



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MÉXICO



Centro Universitario UAEM Tenancingo

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

T E S I S

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

P R E S E N T A

JORGE ALBERTO RAMOS CALVO

DIRECTORES DE TESIS

**Dr. en C. Rómulo García Velasco
Dra. en C. Martha Elena Mora Herrera**

ASESOR DE TESIS

Dr. en C. Jesús Ricardo Sánchez Palé

Tenancingo, Estado de México enero de 2024

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	IV
ÍNDICE DE GRÁFICOS	V
ÍNDICE DE FIGURAS	VI
ÍNDICE DE ANEXOS	VII
RESUMEN	VIII
1. INTRODUCCIÓN	1
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Importancia del cultivo de rosa.....	3
2.2. <i>Rosa hybrida</i>	5
2.3. El patosistema <i>Rosa hybrida</i> y <i>Rosellinia necatrix</i>	5
2.4. El género <i>Rosellinia</i>	6
2.4.1. Importancia de <i>Rosellinia necatrix</i> Prill.....	6
2.4.2. Morfología de <i>R. necatrix</i>	6
2.4.3. Proceso de infección de <i>Rosellinia necatrix</i>	11
2.4.5. Ciclo de vida de <i>Rosellinia necatrix</i>	11
2.5. Métodos de manejo de <i>R. necatrix</i>	13
2.6. El género de <i>Trichoderma</i>	14
2.6.1. Condiciones para su desarrollo en campo.....	15
2.7. Mecanismos de acción de <i>Trichoderma</i> spp.	15
2.7.1. Mecanismos de acción directos.....	16
2.7.1.1. Micoparasitismo	16
2.7.1.2. Competencia por espacio y nutrientes.....	17
2.7.1.3. Antibiosis por metabolitos volátiles y no volátiles.....	17
2.7.2. Mecanismos de acción indirectos.....	18
2.7.2.1. Promoción de crecimiento vegetal.....	18
2.8. Resistencia sistémica	19

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

2.8.1. Resistencia Sistémica Inducida (RSI).....	20
2.8.2. Resistencia Sistémica Adquirida (RSA)	23
2.9. Desactivación de los factores de patogenicidad (enzimas del patógeno)	25
2.10. Especies de <i>Trichoderma</i> spp. utilizadas como agentes de control biológico.....	25
2.11. Atributos y peculiaridades de cepas de la especie <i>Trichoderma asperellum</i>	26
2.12. Características morfológicas de <i>Trichoderma asperellum</i>	28
3. JUSTIFICACIÓN	31
4. HIPÓTESIS.....	33
5. OBJETIVOS	33
5.1. Objetivo general.....	33
5.2. Objetivos específicos	33
6. MATERIALES Y MÉTODOS.....	34
6.1. Esterilización de sustrato	34
6.2. Siembra y mantenimiento de las plantas de rosa en macetas	35
6.3. Preparación de medio PDA	35
6.4. Reactivación de la cepa de <i>Rosellinia necatrix</i>	35
6.5. Incremento de inóculo de <i>Rosellinia necatrix</i> en trigo.....	36
6.6. Preparación y aplicación de la suspensión de conidios de <i>Trichoderma asperellum</i> cepa TFR3	36
6.7. Prueba de viabilidad de los conidios aplicados a los tratamientos	38
6.8. Inoculación de <i>Rosellinia necatrix</i>	39
6.9. Diseño experimental y análisis de datos	39
6.10. Variables evaluadas.....	39
7. RESULTADOS.....	42
7.1. Viabilidad de conidios inoculados de <i>Trichoderma asperellum</i> cepa TFR3.....	42

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

7.2. Respuestas fisiológicas de plantas de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom inoculadas con <i>Trichoderma asperellum</i> cepa TFR3 y <i>Rosellinia necatrix</i>	42
7.2.1. Longitud y diámetro de tallos iniciales.....	42
7.3. Primer corte de tallos florales.....	43
7.4. Segundo corte de tallos florales.....	46
7.5. Brotes laterales en plantas de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom	48
7.5.1. Brotes generados a la primera poda, conteo 1.....	48
7.5.2. Brotes generados a la primera poda, conteo 2.....	49
7.6. Brotes laterales en plantas de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom	50
7.6.1. Brotes generados a la segunda poda, conteo 1	50
7.6.2. Brotes generados a la segunda poda, conteo 2	51
7.7. Tallos basales en plantas de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom.....	52
7.7.1. Tallos basales generados 21 ddi (días después de la última inoculación)52	
7.7.2. Segundo conteo	53
7.8. Peso fresco y seco de follaje de plantas de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom inoculadas con <i>T. asperellum</i> cepa TFR3 y <i>R. necatrix</i>	54
7.9. Peso fresco y seco de raíces de plantas de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom inoculadas con <i>T. asperellum</i> cepa TFR3 y <i>R. necatrix</i>	55
8. DISCUSIÓN.....	57
9. CONCLUSIONES.....	64
10. RECOMENDACIONES.....	65
11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66
12. ANEXOS	80

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Longitud y diámetro de tallos iniciales de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom inoculados con <i>Trichoderma asperellum</i> cepa TFR3 y <i>Rosellinia necatrix</i>	43
Cuadro 2. Respuestas fisiológicas en tallos florales de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom por efecto de la inoculación con <i>Trichoderma asperellum</i> cepa TFR3 y <i>Rosellinia necatrix</i> , a 70 días después de la última inoculación.....	45
Cuadro 3. Respuestas fisiológicas de los tallos florales de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom por efecto de la inoculación de <i>T. asperellum</i> cepa TFR3 y <i>R. necatrix</i> , a 80 días después de la última inoculación.....	47
Cuadro 4. Peso fresco y seco de la parte aérea de las plantas de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom sometidas a los diferentes tratamientos.....	54
Cuadro 5. Peso fresco y seco de raíces de plantas de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom sometidas a los diferentes tratamientos.....	56

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1. Brotes laterales de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom originados posterior a la primera poda por efecto de los tratamientos. Tas = <i>Trichoderma asperellum</i> , Tas + Rn = <i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i> , TA = Testigo absoluto y Rn = <i>Rosellinia necatrix</i>	48
Gráfico 2. Brotes laterales de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom generados posterior a la primera poda por efecto de los tratamientos. Tas = <i>Trichoderma asperellum</i> , Tas + Rn = <i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i> , TA = Testigo absoluto y Rn = <i>Rosellinia necatrix</i>	49
Gráfico 3. Brotes laterales de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom generados posterior a la segunda poda por efecto de los tratamientos. Tas = <i>Trichoderma asperellum</i> , Tas + Rn = <i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i> , TA = Testigo absoluto y Rn = <i>Rosellinia necatrix</i>	50
Gráfico 4. Brotes laterales de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom generados posterior a la segunda poda por efecto de los tratamientos. Tas = <i>Trichoderma asperellum</i> , Tas + Rn = <i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i> , TA = Testigo absoluto y Rn = <i>Rosellinia necatrix</i>	51
Gráfico 5. Tallos basales generados en plantas de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom por efecto de los tratamiento. Tas : <i>Trichoderma asperellum</i> , Tas + Rn = <i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i> , TA = Testigo absoluto y Rn = <i>Rosellinia necatrix</i>	52
Gráfico 6. Tallos basales generados en plantas de <i>Rosa hybrida</i> var. Freedom por efecto de los tratamiento. Tas = <i>Trichoderma asperellum</i> , Tas + Rn = <i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i> , TA = Testigo absoluto y Rn = <i>Rosellinia necatrix</i>	53

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Características morfológicas de <i>Dematophora (=Rosellinia) necatrix</i> . A1) Micelio, pigmentado de color marrón con hinchazones piriformes antes del septo; A2) Sinema (Fotos del autor, 2023).	8
Figura 2. Características morfológicas de <i>Rosellinia necatrix</i> en su fase teleomorfa encontradas en raíces de aguacate. 1) Raíz de aguacate con ascocarpos en superficie; 2) estroma y peritecio. ec: ectostroma, en: endostroma; 3) sección transversal del peritecio y capas externas (ex), intermedias (me) e internas (in); 4) ascosporas y ápice teñido con yodo al 5 %; 5) ascosporas maduras con hendidura de germinación; 6) ascospora germinada (Tomado de Pérez-Jiménez <i>et al.</i> , 2003).	10
Figura 3. Ciclo de vida de <i>R. necatrix</i> (Arjona, 2015, adaptado de Pliego <i>et al.</i> , 2012).	12
Figura 4. Características morfológicas de <i>Trichoderma asperellum</i> cepa TFR3. B1) micelio septado hialino; B2) Conidióforos; B3) Fiálides y B4) Conidios. (Fotos del autor, 2023).	30

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

ÍNDICE DE ANEXOS

Anexo 1. Secuencia en el tiempo de las actividades realizadas durante el desarrollo del experimento.....	80
Anexo 2. Promedio de variables primer y segundo corte de tallos florales.....	87
Anexo 3. Promedio de brotes emitidos y porcentaje de plantas que emitieron brotes en el piso 1 y 2 en la estructura de la.....	87
Anexo 4. Promedio de basales y porcentaje de plantas que emitieron basales en la estructura de la planta de <i>Rosa hybrida</i>	88

RESUMEN

El uso de agroquímicos ha alcanzado un nivel desmedido entre quienes se dedican a producir hortalizas, hierbas, pastos, frutas y flores, en este último sector la utilización de productos químicos es más acentuada que en el resto de los cultivos, esto debido a que, generalmente, las flores no están destinadas al consumo humano y, por lo tanto, no existe una preocupación por el uso moderado de los ingredientes activos, esto ha generado una serie de problemas a la salud humana, el ambiente; así como también, la resistencia que han desarrollado las plagas y enfermedades con el paso del tiempo.

Dentro del sector de agroquímicos los fungicidas son altamente utilizados para obtener flores de calidad, ya que las ornamentales y en especial en las flores de corte se requiere de estética, es decir, que las flores no presenten daño por fitopatógenos. Sin embargo, en la actualidad una de las exigencias del mercado es la producción con bajo impacto al ambiente. Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar las variables agronómicas desarrolladas en *Rosa hybrida* var. Freedom por efecto de la inoculación del hongo antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 ante la presencia de *Rosellinia necatrix* como agente inductor de estrés en el cultivo de rosa.

