2016)

demonstraron que *T. harzianum* (T-22) induce resistencia sistémica en plantas de tomate (*Solanum lycopersicum* var. *cerasiforme* cv. Cherry) infectadas por el virus del mosaico del pepino (CMV) al incrementar los niveles de ácido jasmónico, etileno y ácido salicílico en hojas como en la raíz.

3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de plantas en maceta es de gran importancia económica en el centro del país, ya que genera una derrama económica significativa, siendo principalmente San Lorenzo Tlacotepec, Atlacomulco, Estado de México, donde se concentra la mayor actividad en el estado. Uno de los cultivos con mayor demanda es el crisantemo, ya que se produce durante todo el año, pero es susceptible al hongo *Puccinia horiana*, agente causal de la enfermedad conocida como roya blanca. El manejo del fitopatógeno se basa principalmente en el uso de fungicidas químicos, lo cual ha traído repercusiones negativas al ambiente y a la salud de las personas que los manipulan; además, se han reportado casos de resistencia.

Por lo anterior, es necesario investigar alternativas para el manejo de la enfermedad, tal es el caso de agentes de control biológico que han demostrado tener efectividad como *Trichoderma* spp. Por ende, este trabajo tiene por objetivos: Determinar la incidencia y la severidad de *Puccinia horiana* en crisantemo var. Delano y la estimulación de crecimiento vegetal por efecto de *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma barbatum*.

4. HIPÓTESIS

La inoculación de *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma barbatum* en plantas de crisantemo var. Delano disminuirá la incidencia y severidad de *Puccinia horiana* y estimulará el crecimiento vegetativo.

5. OBJETIVOS

5.1 Objetivo General

Determinar la incidencia y la severidad de *Puccinia horiana* en crisantemo var. Delano y la respuesta en el crecimiento vegetal por efecto de *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma barbatum*.

5.2 Objetivos específicos

Determinar la efectividad de *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma barbatum* en la incidencia y severidad de *Puccinia horiana* en plantas de crisantemo var. Delano.

Determinar el efecto de *Trichoderma asperellum* y *Trichoderma barbatum* en el crecimiento vegetativo de plantas de crisantemo var. Delano.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente trabajo se realizó en el laboratorio de fitopatología del Centro Universitario Tenancingo-Universidad Autónoma del Estado de México (UAEM), ubicado en la carretera Tenancingo-Villa Guerrero Km. 1.5, C. P. 52400, Tenancingo, Estado de México, México.

6.1. Cepas de *Trichoderma* spp.

Se utilizaron dos cepas de *Trichoderma* Cut-B y SS2, cuyas especies corresponden a *T. asperellum* y *T. barbatum*, respectivamente; ambas fueron aisladas del municipio de Tenancingo, Estado de México, *T. barbatum* se obtuvo de un suelo forestal y *T. asperellum* de un suelo cultivado con rosa (Alonso-Bahena *et al.*, 2018). Las dos cepas se caracterizaron por tener un crecimiento rápido, habilidad competitiva alta y actividad antagónica *in vitro* contra *Rosellinia necatrix* Berl. ex Prill, *Verticillium dahliae* Kleb y *Botrytis cinerea* Pers (Alonso-Bahena, 2020).

Las cepas se cultivaron en medio de cultivo papa, dextrosa y agar (PDA, marca Bioxon®), el cual fue preparado como se indica a continuación: se utilizaron 39 g que fueron mezclados en 1 L de agua destilada, enseguida se esterilizó en una olla de presión (All American®) durante 15 minutos a 121 ° C, con presión de 20 psi. Una vez estéril, se vació en cajas de Petri de cristal (Kimax®) estériles bajo condiciones de asepsia en una campana de flujo laminar (Scorpion Scientific®).

Una vez gelificado el medio de cultivo se realizó la siembra de *T. asperellum* y *T. barbatum*; para esto se utilizó una aguja de disección con la que se hicieron

pequeños cortes circulares al medio de cultivo con esporas que fueron colocados en las cajas de Petri con el medio PDA. Al finalizar, las cajas se sellaron con plástico auto adherente y se incubaron bajo condiciones de laboratorio a temperatura de 20 ± 2 °C.

6.2. Plantas de crisantemo

Se utilizaron esquejes enraizados de crisantemo var. Delano de aproximadamente dos semanas de edad, los cuales se obtuvieron de la empresa Plántulas de Tetela S. de R. L de C. V. Cabe destacar que dicha variedad es utilizada para su siembra en el rubro de la macetería en San Lorenzo Tlacotepec, Atlacomulco. De acuerdo la National Chrysanthemum Society, USA (2017), el tipo de capítulo pertenece al grupo de las decorativas, es de color morado, tiene un diámetro de aproximadamente 12 cm, con tiempo de respuesta a floración de 8 semanas (Figura 9) (VandenBerg, 1989).



Figura 9. Capítulo de crisantemo var. Delano

6.3. Plantación

Para la plantación se utilizó como sustrato peat moss mezclado con agrolita en proporción 2:1, el cual se esterilizó en una olla de presión durante una hora, dos veces consecutivas. Una vez esterilizado, se llevó a cabo la plantación en vasos de unicel de 8 onzas (236.5 mL). Las plantas se mantuvieron en una cámara de crecimiento de plantas (Thermo Scientific®).

6.4. Manejo de las plantas de crisantemo

Las plantas de crisantemo se colocaron en una cámara de crecimiento en donde se mantuvieron las siguientes condiciones: temperatura de 21 °C, humedad relativa del 70 % al 90 % y fotoperiodo de 9 horas luz por 15 horas oscuridad. Las plantas se regaron cada tercer día. Diecisiete días después del trasplante se realizó una fertilización, adicionando al sustrato de cada planta 0.5 g de la fórmula 12-12-12 de manera granular.

6.5. Inoculación de *Trichoderma* spp.

Se utilizaron las especies de *Trichoderma asperellum* y *T. barbatum* crecidas en medio de cultivo PDA de 15 días de edad, a partir de las cuales se realizó una suspensión de conidios; para esto, primeramente se agregaron 20 mL de agua destilada estéril en la caja de Petri de la respectiva especie y con una varilla de aluminio se agitó suavemente la superficie de la colonia para liberar conidios, enseguida con una pipeta serológica se recuperó la suspensión y se colocó en un vaso de precipitado de 500 mL, teniendo la precaución de evitar tomar trozos del

medio PDA, este proceso se repitió con otras cajas con crecimiento de *Trichoderma* spp., hasta que se obtuvo la mayor cantidad de suspensión de conidios.

La suspensión se mantuvo en una parrilla de agitación (Cimarec®) durante 20 minutos. Posteriormente, con una cámara de Neubauer (Marienfeld®) se determinó la concentración de conidios por mL.

A partir de la suspensión se inocularon al sustrato de manera independiente por cada especie, 10^7 conidios por planta (aproximadamente de 3-3.5 mL de suspensión) en tres momentos: 1) al momento del trasplante; 2) 15 días después del trasplante; y 3) 30 días después del trasplante. El testigo consistió en plantas sin inocular a las que se les adicionó agua destilada estéril.

6.6. Incorporación de la fuente de inóculo (*Puccinia horiana*)

Quince días después de la plantación y posterior a la segunda inoculación de *Trichoderma*, se incorporaron completamente al azar en cada uno de los tres tratamientos cinco plantas de crisantemo con síntomas de *P. horiana*, las cuales fueron infectadas previo al inicio del experimento. Con esta técnica se pretendió tener una fuente de inóculo permanente para que, una vez que se produjeran las condiciones, se desarrollara la infección. Por otro lado, con la finalidad de registrar el momento en el que se presentaron los síntomas, así como la incidencia de la enfermedad a través del tiempo, las plantas fueron revisadas cada dos días después de la incorporación de la fuente de inóculo (ddi) (Figura 10).