Se estableció un diseño experimental completamente al azar con 4 tratamientos: T1= Testigo absoluto, T2= *Rosellinia necatrix*, T3= *Trichoderma asperellum* y T4= *Rosellinia necatrix* + *Trichoderma asperellum* con 30 repeticiones por tratamiento donde la unidad experimental fue una planta. El material vegetal utilizado consistió en plantas de rosa variedad Freedom injertadas sobre el patrón Natal briar, con una edad de las plantas de rosa en el momento del experimento de dos años. Se realizaron tres aplicaciones de *T. asperellum* cepa TFR3 en intervalos de 7 días. La inoculación de *R. necatrix* se realizó 7 días después de la última inoculación de la

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

cepa TFR3. Las variables evaluadas fueron: longitud y diámetro de tallos iniciales, longitud y diámetro de tallos florales, tamaño de botón floral, número de brotes laterales y brotes basales, vida florero, peso fresco y seco de raíz, peso fresco y seco de follaje. Como resultados se obtuvo que la aplicación del antagonista *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 favoreció un incremento del 10 % en el número de plantas con nuevos brotes, también se incrementó un 24.6 % del peso fresco y 25.8 % de peso seco del follaje. En cuanto al peso de la raíz, también se vio favorecido al incrementarse un 30 % del peso fresco y 21.4 % de peso seco de la raíz, todos estos valores con relación al testigo absoluto; todas estas variables con diferencia significativa DGC ($p < 0.05$) entre los tratamientos. En el resto de las variables hubo diferencias numéricas, pero no significativas estadísticamente, aun así, se concluye que, se recomienda el uso de la especie *T. asperellum* cepa TFR3 en el cultivo de rosa.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

1. INTRODUCCIÓN

La floricultura es una de las actividades agrícolas con mayor rentabilidad en México, y el país tiene la capacidad de ser potencia exportadora en este rubro. Diversas ventajas competitivas como su posición geográfica con puertos comerciales ubicados en dos océanos, su cercanía con los Estados Unidos como uno de los principales mercados (Tejeda-Sartorius *et al.*, 2015).

En el Estado de México la superficie sembrada total de rosa es de 876.02 ha, principalmente en los municipios de Villa Guerrero, Tenancingo y Coatepec Harinas, el resto de la superficie sembrada se distribuye en los municipios de Atizapán, Texcoco, Atlacomulco, Zumpahuacán, Malinalco, Ixtapan de La Sal, Valle de Bravo y Donato Guerra (SIAP, 2022). La demanda de flores se basa en las tradiciones y festividades religiosas como: el Día de San Valentín, Día de la Madre, Día de los Muertos y el Día de la Virgen de Guadalupe (Ramírez y Torres, 2021).

El patosistema conformado por el hospedante *Rosa hybrida* y el hongo fitopatógeno de raíz *Rosellinia necatrix* se presenta en áreas del cultivo que presentan exceso de humedad. Los síntomas característicos son la disminución del crecimiento de la planta, pudrición radicular, amarillamiento, marchitez, pequeño y escaso follaje, y finalmente, la muerte de la planta. En la parte subterránea de la planta inicialmente se puede apreciar sobre la corteza de las raíces micelio blanco, algodonoso, que da origen a la formación de cordones miceliales que rodean a las raíces; éstos son de color blanco y conforme maduran se tornan de color gris oscuro a negro (Domínguez, 2008; García-Velasco *et al.*, 2012).

El rango de huéspedes de este patógeno es amplio, incluyendo especies subtropicales (aguacate, café y mango), árboles frutales de climas templados (almendro, manzano, higo, kiwi, vid, olivo, pera, caqui, cereza y té), cultivos de frutos recubiertos por cáscara (castaño, pistache y nuez), pequeños frutales como la fresa, árboles forestales (pino, sequoia, tejo), plantas herbáceas (alfalfa, papa, algodón y

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

frijol) y plantas ornamentales (azalea, rosal) (Arjona, 2015). Dentro de los cultivos ornamentales que afecta destacan la rosa (*Rosa* sp.), (García-Velasco *et al.*, 2012; Mendoza *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 1992), tulipán (*Tulipa* spp. L.), begonia (*Begonia* sp. L.), peonia (*Paeonia* spp. L.) (Fresa, 1975 citado en González, 2013), Jasmín (*Jasminum* spp. L.), violeta (*Viola* spp. L.), ciclamen (*Cyclamen persicum* L.) y clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) (Smith *et al.*, 1992).

Los métodos de control para *R. necatrix* son diversos desde el manejo cultural y físico donde se parte con el establecimiento de material vegetativo sano, patrones tolerantes, desinfección de herramientas e implementos de trabajo (Arjona, 2015; Tamayo, 2007; Pérez-Jiménez, 2006). En el control químico se han utilizado fungicidas sistémicos de la familia de los benzimidazoles como benomilo, carbendazima, y metiltiofanato, de contacto como fluazinam, siendo este último el fungicida más efectivo (López-Herrera *et al.*, 2007). Sin embargo, en un estudio realizado sobre la sensibilidad de *R. necatrix* a diferentes fungicidas se encontró que las cepas T1GRJ, T2GRJ y T3GRJ, fueron insensibles a quitozeno ya que este fungicida sólo retrasó el crecimiento micelial por alrededor de tres días, lo que se puede traducir en probables casos de resistencia (Domínguez, 2008; García-Velasco *et al.*, 2012). Por lo anterior, el objetivo de este trabajo fue evaluar las variables agronómicas desarrolladas en *Rosa hybrida* var. Freedom por efecto de la inoculación del hongo antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Importancia del cultivo de rosa

La floricultura es una de las actividades agrícolas con mayor rentabilidad en México, y el país tiene la capacidad de ser potencia exportadora en este rubro. Diversas ventajas competitivas como su posición geográfica con puertos comerciales ubicados en dos océanos, su cercanía con los Estados Unidos como uno de los principales mercados (Tejeda-Sartorius *et al.*, 2015). En México se encuentran registradas 1,762.87 ha de rosa (SIAP, 2022) las tres entidades federativas con mayor superficie cultivada son en primer lugar, el Estado de México con una superficie total de 876.02 ha, en segundo lugar, el Estado de Puebla con un total de 383.60 ha y en tercer lugar el Estado de Morelos con una participación total de 300.50 ha (SIAP, 2022). El resto de la superficie sembrada a nivel nacional se encuentra distribuida en los Estados de Guerrero, Hidalgo, Jalisco, Oaxaca, Querétaro, Tlaxcala y la Ciudad de México (SIAP, 2022).

A nivel internacional, no se ha encontrado información oficial que nos dé un panorama concreto de la superficie sembrada con rosa. Sin embargo, existen otros datos como es el caso de las exportaciones de rosa en la modalidad de "flores y capullos frescos", cortadas para ramos o adornos (TRADE MAP, 2021) destacando entre ellos: Países bajos con un valor exportado de 1.548.684 ton, Ecuador con 49.086 ton y Kenia con 550.998 ton de rosa exportada. Cabe destacar que, México se encuentra en el número 20 a nivel mundial con un valor exportado de 4.228 ton durante el año 2021 (TRADE MAP, 2021).

En el Estado de México la superficie sembrada total de rosa es de 876.02 ha (SIAP, 2022), principalmente en los municipios de Villa Guerrero (461 ha), Tenancingo (206 ha) y Coatepec Harinas (120 ha) (SIAP, 2022), el resto de superficie se encuentra distribuida en los municipios de Atizapán, Texcoco, Atlacomulco, Zumpahuacán,

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Malinalco, Ixtapan de La Sal, Valle de Bravo y Donato Guerra. La demanda de flores se basa en las tradiciones y festividades religiosas como: el Día de San Valentín, Día de la Madre, Día de los Muertos y el Día de la Virgen de Guadalupe (Ramírez y Torres, 2021).

En el sistema productivo de rosa, la elección del portainjerto es esencial para conseguir un buen rendimiento en la producción, en este sentido las características más interesantes son: buena calidad y rendimiento elevado, suficiente afinidad con el portainjerto, bajas exigencias en temperatura para poder asegurar la producción en las condiciones del invierno, flores homogéneas, bien formadas con más de 35 pétalos, coloración uniforme intensa y perfume suave, pedúnculo rígido, follaje abundante, plantas vigorosas y de fácil multiplicación, intervalo de tiempo corto entre la poda y la floración, buena tolerancia al envasado y transporte además de, una larga vida en florero, finalmente, que sean resistentes a plagas y enfermedades (Baudoin *et al.*, 2002).

Algunas variedades de rosas destinadas para flor de corte, de jardín o de paisajismo son comúnmente propagadas por estacas directamente, aunque la mayoría de los cultivares modernos de rosa son establecidos sobre portainjertos comúnmente provenientes de *Rosa indica* "Major", *Rosa* sp., "Manetti", *Rosa canina*, *Rosa multiflora* y *Rosa hybrida* "Natal Briar" (Arzate-Fernández *et al.*, 2014). Sin embargo, a pesar de los esfuerzos en usar portainjertos que proporcionen cierta tolerancia o resistencia hacia patógenos, estos siguen siendo atacados por un complejo de microorganismos, tanto en la parte aérea como en la rizosfera de la planta, entre ellos se han reportado, *Fusarium rosicola* sp. nov. (He *et al.*, 2021), *Verticillium dahliae* (García-Velasco *et al.*, 2017), y *Rosellinia necatrix* (Domínguez, 2008; García-Velasco *et al.*, 2012), este último causando la pudrición blanca de la raíz.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

2.2. *Rosa hybrida*

El género *Rosa* comprende arbustos ornamentales de diferentes tamaños con numerosas especies y variedades que mediante cruzamientos, hibridaciones y selecciones aumentan continuamente la variación genética dando origen al complejo híbrido *Rosa hybrida* (Barrera *et al.*, 2007). Las rosas son especies leñosas perennes (El-Shoura, 2018) y sus variedades son destinadas para propósitos de flor de corte, de jardín o de paisajismo. Estas plantas son comúnmente propagadas por injerto en patrones rústicos de especies como *R. indica-major*, *R. manetti*, *R. canina*, *R. multiflora* y *R. hybrida* cv. Natal Briar. Los cuales son de fácil injerto en cualquier época del año, con buena ramificación, raíz fibrosa de tolerancia a diferentes tipos de suelos y resistencia a enfermedades, número reducido de espinas y de fácil propagación (Arzate-Fernández *et al.*, 2014).