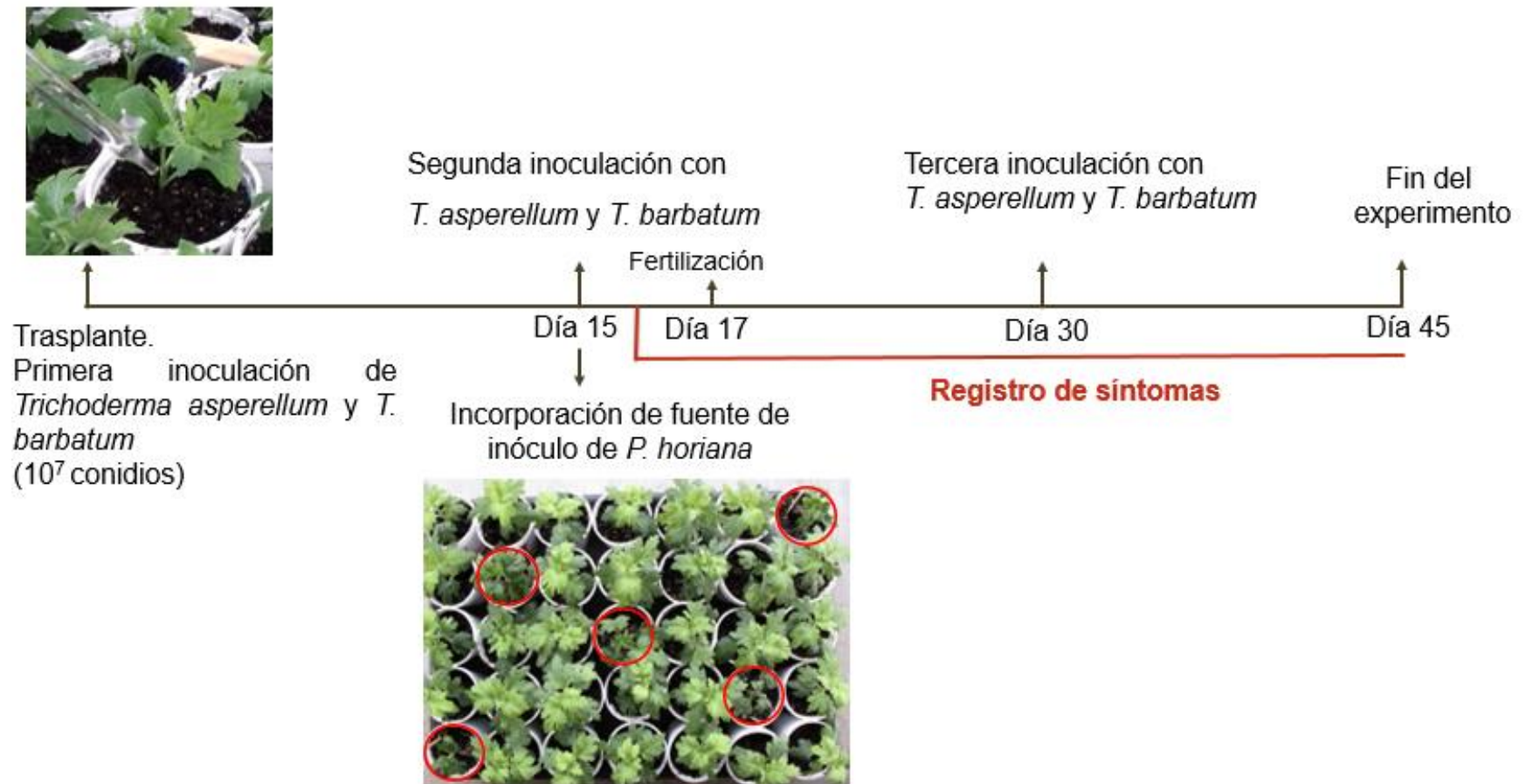


Figura 10. Línea de tiempo del establecimiento del experimento y las actividades de inoculación de *Trichoderma* spp., incorporación de la fuente de inóculo (*Puccinia horiana*) y fertilización.

6.7. Variables evaluadas

La efectividad de *T. barbatum* y *T. asperellum* como inductores de resistencia sistémica contra *P. horiana* en plantas de crisantemo, se determinó por medio del registro de la incidencia de la enfermedad y del índice de severidad. Por otro lado, la estimulación de crecimiento vegetal se determinó considerando: altura de las plantas, número de hojas, diámetro de tallo, peso fresco y peso seco del follaje. El procedimiento para cada variable fue el siguiente:

1. Incidencia de la roya blanca: se llevó a cabo por medio de la revisión de las plantas cada dos días a partir del día posterior a la incorporación de la fuente de inóculo, para tal fin se registró el número de plantas que presentaban los siguientes síntomas: en el haz de las hojas manchas pequeñas de color verde claro a blanco que posteriormente se tornaron de color amarillo y en el centro de las manchas color café. En el envés formación de manchas blancas, que originaron pústulas color rosa que una vez maduras se tornaron café claro.
2. Índice de severidad: se analizaron 10 hojas por planta, partiendo de las que se encontraban en la parte superior de la planta y en sentido descendente. De cada hoja se determinó la severidad con el apoyo de la escala diagramática propuesta por Jaraba *et al.* (1999) (Obtenido de Nieto-Ángel *et al.*, 2001) (Figura 11), la cual consta de 7 clases, donde: 0 corresponde a hoja sana y 6 corresponde a una hoja con más de un tercio de su superficie con manchas producidas por *P. horiana* (26.47 % - 33.86 %). Los datos obtenidos se transformaron a índice de severidad por medio de la fórmula:

$$IS = \frac{\sum_{i=1}^k X_{ki} * N_{ki}}{N_j}$$

Donde:

IS = Índice de severidad

X_{ki} = Nivel de daño en el momento i (0-7)

N_{ki} = Número de plantas con daño en el momento i

N_j = Número total de plantas evaluadas

3. Altura de las plantas: se determinó con una regla midiendo a partir de la corona hasta el ápice de la planta.
4. Número de hojas: se obtuvo contabilizando la totalidad de estas en cada planta; se consideraron aquellas hojas cuyo tamaño mínimo fue de 1.7 cm de largo.
5. Diámetro de tallo: se determinó con un vernier digital (Mitutoyo®) tomando la medida en la parte media del tallo.
6. Peso fresco del follaje: para esto se separó la parte aérea (a partir de la corona) de la raíz; la variable se determinó con el uso de una balanza analítica (BOECO®).
7. Peso seco del follaje: se obtuvo posterior al mantenimiento de las plantas en una cámara de secado (Felisa®) a 70 °C; para lo cual, diariamente se pesaron tres plantas por tratamiento y en el momento que el peso fue constante se tomaron los datos pesando las plantas en una balanza analítica.

6.8. Diseño experimental y análisis estadístico

Se estableció un diseño experimental completamente al azar con tres tratamientos y 30 repeticiones cada uno. Los datos se sometieron a un análisis de varianza de una vía y comparación de medias Tukey ($P > 0.05$) con el programa Info Stat, versión estudiantil (Di Rienzo *et al.*, 2017).