2.3. El patosistema *Rosa hybrida* y *Rosellinia necatrix*

El patosistema conformado por el hospedante *Rosa hybrida* y el hongo fitopatógeno de raíz *Rosellinia necatrix* se presenta en áreas del cultivo que presentan exceso de humedad. Los síntomas característicos son la disminución del crecimiento de la planta, pudrición radicular, amarillamiento, marchitez, pequeño y escaso follaje, y finalmente, la muerte de la planta. En la parte subterránea de la planta inicialmente se puede apreciar sobre la corteza de las raíces micelio blanco, algodonoso, que da origen a la formación de cordones miceliales que rodean a las raíces; éstos son de color blanco y conforme maduran se tornan de color gris oscuro a negro. Posteriormente, las raíces se vuelven blandas a causa de la pudrición ocasionada por el hongo, por lo que es fácil desprenderlas del suelo (Domínguez, 2008; García-Velasco *et al.*, 2012).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

2.4. El género *Rosellinia*

El género *Rosellinia* se encuentra conformado por aproximadamente 217 especies (COL, 2023). Las especies que destacan por su importancia económica son: *Rosellinia arcuata*, *R. bunodes*, *R. pepo*, *R. aquila*, *R. quercina* y *R. necatrix* (Smith *et al.*, 1992; Hoopen y Krauss, 2006)

2.4.1. Importancia de *Rosellinia necatrix* Prill.

La enfermedad es conocida como la “podrición blanca de raíz”, causa pérdidas de gran importancia económica a nivel mundial en cultivos ornamentales y árboles frutales (Mehrotra *et al.*, 1990; Smith *et al.*, 1992; Mendoza *et al.*, 1993; López-Herrera *et al.*, 1998; Malgarejo y Salazar, 2003; Hoopen y Krauss, 2006; Ruano-Rosa *et al.*, 2007). En México, se reportó por primera vez en 1978, en cultivos de manzana y pera en los Estados de Puebla e Hidalgo (Romero-Cova, 1993). El rango de huéspedes de este patógeno es amplio, incluyendo especies subtropicales (aguacate, café y mango), árboles frutales de climas templados (almendro, manzano, higo, kiwi, vid, olivo, pera, caqui, cereza y té), cultivos de frutos recubiertos por cáscara (castaño, pistache y nuez), pequeños frutales como la fresa, árboles forestales (pino, sequoia, tejo), plantas herbáceas (alfalfa, papa, algodón y frijol) y plantas ornamentales (azalea, rosal) (Arjona, 2015). Dentro de los cultivos ornamentales que afecta destacan la rosa (*Rosa* sp.), (García-Velasco *et al.*, 2012; Mendoza *et al.*, 1993; Smith *et al.*, 1992), tulipán (*Tulipa* spp. L.), begonia (*Begonia* sp. L.), peonia (*Paeonia* spp. L.) (Fresa, 1975 citado en González, 2013), Jasmín (*Jasminum* spp. L.), violeta (*Viola* spp. L.), ciclamen (*Cyclamen persicum* L.) y clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) (Smith *et al.*, 1992).

2.4.2. Morfología de *R. necatrix*

La fase asexual (*Dematophora necatrix* - Anaformo) en el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA), a simple vista el micelio joven es blanco y algodonoso,

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

cambiando a color café claro a oscuro con el tiempo (Arjona, 2019). Bajo microscopio, los crecimientos más jóvenes son hialinos y los crecimientos más maduros son de color marrón a café oscuro (González-Domínguez *et al.*, 2009). La pigmentación se localiza en las paredes de las células y depende de la actividad metabólica. *D. necatrix* es un hongo de crecimiento rápido cuyo óptimo se da en condiciones artificiales de oscuridad entre 20 y 24 °C. Hifas hialinas, o pigmentadas, de menos de 5 µm de ancho donde se encuentra la estructura morfológica más característica de su micelio en los cultivos más viejos, en forma de pera de 7.5-10 µm de ancho antes del septo (Figura 1) (Sivanesan y Holliday, 1972), frecuentemente utilizado para su identificación primaria (Arjona, 2015).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés



Figura 1. Características morfológicas de *Dematophora* (=Rosellinia) *necatrix*. A1) Micelio, pigmentado de color marrón con hinchazones piriformes antes del septo; A2) Sinema (Fotos del autor, 2023).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

La fase sexual (*Rosellinia necatrix*-Teleomorfo) de acuerdo con Pérez-Jiménez *et al.*, (2003), presenta estroma negro, esférico o semigloboso, además, cuenta con un ostiolo papilado bien diferenciado. El diámetro del estroma es de 1.64 ± 0.18 mm y su altura promedio es de 2.19 ± 0.11 mm, estos se encuentran formados de dos capas, la externa (ectostroma) negra y rígida y la interior (endostroma) color crema, que adquiere un aspecto polvoriento en la madurez, el cual sirve para unir el peritecio al estroma. Peritecio densamente agregado, globoso, negro, pedicelado en la base, de 1 a 2 mm de diámetro, embebido en un subiculum marrón, hifa septada que forma una corteza delgada en el sustrato de la planta en la base del peritecio. La cual es de dos tipos: unas uniformes de 5-8 μm de ancho, y otras con hinchazones típicas piriformes formadas inmediatamente antes del septo. Peritecio con ostiolo papilado. La pared del peritecio es de 3 capas, la capa exterior es gruesa color marrón. El pedicelo se encuentra provisto de filamentos entrelazados con paredes endurecidas. Ascas cilíndricas, alargadas, unitunicadas, octospóricas de 250-380 x 8-12 μm , el ápice se tiñe de azul con iodo. Ascosporas cimbiformes, rectas o curvas, de color marrón oscuro, de 30-50 x 5-8 μm , con una abertura. Las estructuras sexuales características de *R. necatrix*, se pueden ver en la (Figura 2).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés



Figura 2. Características morfológicas de *Rosellinia necatrix* en su fase teleomorfa encontradas en raíces de aguacate. 1) Raíz de aguacate con ascocarpos en superficie; 2) estroma y peritecio. ec: ectostroma, en: endostroma; 3) sección transversal del peritecio y capas externas (ex), intermedias (me) e internas (in); 4) ascosporas y ápice teñido con yodo al 5 %; 5) ascosporas maduras con hendidura de germinación; 6) ascospora germinada (Tomado de Pérez-Jiménez *et al.*, 2003).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

2.4.3. Proceso de infección de *Rosellinia necatrix*

R. necatrix es un parásito facultativo con un amplio rango de hospedantes, es decir, es capaz de sobrevivir y crecer en el suelo en ausencia del hospedero (Smith *et al.*, 1992; García *et al.*, 2005). Se desarrolla especialmente en suelos húmedos donde las raíces sufren asfixia, invade la raíz y la base del tallo, hasta alcanzar la superficie del suelo. Puede atacar a las plantas en cualquier etapa de su desarrollo (García *et al.*, 2005). La enfermedad se presenta en suelos con alto contenido de materia orgánica y en lugares donde se han sembrado cultivos susceptibles al hongo (Tamayo, 2007), en suelos arcillosos con temperatura entre 20-25 °C (Mendoza *et al.*, 1993), pH de 6.2 y humedad del suelo entre 75-100 % (Pérez-Jiménez *et al.*, 2003).

2.4.5. Ciclo de vida de *Rosellinia necatrix*

El ciclo de vida asexual sucede a través de dos tipos de esporas: clamidosporas y conidiosporas (Figura 3). Las clamidosporas se pueden encontrar bajo condiciones ambientales muy específicas y son raramente encontradas en condiciones naturales y artificiales. Estas esporas son esféricas y se forman por condensación de las hinchazones en las células piriformes.

En el ciclo sexual, las esporas sexuales (ascosporas) se forman en las ascas dentro de los peritecios y son expulsadas al exterior en una masa mucilaginosa cuando están maduras a través de la papila de los peritecios; además, las ascosporas liberadas germinan a través de su hendidura ventral produciendo un micelio con hinchazones periformes que de nuevo infecta las raíces alimenticias de la planta completando el ciclo asexual del patógeno (Figura 3). Estas estructuras se han reportado en raíces de árboles de manzana (Teixeira & Whalley, 1991) y en aguacate (Pérez-Jiménez *et al.*, 2003). Para la formación de peritecios tanto en condiciones naturales, como *in vitro* se requiere un largo periodo de tiempo en

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

condiciones de alta humedad (Teixeira & Whalley, 1991; Pérez-Jiménez *et al.*, 2003).

R. necatrix es muy sensible al calor y para su crecimiento es fundamental la humedad en el suelo (Anselmi y Giocerlli, 1990 citado en Arjona, 2015) y el correcto aireamiento, dado que se trata de un hongo aerobio. La presencia de luz impide un crecimiento óptimo del micelio.

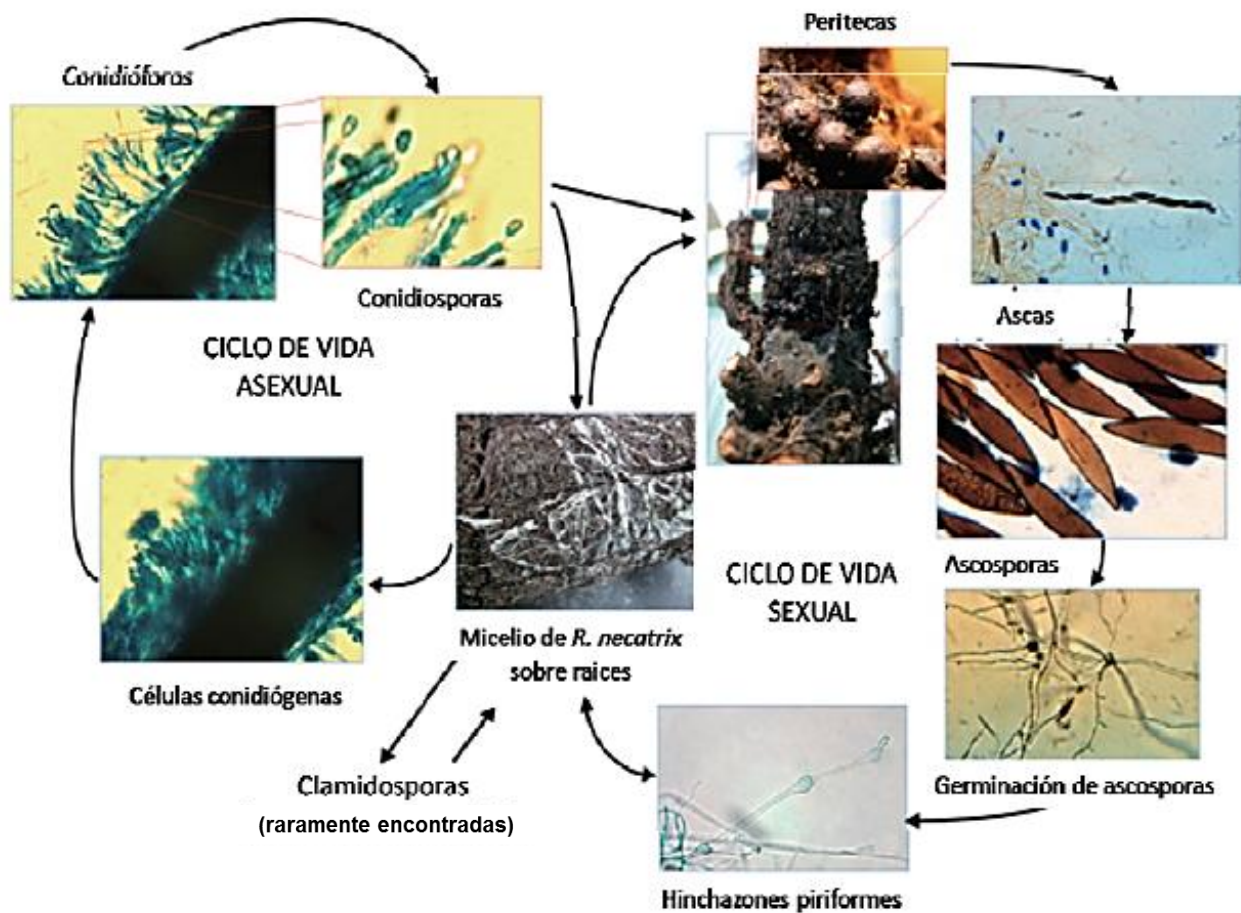


Figura 3. Ciclo de vida de *R. necatrix* (Arjona, 2015, adaptado de Pliego *et al.*, 2012).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

2.5. Métodos de manejo de *R. necatrix*

Los métodos de control para *R. necatrix* son diversos desde el manejo cultural, físico, pasando por el químico hasta el manejo biológico más recientemente trabajado.

En el manejo cultural y físico se parte con el establecimiento de material vegetativo sano, patrones tolerantes, desinfección de herramientas e implementos de trabajo para prevenir la infección; en el sitio donde hubo infección se debe realizar la aplicación de cal (2-4 Kg/m²), solarización húmeda durante 45-60 días y la quema de material vegetal infectado (Pérez-Jiménez; 2006; Tamayo, 2007; Arjona, 2015).

En el control químico se han utilizado fungicidas sistémicos de la familia de los benzimidazoles subgrupo B1, (inhiben el ensamble de la proteína β -tubulina en la mitosis): como benomilo, carbendazima, y metiltiofanato, de contacto como fluazinam, subgrupo C5 de la familia de las dinitroanilinas, (inhiben la respiración celular afectando los estadios previos a la infección) (FRAC, 2023), siendo este último el fungicida más efectivo (López-Herrera *et al.*, 2007). Sin embargo, en un estudio realizado sobre la sensibilidad de *R. necatrix* a diferentes fungicidas se encontró que las cepas T1GRJ, T2GRJ y T3GRJ, fueron insensibles a quintozeno ya que este fungicida sólo retrasó el crecimiento micelial por alrededor de tres días, lo que se puede traducir en probables casos de resistencia (Domínguez, 2008; García-Velasco *et al.*, 2012).

El control biológico sobre este patógeno es un tema que poco se ha trabajado. Sin embargo, se tienen reportes que el género *Trichoderma* puede ser un antagonista con potencial para su uso en el manejo de *Rosellinia necatrix*. Resaltan las especies de *Trichoderma harzianum*, *T. viride*, *T. koningii* y *T. hamatum* con efectos beneficiosos en el control de hongos fitopatógenos y las de mayor aplicación en el desarrollo de la agricultura moderna sostenible (Companiononi *et al.*, 2019). En este mismo sentido, otra especie con resultados sobresalientes es *Trichoderma*

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

asperellum como el reportado por Vargas-Hoyos *et al.*, (2012), sobre *Rhizoctonia* sp. en el cual observaron micoparasitismo. Por otra parte, Martínez-Coca *et al.*, (2018), reportan el efecto de los metabolitos volátiles, secretados por *T. asperellum* al reducir el crecimiento de los aislados de *Fusarium* spp. procedentes de garbanzo (*Cicer arietinum* L.).

Los microorganismos antagonistas como *Trichoderma* spp. son capaces de ejercer un control preventivo principalmente al colonizar las raíces de las plantas las cuales son su hábitat natural, proliferando en simbiosis con la planta, regulando las poblaciones de patógenos e induciendo resistencia en las mismas (Infante *et al.*, 2009).

2.6. El género de *Trichoderma*

El género *Trichoderma* en su estado vegetativo presenta micelio con septos simples. Las especies son haploides y su pared está compuesta por quitina y glucano. Se reproducen asexualmente por conidios. Presentan conidióforos hialinos ramificados, fiálides simples o en grupos, conidios de 3 a 5 µm de diámetro los cuales presentan un rápido desarrollo en medios de cultivo sintéticos. Posee la capacidad de producir clamidosporas en sustratos naturales. Estas estructuras toleran condiciones ambientales adversas y son de gran importancia para la supervivencia del género en el suelo bajo condiciones desfavorables (Harman, 2001). Macroscópicamente las colonias se pueden reconocer fácilmente por su rápido crecimiento y pigmentación variada que va de color blanco, verde y amarillo verdosa; las áreas con conidios se presentan con anillos concéntricos, el reverso de las colonias es usualmente coloreado de amarillo – ámbar o amarillo – verde (Sánchez y Rebolledo, 2010).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

2.6.1. Condiciones para su desarrollo en campo

En general, la mayoría de las especies del género *Trichoderma* se consideran mesófilas (que tienen condiciones ambientales óptimas para su desarrollo), la baja temperatura y el clima seco pueden llegar a influir negativamente en su actividad (Samuels, 2006 citado en Vargas-Hoyos *et al.*, 2012). Por otra parte, autores como Mukherjee y Raghu, (1997) y El-Shoura, (2018), mencionan que, un aspecto importante en los estudios de biocontrol, el antagonista debe tener la misma temperatura óptima de crecimiento y actividad que el patógeno.

Las temperaturas promedio mínimas en donde las especies de *Trichoderma* se pueden desarrollar en condiciones de campo son de 18.4 °C y máximas promedio de 28.6 °C (Ruíz-Sánchez *et al.*, 2022). Aunque, en condiciones *in vitro* se ha demostrado su crecimiento a una mínima de 4 °C y máxima de 30 °C (Vargas-Hoyos *et al.*, 2012).

2.7. Mecanismos de acción de *Trichoderma* spp.

El género *Trichoderma* establece relaciones antagonistas con otros hongos fitopatógenos. Se han reportado mecanismos de acción directos, entre estos: micoparasitismo, competencia y antibiosis, de manera indirecta ha demostrado tener influencia en la promoción del crecimiento de algunas plantas, la inducción de resistencia sistémica contra fitopatógenos (Windham *et al.*, 1989; Vinale *et al.*, 2008; Infante *et al.*, 2009; Martínez *et al.*, 2013) y la desactivación de las enzimas del patógeno, aunque, de acuerdo con Martínez y colaboradores, (2013), falta mucho que conocer sobre los mecanismos de acción indirectos de este potencial antagonista.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

2.7.1. Mecanismos de acción directos

2.7.1.1. Micoparasitismo

Dentro de los mecanismos de acción directos reportados está el micoparasitismo definido como una simbiosis antagónica entre organismos (Infante *et al.*, 2009). Durante el proceso de micoparasitismo crecen quimiotrópicamente hacia el hospedante, se adhieren a las hifas de este, se enrollan en ellas frecuentemente y las penetran en ocasiones. La degradación de las paredes celulares del hospedante se observa en los estados tardíos del proceso parasítico, que conlleva al debilitamiento casi total del fitopatógeno (Carsolio *et al.*, 1999). En este proceso complejo se ha separado en cuatro etapas para su mejor comprensión; Crecimiento quimiotrófico, reconocimiento (Infante *et al.*, 2009), adhesión y enrollamiento, así como también, la actividad lítica (Haran *et al.*, 1996).

El micoparasitismo por *T. asperellum* contra el fitopatógeno *Alternaria porri* fue observado sobre plantas de cebolla el cual sucedió en cuatro eventos diferentes: el contacto, la invasión, la penetración y la destrucción del micelio del fitopatógeno (Camacho-Luna *et al.*, 2021).

Por otra parte, Alonso, (2020), reporta que las cepas SS1, TA4 y TFR3 presentaron simbiosis tipo parasítica contra *Verticillium dahliae*. Con la cepa SS1 se observó una interacción muy estrecha con el micelio de *V. dahliae*, la cual se manifestó por medio de adhesión de las hifas y enrollamiento. Por su parte, las cepas TA4 y TFR3 reconocieron al patógeno y se adhirieron a este; el micoparasitismo de la cepa TA4 fue evidente la penetración del micelio de *V. dahliae* por medio de haustorios. También demostró en otro experimento hecho con *Botrytis cinerea*, que las cepas SS1 y TA4 presentaron superenrollamiento del micelio de *B. cinerea*.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

2.7.1.2. Competencia por espacio y nutrientes

Otros mecanismos de acción son la competencia por espacio y nutrientes (Martínez *et al.*, 2013). La competencia se define como el crecimiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento (sustrato, nutrientes, luz, etc.), siempre y cuando su utilización reduzca la cantidad o espacio disponible para los demás organismos. Este tipo de antagonismo se ve favorecido por las características del agente de control biológico como plasticidad ecológica, velocidad de crecimiento y desarrollo, y, por otro lado, por factores externos como tipo de suelo, pH, temperatura, humedad, entre otros (Ahmad y Baker, 1987). La competencia por nutrientes como el nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, celulosa, quitina, laminarina, y pectinas, entre otros.) y microelementos (Stefanova *et al.*, 1999).