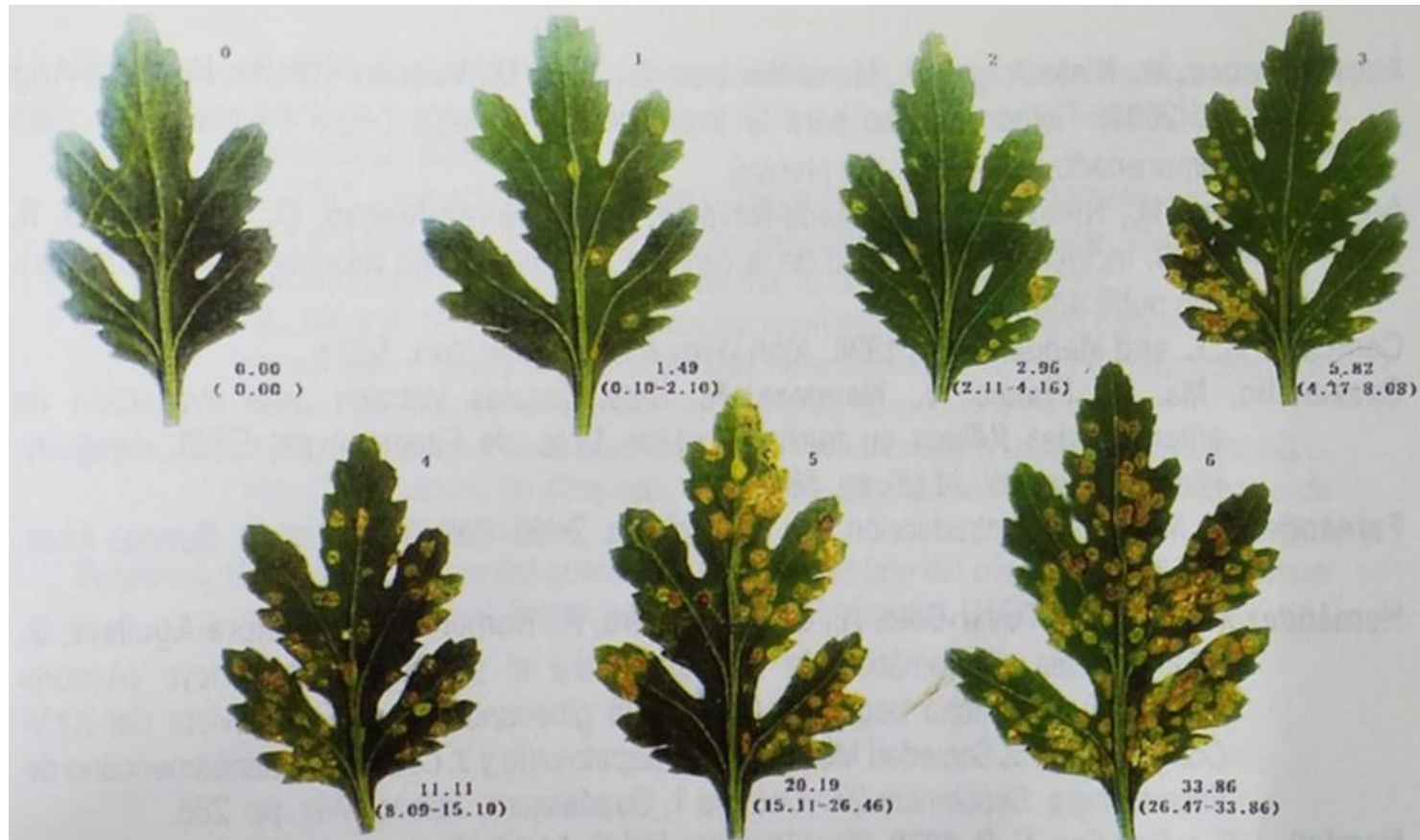


Figura 11. Escala diagramática para la evaluación de la severidad de *Puccinia horiana* en crisantemo (Jaraba *et al.*, 1999) (Obtenido de Nieto-Ángel *et al.*, 2001).

7. RESULTADOS

7.1. Síntomas ocasionados por *Puccinia horiana* en plantas de crisantemo var. Delano

Los síntomas iniciales se presentaron en hojas jóvenes. En el haz se manifestaron pequeñas manchas de color verde claro a blanco (Figura 12); conforme avanzó el tiempo las manchas aumentaron de tamaño (Figura 13) y posteriormente el centro de estas se tornó de color café (Figura 14). En el envés se formaron manchas blancas, las cuales dieron origen a pústulas color rosa que conforme maduraron se tornaron café claro (Figura 15).



Figura 12. Síntomas iniciales de roya blanca en el haz de las hojas de crisantemo, var. Delano de las plantas testigo a los 17 días después de la incorporación de la fuente de inóculo.



Figura 13. Síntomas de roya blanca en hojas de crisantemo var. Delano de las plantas testigo, a los 21 días después de la incorporación de la fuente de inóculo.



Figura 14. Síntomas avanzados de roya blanca en el haz de las hojas de crisantemo var. Delano en plantas testigo a los 30 días después de la incorporación de la fuente de inóculo.



Figura 15. Pústulas de roya blanca en el envés de las hojas de crisantemo var. Delano en plantas del testigo a los 30 días después de la incorporación de la fuente de inóculo.

7.2. Incidencia de roya blanca en plantas de crisantemo

En todos los tratamientos los primeros síntomas de roya blanca se manifestaron a partir de los 17 ddi. En el caso del testigo, el número de plantas enfermas hasta los 21 días presentó un crecimiento tipo exponencial, y en las inoculadas con *Trichoderma barbatum* y *T. asperellum* hasta los 25 días tiene semejanza con una curva monomolecular. La cinética de la enfermedad fue diferente entre los tratamientos en los que se inoculó *Trichoderma* spp. y el testigo, siendo este último el que presentó la mayor incidencia al término del periodo de evaluación (46 días) (Figura 11).

En el testigo, a los 17 ddi el 13 % de las plantas manifestaron síntomas, a los 19 ddi el número de plantas enfermas aumentó exponencialmente a 86.7 % y a los 21 ddi el 96.6 % presentaron la enfermedad; a partir de este momento el progreso de la enfermedad se detuvo (Figura 17).

En las plantas inoculadas con *T. barbatum* a los 17 ddi la incidencia fue de 3 %, a los 19 ddi se incrementó a 37 % y a los 21 ddi el 47 % presentaba la enfermedad; el avance de la enfermedad se detuvo a los 25 ddi, momento en el que 50 % de las plantas presentaron síntomas. Por su parte, en las plantas inoculadas con *T. asperellum* a los 17 ddi la incidencia fue mayor que en las inoculadas con *T. barbatum* ya que el 17 % de las plantas presentaron algún tipo de síntoma; no obstante, a partir de los 19 ddi el comportamiento fue el mismo (Figura 16).

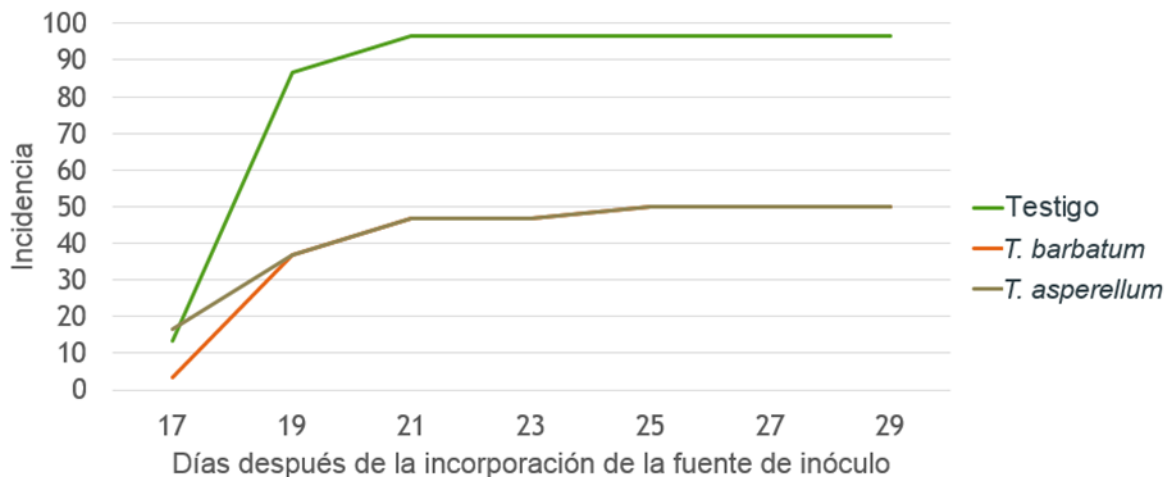


Figura 16. Cinética de la incidencia de roya blanca en plantas de crisantemo var. Delano, sin inocular (testigo) e inoculadas con *Trichoderma barbatum* y *T. asperellum*.

7.3. Índice de severidad

Se presentaron diferencias estadísticas ($P>0.05$) entre el testigo y las plantas inoculadas con *T. barbatum* y *T. asperellum*. En las plantas del testigo se presentó el mayor índice de severidad de roya blanca con una media de 0.35, seguido del tratamiento con *T. asperellum* con una media de 0.09; tales resultados muestran que la inoculación con *T. asperellum* redujo en 75 % el índice de severidad respecto al testigo. En las plantas inoculadas con *T. barbatum*, el promedio de índice de severidad fue de 0.07, siendo este el valor más bajo de los tres tratamientos, con una reducción del índice de severidad del 80 %, respecto al testigo (Cuadro 4, Figura 17).