Infante y colaboradores, (2009), afirman que, la evidencia de la plasticidad ecológica de *Trichoderma* spp. es su presencia en diferentes tipos y usos de suelo, es un excelente competidor por espacio y nutrientes, aunque, la competencia depende de la especie.

2.7.1.3. Antibiosis por metabolitos volátiles y no volátiles

Este mecanismo es considerado como la acción directa de antibióticos o metabolitos tóxicos producidos por un microorganismo sobre otro sensible a estos (Infante *et al.*, 2009). Se ha reportado que, numerosas cepas de *Trichoderma* producen metabolitos secundarios volátiles y no volátiles, algunos de los cuales inhiben el desarrollo de otros microorganismos con los que no hacen contacto físico. Tales sustancias inhibidoras son consideradas “antibióticos” y se han identificado compuestos del tipo de las alquilpironas (6- α -pentil-pirona), isonitrilos (isonitrina), poliquétidos (harzianolida), peptabioles (trichodermina, atroviridina, alameticina, suzucacilina y trichoianina), dicetopiperacinas (gliovirina y gliotoxina),

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

sesquiterpenos (ácido heptelídico) y esteroides (viridina) (Howell, 2003; Sivasithamparam y Ghisalberti, 1998). La capacidad de una misma cepa de *Trichoderma* de secretar varios compuestos antifúngicos simultáneamente, limita el riesgo de aparición de microorganismos resistentes a estos metabolitos, aspecto relevante desde el punto de vista práctico (Infante *et al.*, 2009).

Stefanova *et al.*, (1999), demostraron que, algunos metabolitos volátiles producidos por algunas cepas de *Trichoderma* provocaron un desarrollo micelial menos denso y reducción del tamaño de la colonia de *Phytophthora nicotianae* en comparación con el testigo y fue la cepa A-86 quien produjo un efecto fungistático notable sobre el hongo fitopatógeno.

Ronnie-Gakegne y Martínez-Coca, (2018), demostraron que, los metabolitos no volátiles de diferentes cepas de *T. asperellum* inhibieron el crecimiento de *Alternaria solani* desde 10,64 a 85,71 %, con diferencias significativas ($p \leq 0,05$) con el control a partir de las 48 h, destacando que, la cepa Ta. 85 inhibió el crecimiento de *A. solani* desde las 24 hasta las 192 h, mostrando la mayor actividad antagónica y estabilidad en comparación al resto de cepas evaluadas.

2.7.2. Mecanismos de acción indirectos

2.7.2.1. Promoción de crecimiento vegetal

Altomare y colaboradores, (1999), sugieren que, la promoción del desarrollo vegetal se debe a que, *Trichoderma* tiene la capacidad de solubilizar manganeso, sin importar el pH del medio, este microelemento es requerido para funciones fisiológicas de las plantas, como fotosíntesis, metabolismo del nitrógeno, síntesis de los compuestos aromáticos, y, además, para precursores de aminoácidos y hormonas, de fenoles y de lignina, se asegura en parte el crecimiento y la resistencia a enfermedades en las plantas. Además de, la alta capacidad de multiplicarse en el

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

suelo y colonizar las raíces, entre las hormonas que libera se reportan las auxinas, giberelinas y citoquininas, que estimulan la germinación y desarrollo vegetal (Altomare *et al.*, 1999; Vera *et al.*, 2002).

La promoción del crecimiento de las plantas no es una característica universal de todas las cepas de *Trichoderma*, debido a la diversidad de relaciones simbióticas entre plantas y microorganismos, y a que, la interacción entre las plantas y *Trichoderma* involucra el reconocimiento de moléculas producidas por hongos como auxinas y compuestos orgánicos volátiles (VOCs) los cuales pueden promover el crecimiento de las plantas, debido a la variabilidad en cuanto a la cepa que los produce, a los compuestos implicados y diversos mecanismos de inducción (Nieto-Jacobo *et al.*, 2017).

En una investigación realizada por Camacho-Luna y colaboradores, (2021), demostraron que, la inoculación previa de *T. asperellum* a una concentración de 1.7×10^7 esporas ml^{-1} , haciendo aplicaciones en tres momentos: al momento de la siembra, en el trasplante y al tercer mes después de la siembra de cebolla, indujo la actividad de las enzimas de defensa glucanasas y quitinasas para la degradación de la pared celular de *A. porri*.

2.8. Resistencia sistémica

El término “resistencia sistémica” identifica el fenómeno en su forma general, sin ahondar en un tipo específico de expresión o regulación de las defensas en las plantas. En la inducción de la defensa, el reconocimiento planta-patógeno juega una función central. Las plantas desarrollaron respuestas que se activan de manera sistémica luego de la infección local, con el fin de aumentar la magnitud y velocidad de la respuesta defensiva (Delgado-Oramas, 2020).

El término fue propuesto en el Primer Simposio Internacional de Resistencia Inducida a Enfermedades de Plantas realizado en Corfú, Grecia, en el año 2000,

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

para designar a todos los tipos de respuestas que incitan a las plantas a protegerse de las plagas, incluyendo tanto respuestas locales como sistémicas (Cavalcanti *et al.*, 2005). Los tipos de respuestas sistémicas que se conocen, de forma general, son: la Resistencia Sistémica Adquirida (RSA), la Resistencia Sistémica Inducida (RSI) y la Resistencia Inducida por Heridas (Camarena-Gutiérrez, 2007).

Las dos primeras respuestas sistémicas de resistencia conducen al mismo final; los genes, las vías y las señales químicas son diferentes, pero ambas inducen la resistencia de las plantas al ataque de las plagas. Aunque, las vías no son iguales, pueden trabajar sinérgicamente y, en ambos casos, ante el reto de la inoculación con un patógeno los genes relacionados con las defensas son expresados rápidamente y en elevados niveles (Delgado-Oramas, 2020). Generalmente, el ácido salicílico es requerido para la resistencia a patógenos biotrofos y hemibiotrofos, mientras que el ácido jasmónico y el etileno median la resistencia a patógenos necrotrofos y a la mayoría de los insectos herbívoros considerados plagas (Díaz-Puentes, 2012).

2.8.1. Resistencia Sistémica Inducida (RSI)

De acuerdo con Harman *et al.*, (2004), señalan que, algunas cepas de *Trichoderma* pueden activar un mecanismo nativo de defensa en las plantas, conocido como **Resistencia Sistémica Inducida (RSI)**. Esto supone que pueden controlar a patógenos distantes del lugar donde se encuentra físicamente el antagonista. A su vez, permite disminuir la incidencia de la enfermedad en la planta. Incluso, existen evidencias de este modo de acción frente a nematodos (Sharon *et al.*, 2011).

Diversas clases de compuestos pueden ser liberados por *Trichoderma* en la zona de la rizosfera y estar relacionados con la IRS en las plantas. La primera clase son proteínas con actividad enzimática o de otro tipo. Algunas de las proteínas

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

secretadas por *Trichoderma* al parecer inducen solo respuestas locales y necrosis (Martínez *et al.*, 2001; Brotman *et al.*, 2008), otras activan mecanismos de defensa en plantas como los productos de los genes de avirulencia (Woo *et al.*, 2006; Woo *et al.*, 2007). Otra clase de elicitores de defensa en las plantas incluye oligosacáridos y compuestos de bajo peso molecular, liberados por la acción de enzimas de *Trichoderma*.

Otros estudios sobre este mecanismo de acción indican que, *Trichoderma* spp., se encarga de activar el sistema de defensa de la planta, por flujos de iones, para inducir el sistema enzimático oxidativo o activando la *resistencia sistémica inducida*, seguido de deposición de calosa y síntesis de polifenoles, posteriormente se involucra la señalización por el salicilato (SA) y jasonato/etileno (JA/ET), esto da como resultado que, la planta adquiera ciertos niveles de tolerancia a la invasión de patógenos (Howell, 2003; Mukherjee *et al.*, 2012; Mukherjee *et al.*, 2012).

Este mecanismo de acción (RSI) también se ha reportado en bacterias que colonizan raíces, llamadas rizobacterias promotoras del crecimiento de la planta (PGPR), entre las que se encuentran cepas de *Pseudomonas*, y que no causan daños visibles en las raíces de las plantas. Estas bacterias son capaces de inducir resistencia local y transferirla a otras partes de la planta consiguiendo la inducción de resistencia sistémica (Métraux, 2001). La RSI no acumula proteínas relacionadas a la patogénesis (PR) (Uwe, 2006), y no todos los casos de RSI se deben a la señalización del SA, también son mediadas por una señal del jasmonato (JA) y etileno (ET) (Walters, 2009).

Otros casos de las bacterias PGPR son por ejemplo con *Bacillus subtilis* que, además de, promover el crecimiento, también induce resistencia sistémica en las plantas hospedantes a través de la liberación de compuestos volátiles como acetoína y 2,3-butanodiol (Kobayashi *et al.*, 2014). Tras la activación de RSI, se ha observado un aumento en la producción de peroxidasa, una enzima antioxidante

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

presente en las plantas, así como la activación de ciertos genes de defensa de plantas que codifican para las proteínas fenilalanina amonio liasa (PAL), quitinasa, β -1, 3 glucanasa (Mishra *et al.*, 2014). Es conocido también el efecto de *Bacillus* spp. como elicitores de RSI en cultivos agrícolas, tales como tabaco, pepino, sandía, jitomate y chile contra enfermedades ocasionadas por hongos, nematodos, bacterias y virus (Kloepper *et al.*, 2004). De las especies de *Bacillus*, se mencionan a *B. subtilis* y *B. cereus* por su capacidad de inducción de RSI hacia fitopatógenos (Choudhary *et al.*, 2009).

Los lipopolisacáridos de *Pseudomonas fluorescens* WCS417, están implicados en liderar la RSI contra *P. syringae* pv. *tomato*, al igual que induce la resistencia sistémica frente al nematodo *Meloidogyne javanica* (Iavicoli *et al.*, 2003; Yan *et al.*, 2002). El antibiótico 2,4-DAPG, además de ser un antifúngico, lidera la RSI en *Arabidopsis thaliana*, este antibiótico es producido por *P. fluorescens* CHA0, es el compuesto clave en la resistencia contra el hongo *Perospora parasítica* (Iavicoli *et al.*, 2003).

La colonización de raíz de *A. thaliana* por *P. fluorescens* WCS417r estimula la RSI dependiente al jasmonato/etileno. Se ha demostrado que el gen MYB72 es sensible y se ve activado en el sistema radicular al estar en contacto con *P. fluorescens* WCS417r, que estarían codificando la proteína R2R3-MYB como factor de transcripción, componentes esenciales durante el primer paso de la cascada de señalización en *A. thaliana* (Van der Ent *et al.*, 2008).

Aunque, en comparación con el control químico tradicional, la resistencia sistémica inducida por agentes bióticos o abióticos no tiene efectos inmediatos drásticos sobre la reducción de la enfermedad, pero si tiene un efecto mucho más duradero. La reacción de resistencia comienza muy pronto después de la aplicación del agente inductor y los beneficios duran, en general, entre tres semanas y dos meses, aunque existen reportes de duración de la resistencia hasta por seis meses (Kuc, 2001).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

2.8.2. Resistencia Sistémica Adquirida (RSA)

La resistencia sistémica adquirida se refiere a distintas vías de transducción de señales que juegan un rol importante en la habilidad de la planta para defenderse contra los patógenos, es mediada por un proceso (AS) ácido salicílico-dependiente y es dependiente sobre la expresión sistémica de genes relacionados a patogénesis (Walters, 2009). Diferentes agentes químicos, algunos sintéticos análogos al ácido salicílico (AS), como el ácido benzo-(1,2,3)-tiadiazol-7-carbotioico S-metil ester (BTH) (Vera-Bahima, 2020), la miel de abeja y las nanopartículas de plata (Mejorada-Cuellar *et al.*, 2020), y el fosfito de potasio (Contreras *et al.*, 2014), actúan como inductores de RSA luego del reconocimiento del patógeno se activan respuestas que incluyen la expresión de genes asociados a la defensa llevándose a cabo los procesos como lo indica Díaz-Puentes, (2012):

- a) El fortalecimiento físico de las paredes celulares por la producción de ligninas y la formación de callo,
- b) Se intensifica la producción de fitoalexinas,
- c) Se induce la producción de proteínas antimicrobianas como las quitinasas, β 1,3-glucanasas o peroxidasas, y las proteínas relacionadas con la patogénesis (PR). Gottula *et al.*, (2014), señalan que, las plantas hospederas pueden protegerse contra el ataque de patógenos si han sobrevivido a una infección inicial por virus, bacterias u hongos patogénicos. Se piensa que, la primera infección, o algún daño, “inmuniza” a la planta contra infecciones posteriores por patógenos homólogos.

Cuando las plantas son pretratadas con patógenos necrosantes o inductores sintéticos de RSA, las hojas protegidas sistémicamente reaccionan rápida y más eficientemente a los retos de la infección con un patógeno virulento. Este fenómeno es conocido como “condicionamiento o sensibilización”

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

La RSA ocurre también cuando se crea una herida localizada en la planta causando necrosis. Es una respuesta inespecífica, transitoria, de amplio espectro, y desencadenada tanto por el ataque de un patógeno como por una molécula inductora. El tratamiento desencadena una respuesta sistémica en la planta, y una de las primeras manifestaciones es la reacción de hipersensibilidad (RH), que deriva en muerte celular localizada en el sitio de la infección, dando lugar a lesiones necróticas. La observación de que la RSA se dispersa en la planta principalmente en dirección apical, y se mueve hacia yemas injertadas, sugiere fuertemente que las señales que establecen RSA son traslocadas a través de la planta (Camarena-Gutiérrez y de la Torre-Almaráz, 2007).

Se ha estudiado la vía de respuesta a las heridas en el contexto de la resistencia inducida a insectos predadores en jitomate, tabaco y *Arabidopsis*. El análisis de la resistencia sistémica adquirida a los insectos herbívoros mostró que es causada por inhibidores de proteínasa sintetizados por la planta, que bloquean la función digestiva de los insectos. Las señales responsables de la dispersión de estos inhibidores fueron investigadas cuando se analizó la expresión de RSA. En la planta la sustancia responsable, que se transloca apicalmente, fue llamada factor inductor inhibidor de proteínasa (PIIF por sus siglas en inglés) (Roberts, 1992; Ryan, 1992).

A nivel celular, en las zonas próximas a la lesión necrótica, se observa pérdida de la permeabilidad de la membrana, fuga de electrolitos, producción de especies reactivas de oxígeno, peroxidación de lípidos, refuerzo de la pared celular y presencia de fitoalexinas (Agrios, 2005; Camarena-Gutiérrez y de la Torre-Almaráz, 2007).

En un estudio hecho en plantas de tomate de la variedad Pai-Pai sanas e inoculadas con el viroide de la papita mexicana (MPVd), la miel de abeja al 2 % demostró ser el mejor inductor de resistencia sistémica adquirida contra el MPVd, obteniendo la menor área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). Al igual que las

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

nanopartículas de plata causaron la disminución de la severidad en plantas inoculadas con MPVd (Mejorada-Cuellar *et al.*, 2020).

2.9. Desactivación de los factores de patogenicidad (enzimas del patógeno)

Se sabe que, *T. harzianum*, secreta una proteasa que degrada las enzimas que utiliza *B. cinerea* para atacar la pared celular de las plantas (Harman, 2000), mientras que, *T. viride* produce α -glucosidasa para degradar una fitotoxina de *R. solani* (Howell, 2003). Martínez *et al.*, (2008), mencionan que, la desactivación de los factores de patogenicidad de *Trichoderma* spp. contra hongos fitopatógenos constituye un mecanismo de antagonismo indirecto poco estudiado; sin embargo, Howell, (2003), explica que, es posible que el potencial enzimático de *Trichoderma* spp. actúe como antibiótico para detener el proceso infeccioso de los patógenos y que este sea mucho mayor.

2.10. Especies de *Trichoderma* spp. utilizadas como agentes de control biológico

Companioni y colaboradores, (2019), señalan que, las especies del género *Trichoderma* mayormente estudiadas y que destacan por sus efectos beneficiosos en el control de hongos fitopatógenos y las de mayor aplicación en el desarrollo de la agricultura moderna sostenible son *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii* y *T. hamatum*. Sin embargo, Harman, (2001), menciona que, las cepas silvestres son altamente adaptables y pueden ser heterocarióticas (contienen núcleos de genotipo diferente dentro de un solo organismo y por lo tanto altamente variables), las cepas utilizadas para el control biológico en la agricultura comercial son, o deberían ser, homocarióticas (los núcleos son todos genéticamente similares o idénticos). Esto, junto con un estricto control de la variación a través de la deriva genética, permite

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

que estas cepas comerciales sean genéticamente distintas y no variables. Este es un elemento de control de calidad extremadamente importante para cualquier empresa que desee comercializar estos organismos.

2.11. Atributos y peculiaridades de cepas de la especie *Trichoderma asperellum*

En un estudio realizado por Vargas-Hoyos *et al.*, (2012), encontraron que, los aislamientos de *T. asperellum* T46 y T109, toleraron un rango amplio de temperatura de 4 a 30 °C, demostrando actividad antagónica, confirmando así su potencial de este microorganismo; cabe destacar que, en el ensayo de antagonismo *in vitro* realizado con *T. asperellum* sobre *Rhizoctonia* sp. a 25 °C, se observó la capacidad micoparasítica del hongo antagonista, evidenciada por la habilidad de realizar “enrollamiento” sobre la hifa del fitopatógeno, consolidando esta especie como buena antagonista.

En otro estudio hecho por Martínez-Coca *et al.*, (2018), observaron que, los metabolitos volátiles, secretados por las cepas de *T. asperellum* evaluadas, manifestaron efecto variable sobre el crecimiento de los aislados de *Fusarium* spp. procedentes de garbanzo (*Cicer arietinum*). Los autores también señalan que, hubo metabolitos de algunas cepas que no inhibieron el crecimiento micelial del hongo fitopatógeno, por lo que, estas cepas no tienen perspectivas de uso desde el punto de vista de control biológico.

Cruz-Triana *et al.*, (2018), demostraron que, las evaluaciones hechas con el producto SevetriC® a base de *T. asperellum* cepa Ta.13, disminuyeron significativamente la incidencia y la severidad de las enfermedades ocasionadas por *Fusarium oxysporum* sp. *phaseoli* y *Uromyces appendiculatus*; demostrando un elevado potencial para su control.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Con el objetivo de determinar el efecto de la actividad metabólica de cuatro cepas de *T. asperellum* (Ta.1, Ta.12, Ta.25 y Ta.85), así como el efecto de estas en la interacción pH-temperatura sobre el crecimiento de *A. solani* Ronnie-Gakegne y Martínez-Coca, (2018), demostraron en sus resultados que, las cepas de *T. asperellum* presentaron un alto efecto inhibitorio del crecimiento del patógeno *A. solani*, mediante la emisión de metabolitos volátiles y no volátiles; la cepa de Ta. 85 se destacó por presentar los mejores resultados en todos los ensayos realizados. Además, hubo diferencias significativas entre los tres factores estudiados, lo que indica que hubo interacción entre la temperatura, pH y cepa. A pH 5.2 y temperatura de 35 °C se observó el mayor efecto inhibitorio del crecimiento de *A. solani*. En las interacciones hifales predominaron la granulación, la lisis y la vacuolización del contenido citoplasmático celular en el micelio de los patógenos.