Cuadro 4. Índice de severidad y porcentaje de reducción del índice de severidad de roya blanca en plantas de crisantemo var. Delano.

Tratamiento	Índice de severidad	Reducción del índice de severidad*
Testigo	0.35 ^a	No aplica
<i>T. barbatum</i>	0.07 ^b	80%
<i>T. asperellum</i>	0.09 ^b	75%

Cifras con diferentes literales indican diferencias estadísticas. Comparación de medias Tukey ($P>0.05$).

*Respecto al testigo.

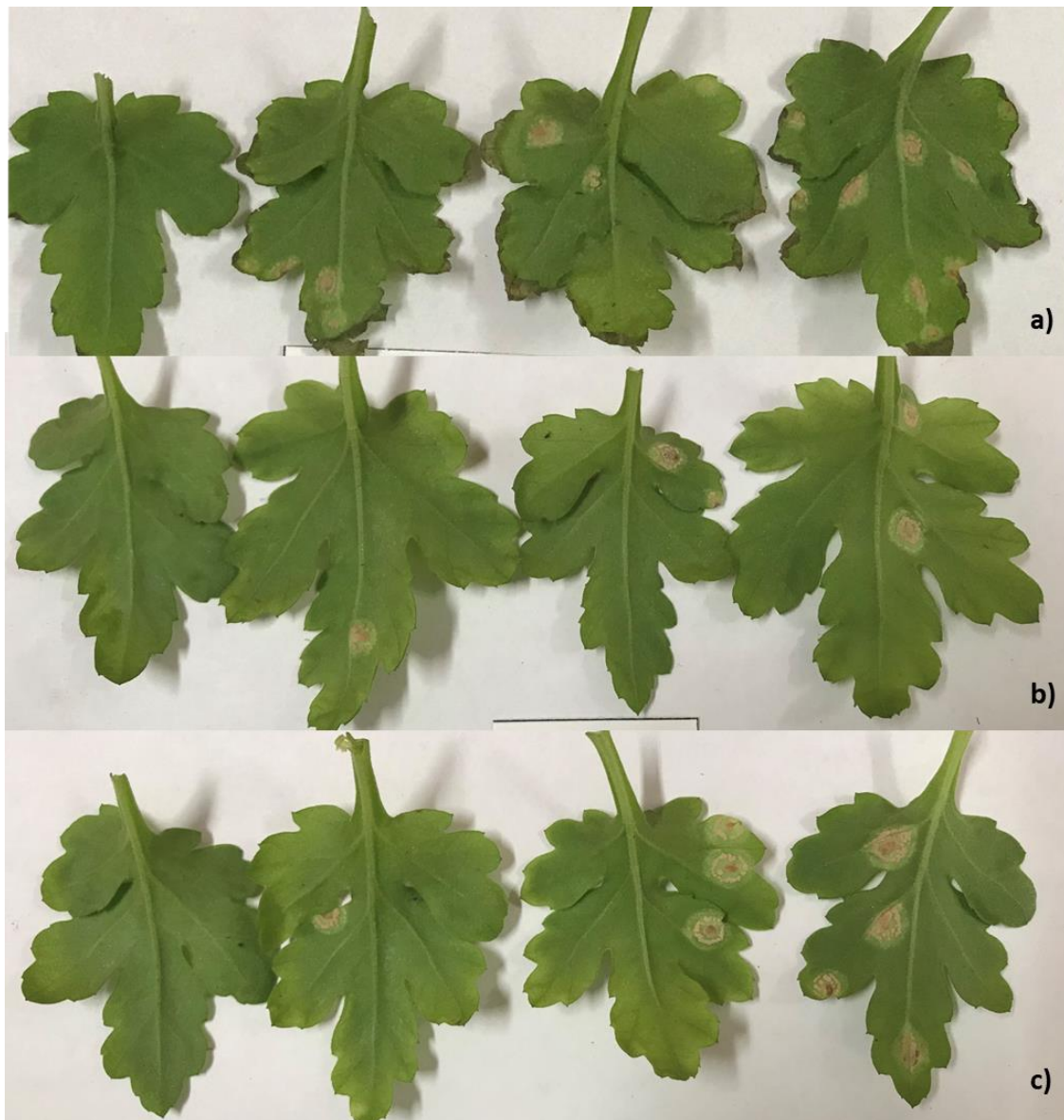


Figura 17. Cinética de la severidad de roya blanca en el envés de hojas de crisantemo var. Delano: a) Testigo; b) *Trichoderma barbatum* y c) *T. asperellum*.

7.4. Estimulación del crecimiento vegetal

A los 46 días después de la primera inoculación con *Trichoderma* spp. se evaluaron las variables de: altura, número de hojas, diámetro de tallo, peso fresco y peso seco del follaje; en las cuales, al someter los resultados al análisis de varianza no hubo

diferencias estadísticas ($P > 0.05$) a excepción del número de hojas. Cabe señalar que, a pesar de esto, en algunas de las variables se observó una tendencia de aumento de los valores cuando las plantas se inocularon con *Trichoderma* spp. (Cuadro 5).

Cuadro 5. Altura, número de hojas, diámetro de tallo (cm), peso fresco (g) y peso seco (g) en plantas de crisantemo var. Delano, sin inocular e inoculadas con *Trichoderma barbatum* y *T. asperellum*.

Tratamiento	Altura (cm)	Número de hojas	Diámetro de tallo (cm)	Peso fresco (g)	Peso seco (g)
Testigo	9.32 ^a	13.63 ^a	0.41 ^a	4.32 ^a	0.40 ^a
<i>T. barbatum</i>	10.36 ^a	15.00 ^b	0.43 ^a	4.22 ^a	0.37 ^a
<i>T. asperellum</i>	10.14 ^a	15.37 ^b	0.41 ^a	4.60 ^a	0.39 ^a

Cifras con diferentes literales indican diferencias estadísticas. Comparación de medias Tukey ($P > 0.05$).

La altura fue menor en el testigo en comparación con las plantas inoculadas con *Trichoderma* spp. En este tratamiento la media fue de 9.32 cm, mientras que para el tratamiento con *T. barbatum* fue de 10.36 cm y para las plantas inoculadas con *T. asperellum* de 10.14 cm. De acuerdo con lo anterior, las plantas aumentaron su crecimiento en 11.2 y 8.8 %, respectivamente.

En lo que respecta al número de hojas, la media en el tratamiento testigo fue de 13.63, con *T. barbatum* de 15 y con *T. asperellum* de 15.37, lo que indica un aumento en esta variable con respecto al testigo, de 10.3 y 12.8 %, respectivamente. En cuanto al diámetro de tallo, los tratamientos del testigo y *T.*

asperellum tuvieron una media de 0.41 cm, mientras que con *T. barbatum* fue de 0.43 cm; es decir, 5 % mayor que el testigo.

En el caso del peso fresco se obtuvo que en el tratamiento inoculado con *T. barbatum* las plantas presentaron menor biomasa con 4.22 g, seguido del testigo con 4.32 g, mientras que las plantas del tratamiento con *T. asperellum* se obtuvo una media de 4.60 g. Por último, en la variable de peso seco el testigo presentó el mayor valor de los tres tratamientos con una media de 0.40 g, seguido de *T. asperellum* con 0.39 g y *T. barbatum* con 0.37 g.

8. DISCUSIÓN

Los primeros síntomas de roya blanca en las plantas de crisantemo se observaron en el haz de hojas jóvenes; estos consistieron en pequeñas manchas circulares color verde claro que posteriormente se tornaron a amarillo cuyo centro fue café. En el envés se formaron manchas blancas, las cuales dieron origen a pústulas color rosa que conforme maduraron se tornaron café claro. Tales síntomas fueron similares a los registrados por Rodríguez-Navarro *et al.* (1996), quienes describen manchas de color verde claro a amarillentas en el haz de las hojas, cuyos centros al pasar el tiempo se tornan café y finalmente se necrosan; además, reportan que las pústulas en el envés son de color blanco, circulares y cerosas que posterior a la diseminación de las esporas se tornan de rosado a café.