Por otra parte, Reyes *et al.*, (2012), evaluaron la compatibilidad de algunos herbicidas, utilizados en el cultivo del arroz, con tres cepas (T.17, T.75 y T.78) de *Trichoderma asperellum* utilizando la técnica de medio envenenado a diferentes concentraciones, (0,1D= 10 veces menor; D= dosis recomendada y 10D= 10 veces mayor), con tres herbicidas (fenoxaprop-p-etilo; bispiribac-sodio y 2,4D sal de amina). Sus resultados mostraron que, las concentraciones D y 10D de los productos fenoxaprop-p-etilo y 2,4D sal de amina afectaron el crecimiento micelial para las cepas T.17 y T.75; el bispiribac-sodio no afectó ninguna de las cepas evaluadas. Siete días después, aun mostraron efecto residual sobre las cepas T.17 y T.75 los productos de fenoxaprop-p-etilo y 2,4D sal de amina a las concentraciones de 10D. El herbicida bispiribac- sodio resultó ser compatible con las tres cepas de *T. asperellum* evaluadas. En este mismo sentido, Muñoz y colaboradores, (2019), estudiaron el crecimiento de *T. asperellum* en medio sólido utilizando como única fuente de carbono a los plaguicidas clorpirifos y cipermetrina, sus resultados indican que, *T. asperellum* puede crecer en ambos medios utilizando

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

a los plaguicidas como única fuente de carbono con una velocidad de crecimiento de 2.88 ± 0.05 mm día⁻¹ para la cipermetrina y de 2.74 ± 0.05 mm día⁻¹ para el insecticida clorpirifos. Los autores concluyeron que, *T. asperellum*, tiene la capacidad de utilizar a los plaguicidas cipermetrina y clorpirifos mediante procesos catabólicos; lo cual, le da el potencial de ser usado en la biorremediación de suelos contaminados con plaguicidas.

Un experimento realizado en campo por Andrade y Tenelema, (2020), sobre el control de la mancha foliar temprana del cacahuate *Cercospora arachidicola* empleando *T. asperellum*, demostraron que, haciendo aplicaciones cada 30 y 40 días a la dosis de 10 mL L⁻¹ por planta a una concentración de la suspensión de 10⁶ UFC, les permitió disminuir la incidencia de la cercosporiosis hasta un 19 % además de, tener un mejor comportamiento agronómico y productivo en el cultivo, ya que obtuvieron una mayor altura en las plantas inoculadas y mostraron precocidad con respecto al testigo absoluto y al testigo referencial.

2.12. Características morfológicas de *Trichoderma asperellum*

La especie de *T. asperellum* se caracteriza por su micelio el cual es hialino, septado y ramificado. Los conidióforos surgen dentro de agregados que miden 1-1.5 mm. Los conidióforos que sobresalen son fértiles a lo largo de su longitud y a menudo aparecen en forma de penacho. Los conidióforos individuales tienden a ser regularmente ramificados, con ramas laterales más o menos uniformemente espaciadas y emparejadas. Las fiálides en espiral con grupos de 2 a 4 con forma de botella, rectos ligeramente alargados en la mitad (Bravo *et al.*, 2016), también se forman en las puntas de las ramas primarias, secundarias y terciarias, raramente de forma directa a lo largo de la longitud de las ramas primarias o secundarias en 'verticilos cruzados', donde cada una de las 3-4 fiálides se mantiene en un ángulo

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

de 90-100 ° con respecto a las otras fiálides y, a la rama terminal (Samuels *et al.*, 1999). Los conidios son globosos a subglobosos ligeramente ovalados, ancho de 1.84-3.26 µm y largo de 2.44-3.65 µm con pigmentación de color verde-amarilla, pequeños y discretos. Las clamidosporas son terminales, subglobosas a ovoides siendo estas características propias de la especie *T. asperellum* (Bravo *et al.*, 2016). Las estructuras morfológicas de *T. asperellum* cepa TFR3 se muestran en la Figura 4.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

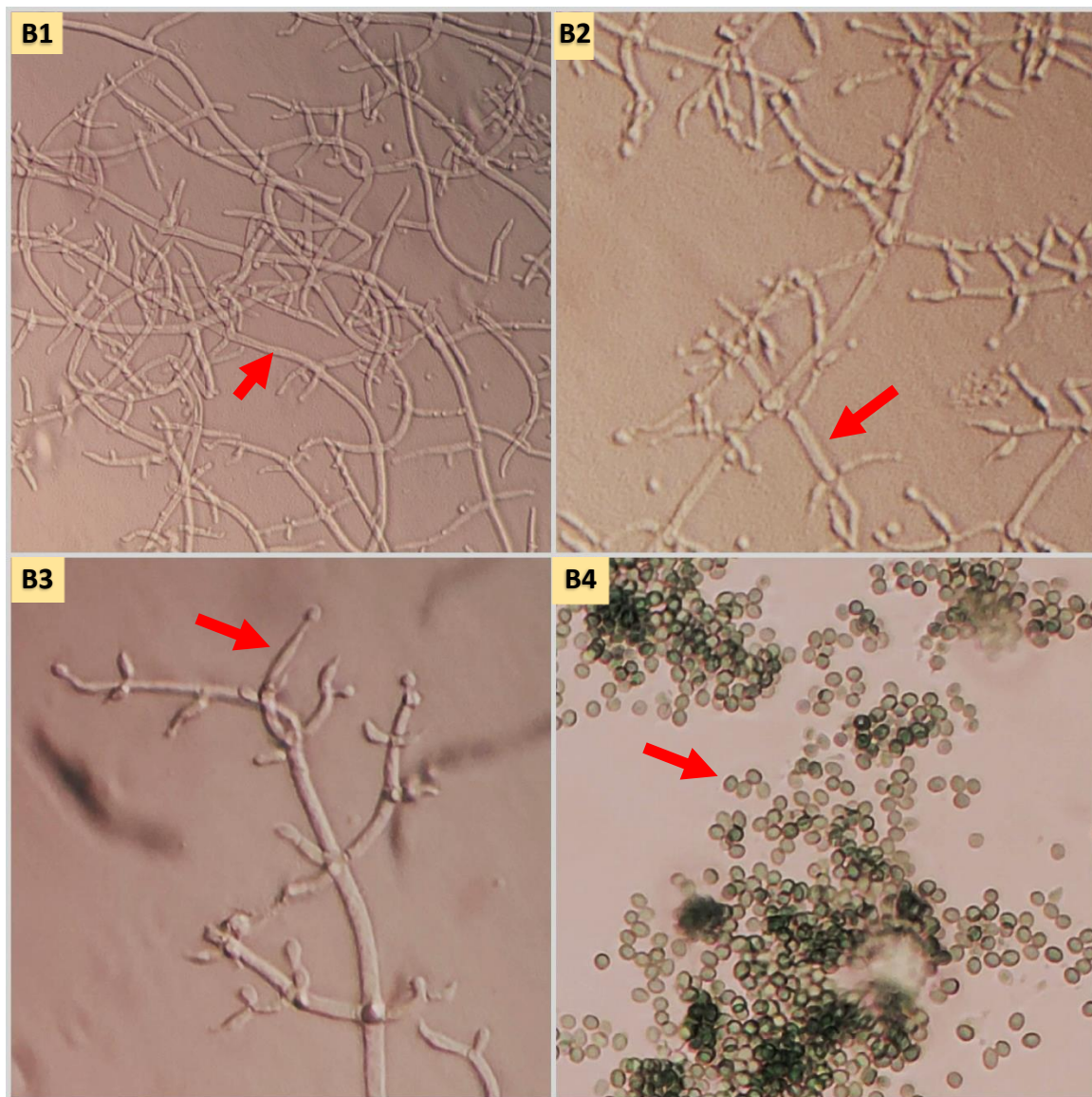


Figura 4. Características morfológicas de *Trichoderma asperellum* cepa TFR3. B1) micelio septado hialino; B2) Conidióforos; B3) Fiálides y B4) Conidios. (Fotos del autor, 2023).

3. JUSTIFICACIÓN

Desde el inicio de la Revolución Verde (concepto mencionado por primera vez por William S. Gaud), tuvo sus inicios durante la Primera Guerra Mundial ampliándose a partir de la Segunda Guerra Mundial y consolidándose formalmente en el año de 1968, llegando a extenderse por todo el mundo. Gracias al desarrollo de productos de síntesis química, se ha alcanzado un nivel de popularidad de su uso entre quienes se dedican a producir hortalizas, hierbas, pastos, frutas y flores, en este último sector la utilización de productos químicos es más acentuado que en el resto de cultivos, esto debido a que, generalmente, las flores no están destinadas al consumo humano y por lo tanto, no existe una preocupación por el uso desmedido y no responsable de los ingredientes activos, por lo que, esto ha generado una serie de problemas a la salud humana, el ambiente así como también, la resistencia que han desarrollado las plagas y enfermedades a través del tiempo.

Hoy en día se vive un proceso de transición en la concientización del daño que estos ingredientes activos ocasionan a la salud humana y la inestabilidad de los ecosistemas, por lo que, desde que comenzaron a surgir estos problemas, se han ido desarrollando nuevos métodos de manejo menos dañinos e igual de eficaces que los de síntesis química, sin embargo, aún es poco el cambio que se ha logrado. Uno de los métodos sobresalientes es con el uso de microorganismos benéficos como es el caso de los hongos entomopatógenos y antagonistas. No obstante, muchos de esos productos pierden su efectividad dado que, las condiciones ambientales de donde fueron extradios es diferente a los lugares en donde son inoculados para cumplir sus funciones, por ello, es importante el estudio de cepas nativas para formular productos locales que ejerzan un mejor efecto sobre el fitopatógeno que queremos enfrentar, sobre todo tratándose de una enfermedad de

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

importancia económica y que con esto el productor tenga una alternativa diferente a la convencional para alcanzar una producción sostenible.

El éxito de un bioproducto a base de microorganismos depende de que, la formulación sea adecuada para su uso y estable en condiciones de almacenamiento (Perdomo *et al.*, 2021). El uso de bioproductos a base de microorganismos benéficos es una alternativa que permite el manejo sostenible de los cultivos, minimiza los problemas de contaminación ambiental, los riesgos para la salud de los operarios y reduce el riesgo de presencia de trazas de agroquímicos en los productos agrícolas (Bettioli *et al.*, 2014). Por lo que, la especie de *T. asperellum* cepa TFR3 tiene el potencial de ser una alternativa sumada a la elaboración de nuevos formulados con cepas nativas para una zona a la cual está adaptada a sus condiciones climáticas para obtener el control deseado sobre algún fitopatógeno o mejorar el desarrollo vegetativo de uno o varios cultivos.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

4. HIPÓTESIS

La inoculación de forma individual y la interacción de *Trichoderma asperellum* y *Rosellinia necatrix* en el porta injerto Natal briar injertado con *Rosa hybrida* var. Freedom, tendrán influencia en los parámetros agronómicos.