El fotoperiodo en el que se incubaron las plantas fue de 15 horas oscuridad y 9 horas luz; lo cual, de acuerdo con Vences y Vázquez (2008), es favorecedor para el patógeno, ya que al predominar las horas oscuridad se estimula la infección y en consecuencia es mayor el número de pústulas. En cuanto a la humedad relativa, fue superior al 80 %, con un intervalo de temperatura de 21 a 24 °C, parámetros que de acuerdo a diversos autores, favorecen el desarrollo de la enfermedad; en este sentido, Horst y Nelson (1997) reportan que la temperatura necesaria para que las basidiosporas emerjan de las teliosporas a través del basidio se requiere temperatura entre 4 a 23 °C, siendo la óptima 17 °C; en lo referente a la germinación de las basidiosporas, el proceso se lleva a cabo en 2.5 horas cuando la temperatura se encuentra entre 0 a 30 °C.

En las plantas donde se inoculó *T. asperellum* y *T. barbatum* se presentaron resultados favorables al disminuir la incidencia y severidad de *P. horiana* respecto al testigo. Cabe señalar que la técnica utilizada para que se llevara a cabo la infección de *P. horiana* en las plantas de crisantemo fue eficaz, ya que siendo un patógeno obligado es difícil mantener una fuente activa de dicho patógeno. En lo que respecta a la incidencia, se registró la reducción del 48 % con ambas especies; en cuanto a la severidad, con *T. asperellum* se presentó una reducción del 75 % y con *T. barbatum* 80 %, respecto al testigo. Existen pocos estudios que aborden a *Trichoderma* spp. como alternativa de manejo de *P. horiana* en crisantemo; entre estos se encuentra el estudio de Rares *et al.* (2014), en la ciudad de Tomohon, Indonesia, quienes inocularon una cepa comercial de *Trichoderma* spp.; como resultados registraron disminución de la severidad de la roya blanca en 46 %, respecto al testigo. En contraste con los resultados del presente experimento, las especies nativas estudiadas presentaron mayor efectividad. Con tales resultados es evidente que ambas cepas representan una alternativa viable para manejo de la enfermedad en plantas de crisantemo.

Por otro lado, existen investigaciones donde *Trichoderma* spp. se enfrenta a otro tipo de royas; por ejemplo: en un estudio desarrollado en Egipto por Hamdy *et al.* (2001), se determinó la severidad de *P. recondita* (agente causal de la roya café) en trigo (*Triticum aestivum* L.) a partir de la inoculación de una cepa comercial de *T. harzianum* (Plant guard®) durante dos periodos (1998-1999 y 1999-2000); en el primer periodo registraron disminución de la severidad en 96 % y en el segundo del 66 %, respecto al testigo.

Se han reportado algunas otras alternativas para el manejo de *P. horiana* en crisantemo; entre estas, el uso de otros agentes biológicos y compuestos inorgánicos menos perjudiciales para las personas y el ambiente. En este sentido, Rodríguez-Navarro *et al.* (1996) realizaron inoculaciones de 10^{10} conidios mL⁻¹ de *Lecanicillium lecanii* sobre el envés de las hojas de crisantemo para su colonización sobre las pústulas de *P. horiana*, con este tratamiento se obtuvo una disminución de 53.5 % de la severidad, respecto al testigo; también registraron considerable disminución de la severidad con sales inorgánicas como: sulfato de cobre cuya reducción fue de 84.5 %, 82 % con bicarbonato de potasio y 67 % con bicarbonato de sodio; además, reportan la efectividad con la cubierta epidermal Nu film 17 (di-1-menteno antitranspirante de baja viscosidad; Dupont Co.) con la que se tuvo una reducción del 62 %. Tales investigaciones dan la pauta para que en un futuro se aborde el uso de *T. barbatum* y *T. asperellum* en conjunto con las alternativas descritas.

En cuanto a las variables de crecimiento vegetativo, no se presentaron diferencias estadísticas ($P > 0.05$) respecto al testigo; a excepción del número de hojas al obtenerse 12.8 % más con *T. asperellum* y 10 % más con *T. barbatum* (Cuadro 6); por lo que se concluyó que durante el periodo de evaluación las cepas estudiadas no estimularon el crecimiento vegetativo. Resultados similares los reportan Rares *et al.* (2014) quienes no encontraron diferencias a favor de *Trichoderma* sp. en las variables de crecimiento; sino que, al contrario, en el testigo se registró 10.8 % más hojas y 9.7 % más altura.

Por otra parte, en Colombia, Valencia y Arbeláez (1999) estudiaron el efecto de las cepas nativas T-13 y T-17 de *T. harzianum* y las cepas de *Trichoderma* sp. T-21B y T-34B en plántulas de crisantemo, de las cuales se inoculó el sustrato con semillas de trigo colonizado 10 días antes del trasplante. La cepa con la que se obtuvieron los mejores resultados fue la T-17 con la que se presentó aumento del 77 % de altura, respecto al testigo. También en Colombia, Chávez (2006) evaluó en crisantemo el efecto de una cepa nativa de *Trichoderma* sp., el autor reporta diferencias estadísticas respecto al testigo en las variables de peso fresco foliar con un incremento del 65 %, 34 % en el peso seco del follaje, 14 % en longitud foliar, 12 % en el peso fresco radicular y 12 % en la altura de la planta.

En otro estudio, Prassana *et al.* (2016) evaluaron una cepa de *Trichoderma* sp. combinada con una cepa de *Anabaena* sp. (An-Tr) y otra combinación de *T. viridae* con *Azotobacter* sp. (Tr-Az) provenientes del Instituto de Investigación Agrícola, Nueva Dehli, India; las combinaciones fueron estudiadas en las variedades de crisantemo Golden Ball y White Star a una concentración de 1 g de trigo colonizado por plántula. El experimento finalizó 90 días después del trasplante, momento en el cual se obtuvieron diferencias en la variedad Golden Ball, respecto al testigo, con el tratamiento An-Tr se registró que en el peso fresco hubo incremento del 170 % y del 230 % en el peso seco.

Por su parte Cubillos *et al.* (2009) estudiaron una cepa comercial (TCC-005) y una nativa (TCN-014) aislada de un suelo cultivado con palma africana (*Elaeis guineensis* Jacq.) en la Estación Experimental Caribia de Corpoica, Colombia, ambas cepas correspondían a *T. harzianum*. Las dos cepas se inocularon en

plantas de maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Deg), entre los resultados encontraron que, respecto al testigo, la cepa nativa fue la que presentó los mejores resultados en las variables, longitud de tallo aumentó un 63.4 %, así como el grosor de tallo 33.3 %, también en el número de hojas verdaderas 70 %, longitud de raíz con un aumento del 89.3 %, y 125 % en el peso seco total.

En otro estudio Candelero *et al.* (2015) estudiaron la efectividad de 14 cepas nativas de *Trichoderma* spp., cuatro de estas pertenecieron a patosistemas agrícolas y 10 a ambientes naturales, todas colectadas del estado de Yucatán. Entre las cepas se encontraba una especie de *T. harzianum*, tres especies de *T. virens*, otra especie perteneciente a *T. koningiopsis* y otras nueve no identificadas a nivel de especie. Dichas cepas se evaluaron en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq., entre los resultados reportan que la cepa Th05-02 (*Trichoderma* sp.) fue efectiva para aumentar los valores, respecto al testigo, de las siguientes variables: altura con un 125 % y peso seco con 88 %. El tratamiento con Th02-01 (*T. harzianum*) tuvo un aumento respecto al testigo en las variables de longitud de raíz con 42 %, volumen radical con 550 % y biomasa de raíz con 133 %.

Cabe señalar que el potencial de *Trichoderma* spp. para disminuir la incidencia y severidad de diversos patógenos, así como su efectividad para estimular el crecimiento vegetal, se puede atribuir a su origen (nativa o comercial) e incluso a la forma, momento y cantidad de inoculaciones. Un punto que destacar es que existen diversos trabajos con *Trichoderma* los cuales tienen una constante en común que son las especies de *T. asperellum* y *T. harzianum*, especies que son ampliamente estudiadas, además de ser efectivas en la reducción de la severidad por parte de

algunos patógenos, así como la estimulación del crecimiento vegetativo. En contraste, es escasa la información sobre la efectividad de la especie de *T. barbatum* que en el presente trabajo demostró ser efectiva en disminución de la incidencia y severidad de la roya blanca.

9. CONCLUSIONES

Trichoderma asperellum y *T. barbatum* tienen la capacidad de disminuir, respecto al testigo, el 47 % de la incidencia de *Puccinia horiana* en plantas de crisantemo var. Delano.

T. asperellum y *T. barbatum* redujeron el índice de severidad de la roya blanca en 75 % y 80 %, respecto al testigo, por lo que ambas especies son una opción viable para el manejo de la enfermedad.

T. asperellum y *T. barbatum* estimularon el número de hojas en plantas de crisantemo var. Delano.

10. RECOMENDACIONES

- Se recomienda aumentar el número de inoculaciones a través del tiempo, con la finalidad de determinar si *T. asperellum* y *T. barbatum* tienen efecto positivo en el crecimiento de plantas de crisantemo var. Delano.
- Realizar inoculaciones de *T. asperellum* y *T. barbatum* en el follaje de plantas de crisantemo var. Delano, con el objetivo de evaluar su efecto sobre la incidencia y severidad de la roya blanca.
- Determinar los cambios bioquímicos que se presentan en plantas de crisantemo por efecto de la inoculación de *T. asperellum* y *T. barbatum*.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alonso-Bahena, A. 2020. Actividad antagónica *in vitro* de cepas nativas de *Trichoderma* spp. frente a *Rosellinia necatrix*, *Verticillium dahliae* y *Botrytis cinerea*, patógenos del cultivo de rosa. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma del Estado de México. Tenancingo, Edo. de México. URI: <http://hdl.handle.net/20.500.11799/105592>
- Alonso-Bahena, A., López-Fuentes, H., Domínguez-Arizmendi, G. y García-Velasco, R. 2018. Actividad antagónica de cepas nativas de *Trichoderma* spp. sobre *Rosellinia necatrix* y *Verticillium dahliae*. Sociedad Mexicana de Fitopatología, 36(1): S27-S28. <https://www.rmfmex.org.mx/suplemento/Suplemento362018.html>
- Abiko, K., Kishi, K. and Yoshioka, A. 1977. Occurrence of oxycarboxin-tolerant isolates of *Puccinia horiana* P. Hennings in Japan. Annals of the Phytopathological Society of Japan, 43: 145-150. DOI: 10.3186/jjphytopath.43.145
- Arbos, L. A. M. 1992. El Crisantemo, Cultivo, Multiplicación y Enfermedades. Mundi - Prensa. Madrid, España.
- Arun Kumar, G. S., Kamanna, B.C. and Benagi, V. 2011. Effect of environmental factors on leaf blight disease development in chrysanthemum. Plant Archives, 11: 575-578.
- Barbosa, J. G., Kampf, A. N., Martinez, H. E. P., Koller, O. C. and Bohnen, H. 2000. Chrysanthemum cultivation in expanded clay. Effect of the nitrogen-

- phosphorous-potassium ratio in the nutrient solution. *Journal of Plant Nutrition*, 23(9): 1327- 1336. DOI: 10.1080/01904160009382103
- Benítez, T., Rincón, A. M., Limón, M.C. and Codón, A. C., 2004. Biocontrol mechanisms of *Trichoderma* strains. *International Microbiology*, 7: 249–260. DOI: 10.2436 / im.v7i4.9480
- Bradshaw, M., Braun, U., Götz, M., Meeboon J. and Takamatsu, S. 2017. Powdery mildew of *Chrysanthemum* × *morifolium*: phylogeny and taxonomy in the context of *Golovinomyces* species on Asteraceae hosts. *Mycologia*, 109: 3, 508-519. DOI: 10.1080/00275514.2017.1358136
- Candelero, D. J., Cristóbal, A. J., Reyes, R. A., Tun, S. J. M., Gamboa, A. M. M. y Ruíz, S. E. 2015. *Trichoderma* spp. promotoras del crecimiento en plántulas de *Capsicum chinense* Jacq. y antagónicas contra *Meloidogyne incognita*. *Revista Internacional de Botánica Experimental*, 84: 113-119.
- Chávez-García, M. P. 2006. Producción de *Trichoderma* sp. y evaluación de su efecto en cultivo de crisantemo (*Dendranthema grandiflora*). Tesis de licenciatura. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia.
- Coninck, B. D., Timmermans, P., Vos, C., Cammue, B. P. and Kazan, K. 2015. What lies beneath: belowground defense strategies in plants. *Trends in Plant Science*, 20(2): 91-101. DOI: 10.1016/j.tplants.2014.09.007
- Contreras-Cornejo, H.A., Macías-Rodríguez, L., del Valle, E. and Larsen, J. 2016. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in

- the rhizosphere: interactions with plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 92: 1-17. DOI: 10.1093/femsec/fiw036
- Cook, R. T. A. 2001. First report in England of changes in the susceptibility of *Puccinia horiana*, the cause of chrysanthemum white rust, to triazole and strobilurina fungicides. *Plant Pathology*, 50: 792. DOI: 10.1046/j.1365-3059.2001.00615.x
- Crater, D. G. 1996. Crisantemos en maceta. En R. A. Larson (Ed.), *Introducción a la floricultura* (pp. 235-258). A.G.T. Editorial, S.A. México.
- Cubillos, J., Valero, N. y Mejía, L. 2009. *Trichoderma harzianum* como promotor del crecimiento vegetal del maracuyá (*Passiflora edulis* var. *flavicarpa* Degener). *Agronomía Colombiana*, 27: 81-86.
- Crous, P. W., Gams, W., Stalpers, J. A. Robert, V. and Stegehuis, G. 2004. MycoBank: an online initiative to launch mycology into the 21st century. *Studies in Mycology*, 50: 19–22.
- De liñan, C. 2012. *Vademécum de agroquímicos de México*. (Ed.). Tecnoagrícola de México. 4ta edición. México.
- Demain, A. L. and Fang, A. 2000. The natural functions of secondary metabolites. *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*, 69: 1-39.
- Demers, J. E., Crouch, J. A. and Castlebury, L. A. 2015. A multiplex real-time PCR assay for the detection of *Puccinia horiana* and *P. chrysanthemi* on chrysanthemum. *Plant Disease*, 99: 195-200. DOI: 10.1094/PDIS-06-14-0632-RE

- Devendra, K. C., Prakash, A. and Johri, B. N. 2007. Induced systemic resistance (ISR) in plants: mechanism of action. *Indian Journal of Microbiology*, 47: 289-297. DOI: 10.1007 / s12088-007-0054-2
- Di Rienzo, J. A, Casanoves. F., Balzarini, M. G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C. W. 2017. InfoStat, versión 2017. Grupo InfoStat. FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina.
- Domínguez-Serrano, D. 2012. Patogenicidad del género *Alternaria* spp. en variedades de crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). Tesis de Maestría. Universidad Autónoma del Estado de México. Toluca, Edo. de México.
- Domínguez-Serrano, D., Yáñez-Morales, M. J., García-Velasco, R., Alanís-Martínez, I. and Segura-León, O. 2016. First report of *Chrysanthemum morifolium* Leaf Spot caused by *Alternaria* species in Mexico. *American Phytopathological Society*, 100(3): 647. DOI: 10.1094/PDIS-06-15-0723-PDN
- Druzhinina, S. I., Kopchinski, G, A. and Kubicek P, C. 2006. The first 100 *Trichoderma* species characterized by molecular data. *Mycoscience*, 47: 55-64. DOI: 10.1007/s10267-006-0279-7
- Durrant, W. E. and Dong, X. 2004. Systemic acquired resistance. *Annual Review of Phytopathology*, 42: 185–209. DOI: 10.1146/annurev.phyto.42.040803.140421

EPPO (European and Mediterranean Plant Protection Organization). 2019. *Puccinia horiana*. Global database. [en línea] Disponible en <<https://gd.eppo.int/taxon/PUCCHN/distribution>> [Consultado el 15 de noviembre de 2019].

Ezziyani, M., Raquena, M. E., Pérez, C. y Candela, M. E. 2005. Efecto del sustrato y la temperatura en el control biológico de *Phytophthora capsici* en pimiento (*Capsicum annuum* L.). Anales de Biología, 27: 119-126.

Firman, D. I. and Martin, H. P. 1968. White rust of chrysanthemums. Annals of Applied Biology, 62: 429-442. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1968.tb05454.x

FRAC (Fungicide Resistance Action Committee). 2020. Classification of fungicides. Disponible en <https://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-mode-of-action-poster/frac-moa-poster-2020v2.pdf?sfvrsn=a48499a_2> [Consultado el 15 de septiembre de 2020].

Glazebrook, J. 2005. Contrasting mechanisms of defense against biotrophic and necrotrophic pathogens. Annual Review of Phytopathology, 43: 205–227. DOI: 10.1146/annurev.phyto.43.040204.135923

García-Velasco, R., Zavaleta, E., Rojas, R. I., Leyva, S. G., Simpson, J. K. y Fuentes, D. G. 2005. Antagonismo de *Cladosporium* sp. contra *Puccinia horiana* Henn. causante de la roya blanca del crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). Revista Mexicana de Fitopatología, 23: 79-86.

García-Velasco, R. 2005. Patogenicidad y polimorfismo genético de 16 aislamientos de *Puccinia horiana* Henn. Tesis de Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México.

Ghisalberti, E. L., Narbey, M. J., Dewan, M. M. and Sivasithamparam, K. 1990.

Variability among strains of *Trichoderma harzianum* in their ability to reduce take-all and to produce pyrones. *Plant and Soil*, 121: 287–291.

Ghisalberti, E. L. and Sivasithamparam, K. 1991. Antifungal antibiotics produced by

Trichoderma spp. *Soil Biology & Biochemistry*, 23: 1011–1020. DOI: 10.1016/0038-0717(91)90036-J

Gozzo, F. 2003. Systemic acquired resistance in crop protection: from nature to a

chemical approach. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51: 4487–4503. DOI: 10.1021/jf030025s

Guzmán-Valle, P. 2012. Inducción de la resistencia a *Sclerotium rolfsii* en cebolla

por la aplicación de *Trichoderma asperellum*. Tesis de Maestría. Instituto Politécnico Nacional. Yautepec, Morelos.

Hamdy, E., Atteia F., Matilda M. and Abdel H. 2001. Management of brown leaf rust,

Puccinia recondita of wheat using natural products and biocontrol agents. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 4: 550-553.

Harman, G. E., Howel, C. R., Viterbo, A., Chet, I. and Lorito, M. 2004. *Trichoderma*

species—opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 1: 43–56. DOI: 10.1038/nrmicro797

Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp.

Phytopathology, 96: 190–194.

Hasler, M., Roskov, Y., Ower, G., Orrell, T., Nicolson, D., Bailly N., Kirk, P. M.,

Bourgoin, T., DeWalt, R. E., Decock, W., Nieuwerkerken, E. van., Zarucchi, J.

- and Penev, L. 2019. Catalogue of life, Annual Checklist. [en línea] Disponible en <<http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019/details/species/id/2e46364e6a7c5a0933004861cd145743>> [Consultado el 18 de enero de 2020].
- Hayama, R. and Coupland, G. 2003. Shedding light on the circadian clock and the photoperiodic control of flowering. *Plant Biology*, 6(1): 13-19. DOI: 10.1016/S1369-5266(02)00011-0
- Heald, F. D. and Wolf, F. A. 1911. New species of Texas fungi. *Mycologic*, 3(1): 5-22.
- Hsieh, W. H. and Goh, T. K. 1990. *Cercospora* and similar fungi from taiwan. Maw Chang Book Company. Taipei, Taiwan.
- Hegde, V. M. 1988, Studies on leaf blight of *Chrysanthemum morifolium* Ramat) caused by *Alternaria tenuissima* (Fries) Wiltshire, M. Sc. (Agri), Thesis, University of Agricultural Sciences, Dharwad, India.
- Horst, K. R. and Nelson, E. P. 1997. Compendium of *Chrysanthemum* diseases. The American Phytopathological Society. St. Paul Minnesota, USA.
- Howell, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease*, 87(1): 4-10. DOI: 10.1094/PDIS.2003.87.1.4

- Inbar, J., Menendez, A. and Chet, I. 1996. Hyphal interactions between *Trichoderma harzianum* and *Sclerotinia sclerotiorum* and its role in biological control. *Soil Biology and Biochemistry*, 28: 757-763. DOI: 10.1016/0038-0717(96)00010-7
- Infante, D., Martínez, B., González, N. y Reyes, Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista de Protección Ambiental*, 24: 14-21.
- Jiménez, M. R. y Caballero, R. M. 1990. El cultivo industrial de plantas en maceta. Editorial Litoclub, S. A. Barcelona, España.
- Kashyap, P. L., Rai, P., Srivastava, A. K. and Kumar, S. 2017. *Trichoderma* for climate resilient agriculture. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 33: 155. DOI: 10.1007/s11274-017-2319-1
- Kirk, P. M., Bourgoin, T., DeWalt, R. E., Decock, W., Nieukerken, E. van., Zarucchi J. and Penev, L. 2019. Catalogue of Life, Annual Checklist. [en línea] Disponible en <<http://www.catalogueoflife.org/annual-checklist/2019/details/species/id/f064ff55d27cf54089f49ee7214d9735>> [Consultado el 29 de mayo de 2019].
- Kirk, P. M., Roskov, Y., Ower, G., Orrell, T., Nicolson, D. and Bailly, N. 2019. Catalogue of Life, Annual Checklist. [en línea] Disponible en <<http://www.catalogueoflife.org/annualchecklist/2019/details/species/id/3f7d2da1f3aaea42267cacfeccd26796f>> [Consultado el 29 de mayo de 2019].
- Kirk, P. M., Roskov, Y., Ower G., Orrell, T., Nicolson, D., Bailly, N., Bourgoin, T., DeWalt, R. E., Decock, W., Nieukerken, E. van., Zarucchi, J. and Penev, L.

2019. Catalogue of life, Annual Checklist. [en línea] Disponible en <
<http://www.catalogueoflife.org/annualchecklist/2019/details/species/id/ff97bc0e8f902aa7f09fecdd9d4e2f81>> [Consultado el 18 de noviembre de 2019].
- Küçük, Ç. and Kivanç, M. 2004. *In vitro* antifungal activity of strains of *Trichoderma harzianum*. Turkish Journal of Biology, 28: 111-115.
- Leyva-Mir, S. G., Lora-Trejo, I., Cárdenas-Soriano, E. y Valdovinos-Ponce, G. 2001. Patogénesis de la roya blanca *Puccinia horiana* Henn. en una variedad susceptible de crisantemo [*Chrysanthemum morifolium* (Ramat.) Hemsl.]. Revista Mexicana de Fitopatología, 19: 191-196.
- Martínez, B., Infante, D. y Reyes, Y. 2013. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en cultivos. Revista Protección Vegetal, 28(1): 1-11.
- National Chrysanthemum Society. 2017. Handbook on Chrysanthemum Classification. 2017 ed. Classification Committee National Chrysanthemum Society, Inc. USA.
- Nieto-Ángel, D., Acosta-Ramos, M., Valencia-Aceves, M. y Mena-Nevárez, G. 2001. Estudios de efectividad biológica con fungicidas. pp. 106-129. En B. M. Néstor y D. G. Ovidio (Eds.). Bases para realizar estudios de efectividad biológica de plaguicidas. Texcoco, Edo. de México.
- Palmer, C. L., Bonde, M. R., Nester, S. E., Revell, J. M. and Luster, D. G. 2015. Fungicide impact on *in vitro* germination of basidiospores of *Puccinia horiana*, the causal agent of chrysanthemum white rust. Plant Health Progress, 16(2): 73-76. DOI: 10.1094/PHP-RS-14-0032

- Pavón, M, M.A., Martín, S, R. y García, L. T. 2009. Diferenciación de grupos de especies del género *Alternaria* mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*, 3(2): 119-128.
- Prasanna, R., Kanchan, A., Kaur, S., Ramakrishnan, B., Ranjan, K., Sing, M.C., Hasan, M., Saxena, A. K. and Shivay, Y. S. 2016. *Chrysanthemum* growth gains from beneficial microbial interactions and fertility improvements in soil under protected cultivation. *Horticultural Plant Journal*, 2: 229-239. DOI: 10.1016/j.hpj.2016.08.008
- Quesada-Roldán, G. y Bertsh-Hernández, F. 2013. Obtención de la curva de extracción nutrimental del híbrido de tomate FB-17. México. *Terra Latinoamericana*, 1(31): 1-7.
- Rares, A. N., Senewe, E., Manengkey, G. S. J. and Ratulangi, M. M. 2015. Efektivitas mikroorganisme antagonis terhadap penyakit karat putih pada tanaman krisan (*Chrysanthemum morifolium* Ramat) di kota Tomohon. *COCOS Journal*, 6(10): 1-12.
- Rodríguez-Navarro, J. A., Zavaleta-Mejía, E. y Alatorre-Rosas, R. 1996. Epidemiología y manejo de la roya blanca (*Puccinia horiana* Henn.) del crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). *Fitopatología*, 31: 122-132.
- Rojas-Vega, J. P. 2004. Roya blanca del crisantemo *Puccinia horiana*. Boletín técnico. Instituto Colombiano Agropecuario. Bogotá, Colombia.

- Romero, C. S. 1996. Plagas y enfermedades de ornamentales. UACH. Dirección de Patronato Universitario A. C. Chapingo, México.
- Rotem, J. 1994. The Genus *Alternaria*. Biology, Epidemiology and Pathology. American Phytopathology Society. St. Paul Minnesota, USA.
- Salmeron, D. S. 1975. Hojas de divulgadoras. Crisantemos. Ministerio de Agricultura. España.
- Samuels, G. J. 1996. *Trichoderma*: A review of biology and systematics of the genus. Mycological Research, 100: 923-935.
- SARH (Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos). 1994. Campaña contra la Roya Blanca del Crisantemo. Secretaría de Agricultura y Recursos Hidráulicos. Dirección General de Sanidad Vegetal. México. D. F.
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2019. Cierre de la producción agrícola. Crisantemo (planta). [en línea] Disponible en <<https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>> [Consultado el 10 de junio de 2019].
- SIAMI (Sistema de Comercialización Vía Internet). 2019. Estadística anual del cultivo de crisantemo. [en línea: disponible en <<http://www.economia-snci.gob.mx/>>] [Consultado el 20 junio de 2019].
- Sivan, A. and Chet, I. 1989. Degradation of fungal cell walls by lytic enzymes of *Trichoderma harzianum*. Journal General Microbiology, 135: 675-682. DOI: 10.1099/00221287-135-3-675

- Sivasithamparam, K. and Ghisalberti, E. L. 1998. Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. In G. E. Harman, and C. P. Kubicek (Eds.). *Trichoderma and Gliocladium*, Vol. 1. Taylor and Francis Ltd., London.
- Tlapal, B. B. y Mendoza, Z. C. 2002. Enfermedades de origen fungoso en ornamentales. En B. M. Néstor, L. J. Alvarado, P. J. C. Chavarín, A. H. Sánchez (Eds.). Manejo Fitosanitario de Ornamentales (pp. 97-118). Instituto de Fitosanidad y Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México, México.
- To-Anun, C., Hidayat, I. and Meeboon, J. 2011. Genus *Cercospora* in Thailand: Taxonomy and Phylogeny (with a dichotomous key to species). *Plant Pathology & Quarantine*, 1(1): 11–87. DOI: 10.5943/ppq/1/1/3
- Torres, D. E., Rojas-Martínez, R. I., Zavaleta-Mejía, E., Guevara-Fefer, P., Márquez-Guzmán, G. J. and Pérez-Martínez, C. 2017. *Cladosporium cladosporioides* and *Cladosporium pseudocladosporioides* as potential new fungal antagonists of *Puccinia horiana* Henn., the causal agent of chrysanthemum white rust. *PLoS ONE* 12(1): 1-16. DOI: 10.1371/journal.pone.0170782
- Valdez- Aguilar, L. A., Hernández- Pérez, A., Alvarado-Camarillo, D. y Cruz-Altunar, Á. 2015. Diseño de un programa de fertilización para crisantemo en base a extracción de macronutrientes. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(12): 2263-2276.
- Valencia, J. y Arbeláez, G. 1999. Control biológico de la pudrición basal del tallo en Crisantemo (*Dendranthema grandiflorum*) ocasionada por *Sclerotinia*

sclerotiorum con algunos aislamientos de *Trichoderma* sp. y *Gliocladium* sp.

Agronomía Colombiana, 16: 1-4.

Valland, E. G. and Godman, M. R. 2004. Systemic acquired resistance and induced systemic resistance in conventional agriculture. Crop Science Society of America, 44: 1920-1934. DOI: 10.2135/cropsci2004.1920

VandenBerg, P. C. 1989. Chrysanthemum plant named Delano. United States Patent. Disponible en <https://patents.google.com/patent/USPP6950P/en?q=chrysanthemum+plant+named+delano&q=A01H6%2f1424> [Consultado el 26 de octubre de 2020].

Van Loon, L. C. and Van Strien, E. A. 1999. The families of pathogenesis-related proteins, their activities, and comparative analysis of PR-1 type proteins. Physiological and Molecular Plant Pathology, 55: 85-97. DOI: 10.1006/pmpp.1999.0213

Vences-Contreras, C. y Vázquez-García, L. M. 2008. Inoculación *in vitro* de la roya blanca (*Puccinia horiana* Hennings) en crisantemo (*Dendranthema grandiflora* Tzvelev). Agronomía Mesoamericana, 19(1): 81-85.

Vera, D., Pérez, H. y Vallencia, H. 2002. Aislamiento de hongos solubilizadores de fosfato de la rizosfera Arazá (Myrtaceae). Acta Biológica Colombiana, 7 (1): 33-40.

Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberi, E. L., Marra, R., Woo, S. L. and Lorito, M. 2008. *Trichoderma*-plant-pathogen interactions review. Soil Biology and Biochemistry, 40: 1-10. DOI: 10.1016/j.soilbio.2007.07.002

- Vitti, A., Pellegrini, E., Nali, C., Lovelli, S., Sofo, A., Valerio, M., Scopa, A. and Nazzari, M. 2016. *Trichoderma harzianum* T-22 induces systemic resistance in tomato infected by cucumber mosaic virus. *Frontier in Plant Science*, 7: 1-11. DOI: 10.3389/fpls.2016.01520
- Windham, M. T., Elod, Y. and Baker, R. 1989. Effects of *Trichoderma* spp. on maize growth and *Meloidogyne arenaria* reproduction. *Plant Disease*, 73: 493-4. DOI: 10.1094/PD-73-0493.
- Whipps, M. J. 1993. A review of white rust (*Puccinia horiana* Henn.) disease on chrysanthemum and the potential for its biological control with *Verticillium lecanii* (Zimm.) Viegas. *Annals of Applied Biology*, 122: 173-187. DOI: 10.1111/j.1744-7348.1993.tb04025.x
- Yedidia, I., Benhamou, N. and Chet, I. 1999. Induction of defense responses in cucumber plants (*Cucumis sativus* L.) by the biocontrol agent *Trichoderma harzianum*. *Applied and Environmental Microbiology*, 65: 1061-1070. DOI: 10.1128/AEM.65.3.1061-1070.1999
- Yedidia, I., Shoresh, M., Kerem, Z., Benhamou, N., Kapulnik, Y. and Chet, I. 2003. Concomitant induction of systemic resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and accumulation of phytoalexins. *Applied and Environmental Microbiology*, 69: 7343-7353. DOI: 10.1128/AEM.69.12.7343-7353.2003

- Yedidia, I., Srivastva, A., Kapulnik, Y. and Chet, I. 2001. Effect of *Trichoderma harzianum* on microelement concentrations and increased growth of cucumber plants. *Plant Soil*, 235: 235-242. DOI: 10.1023/A:1011990013955
- Yoshioka, Y., Ichikawa, H., Naznin, H. A., Kogure, A. and Hyakumachi, M. 2011. Systemic resistance induced in *Arabidopsis thaliana* by *Trichoderma asperellum* SKT-1, a microbial pesticide of seedborne diseases of rice. *Pest Management Science*, 68: 60-66. DOI: 10.1002/ps.2220
- Zipfel, C. 2014. Plant pattern-recognition receptors. *Trends in Immunology*, 35: 345-351. DOI: 10.1016/j.it.2014.05.004