5. OBJETIVOS

5.1. Objetivo general

Evaluar las variables agronómicas desarrolladas en *Rosa hybrida* var. Freedom por efecto de la inoculación de *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y *Rosellinia necatrix*.

5.2. Objetivos específicos

- Determinar el efecto de *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 en el crecimiento y desarrollo de plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom. sobre el porta injerto Natal briar.
- Evaluar la acción de *Rosellinia necatrix* en el crecimiento y desarrollo de plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom. sobre el porta injerto Natal briar.
- Evaluar la interacción del antagonista *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 y el hongo fitopatógeno *Rosellinia necatrix* sobre plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom.
- Obtener el peso fresco y peso seco de raíz y parte aérea de las plantas inoculadas con *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 y *Rosellinia necatrix*.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

6. MATERIALES Y MÉTODOS

El trabajo de experimentación se llevó a cabo en el área del terrario en las instalaciones del Centro Universitario UAEM Tenancingo, Carretera Tenancingo - Villa Guerrero Km. 1.5, código postal: 52400, Tenancingo, México.

6.1. Esterilización de sustrato

El sustrato que se utilizó fue una mezcla de turba y perlita agrícola en proporción 2:1, el cual fue desinfectado con el ingrediente activo: Metam sodio (N-metil ditiocarbamato de sodio) Vapam® 42, siguiendo las indicaciones de la etiqueta. En un recipiente de plástico se colocaron 20 L de agua y se agregó 1 L de Metam sodio, y se agitó para tener una solución homogénea. Con el sustrato se formó una cama de 12 m² x 10 cm de altura. La aplicación se realizó con una regadera con capacidad de 5 L, la aplicación se hizo por la mañana, evitando las horas de mayor incidencia solar; inmediatamente después de la aplicación se procedió a tapar el sustrato, para ello se utilizó una película de plástico para invernadero de color blanco lechoso, los bordes se sellaron con tierra para evitar el escape del producto. El sustrato se dejó cubierto por 15 días, pasado este tiempo se retiró la cubierta plástica para permitir la ventilación del sustrato, el cual se removió cada 3 días por 15 días. Para la aplicación del producto fue necesario el uso de protección especial como máscara antigás con filtros de carbón activado indicados para el manejo de gases altamente volátiles, impermeable con gorra, guantes de nitrilo de 0.70 mm de espesor, recomendados para el manejo de ácidos, googles de plástico transparente y botas cerradas.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

6.2. Siembra y mantenimiento de las plantas de rosa en macetas

Los recipientes utilizados fueron macetas de plástico duro de 12 pulgadas de diámetro, se llenaron con el sustrato previamente esterilizado y se establecieron en cada maceta tres plantas de rosa variedad Freedom injertadas sobre el patrón Natal briar, con una edad de las plantas de rosa en el momento del experimento de 2 años. El mantenimiento de las plantas fue de manera convencional con riegos cada tercer día y nutrición mediante un fertilizante granulado triple 18 y 18-46-00, complementado con aplicaciones foliares de micronutrientes.

6.3. Preparación de medio PDA

En una balanza analítica, se pesaron 9.75 g de medio papa dextrosa agar (PDA) los cuales fueron diluidos en 250 mL de agua destilada en un matraz Erlenmeyer de 500 mL, las cajas de Petri fueron colocadas en un cilindro para su esterilización, este proceso se llevó a cabo en una autoclave (modelo FE-398 marca Felisa) a una temperatura de 120 °C por 15 min. Cuando el medio de cultivo estuvo tolerable al tacto, este fue vaciado a las cajas de Petri en condiciones asépticas. Una vez solidificado el medio PDA en las cajas de Petri, se sellaron con parafilm y se conservaron en refrigerador a una temperatura de 2 °C hasta su uso.

6.4. Reactivación de la cepa de *Rosellinia necatrix*

La cepa de *Rosellinia necatrix* fue tomada de la colección de hongos fitopatógenos bajo resguardo del laboratorio de Fitopatología del Centro Universitario UAEM Tenancingo. Bajo condiciones asépticas, de un tubo de ensayo que contenía al hongo con aceite mineral, se tomó un fragmento y se eliminó el residuo de aceite con papel secante estéril. Posteriormente, fue sembrado en medio de cultivo PDA (papa dextrosa agar) (BDBioxon®). El fragmento de medio PDA con *R. necatrix*

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

extraído del tubo de ensayo con aceite, se sembró poniendo en contacto el hongo con el medio PDA nuevo. Finalmente, se colocó en una incubadora (Felisa) a una temperatura de 25 °C bajo condiciones de oscuridad durante siete días.

6.5. Incremento de inóculo de *Rosellinia necatrix* en trigo

El incremento de inóculo se realizó en semillas de trigo (*Triticum* sp.), las cuales se sometieron a un proceso de hidratación, realizado de la siguiente manera: en 3 matraces Erlenmeyer de 1,000 mL se colocaron 500 g de semilla de trigo, a las cuales se les adicionaron 500 mL de agua destilada y se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio durante 24 h (González, 2013 con modificaciones), después de este tiempo se eliminó el agua. Posteriormente, las semillas contenidas en los matraces se esterilizaron 3 veces en una autoclave (modelo FE-398 marca Felisa) durante 15 min a una temperatura de 120 °C y a una presión de 1.5 kg/cm². Las semillas estériles se inocularon con *R. necatrix* por medio de cortes circulares de medio PDA (BDBioxon®) con la cepa previamente cultivada, los matraces se sellaron nuevamente con papel aluminio y se mantuvieron en una incubadora a 25 °C bajo condiciones de oscuridad durante 21 días.

6.6. Preparación y aplicación de la suspensión de conidios de *Trichoderma asperellum* cepa TFR3

Se utilizó biomasa de *T. asperellum* cepa TFR3 nativa de la zona florícola sur del Estado de México. La biomasa utilizada fue proporcionada por el proyecto de tesis: Evaluación de sustratos por fermentación líquida, sólida y bifásica para la producción de *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 (Cortes de León, 2023).

El material biológico (biomasa) que se usó para el experimento fue el procedente del sustrato de arroz entero del proyecto de tesis antes mencionado. Se pesó 1 g de biomasa y se colocó en 200 mL de agua destilada estéril la cual se llevó a una

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

parrilla de agitación (Cimarec®) durante 5 minutos y se cuantificó la concentración de conidios en la suspensión con el apoyo de una cámara Neubauer (Marienfeld®) y se llevó a una concentración de la suspensión de conidios de 1×10^{-6} (Hoyos *et al.*, 2008).

Se colocó una alícuota de la suspensión de conidios en la cámara Neubauer, se dejó reposar por un minuto y se procedió al conteo, cuantificando el número de esporas en las 4 cuadrículas de las esquinas y en el mm^2 central para ambas cámaras, el resultado se suma, para luego aplicar la fórmula siguiente (Troya y Vaca, 2014).

$$C = \frac{(\text{Esporas contadas en las 2 cámaras})}{\text{Superficie contada } \text{mm}^2 \times \text{Profundidad mm} \times \text{Dilución}}$$

Una vez conocido la concentración de conidios en la suspensión, se procedió al cálculo del volumen de suspensión necesaria para cubrir los tratamientos, mediante la fórmula siguiente:

$$C1V1 = C2V2$$

Donde:

C1= Concentración 1

V1= Volumen 1

C2= Concentración 2

V2= Volumen 2

Previo al experimento se calibró el volumen de suspensión requerido para tener un buen cubrimiento de la rizosfera de las plantas de rosa, por lo que, se aplicaron 40 mL del preparado por planta, las aplicaciones se repitieron en 3 momentos a) 60 días después del trasplante y las dos subsecuentes cada 7 días.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

6.7. Prueba de viabilidad de los conidios aplicados a los tratamientos

De la suspensión de conidios 1×10^6 preparada en el punto 6.6 se tomó con una pipeta de vidrio estéril, 10 mL y se depositaron en un tubo de ensayo estéril, posteriormente, las muestras se retomaron y con la ayuda de un vortéx (Scientific Industries) estas fueron agitadas, con una micropipeta (BOECO Germany) y una punta estéril se tomaron 50 μ L de la suspensión de conidios y se depositaron en un punto de una caja de Petri con medio PDA, en total se hicieron cinco puntos de siembra de manera equidistante; la prueba se hizo por duplicado, todo esto en condiciones asépticas. Las cajas de Petri se mantuvieron en una incubadora (modelo FE-398 marca Felisa) a una temperatura de 28 °C con luz blanca durante 18 horas; transcurrido el tiempo, se colocó un cubreobjetos directamente sobre los puntos de siembra en el medio PDA y con ayuda de un microscopio compuesto bajo el objetivo 40X, se realizó la revisión de 100 conidios registrando los germinados y no germinados. Para considerar un conidio germinado, se tomó el criterio establecido por Cardona *et al.*, (2014), donde señalan que, solo se considera un conidio germinado cuando el tubo germinativo es del doble del tamaño del conidio.

La viabilidad de conidios se determinó en porcentaje mediante la fórmula de Agus *et al.*, (2015):

$$\% \text{ de viabilidad} = a / (a + b) * 100$$

Donde:

a = número de conidios germinados

b = número de conidios no germinados

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

6.8. Inoculación de *Rosellinia necatrix*

La inoculación de *R. necatrix* en plantas de rosa se realizó 7 días después de la última inoculación (ddi) de *Trichoderma asperellum* cepa TFR3, para lo cual se descubrieron las raíces de las plantas. En cada planta se depositaron 36 g de semilla de trigo inoculada con *R. necatrix* y nuevamente se taparon con el sustrato removido (González, 2013 con modificaciones).

6.9. Diseño experimental y análisis de datos

Se estableció un diseño experimental completamente al azar con 4 tratamientos: T1= Testigo absoluto, T2= *Rosellinia necatrix*, T3= *Trichoderma asperellum* y T4= *Rosellinia necatrix* + *Trichoderma asperellum* con 30 repeticiones para cada uno, donde la unidad experimental fue una planta.

El análisis de los datos para las variables: longitud y diámetro de tallos iniciales, longitud y diámetro de tallo y botón floral; vida florero; así como, peso fresco y seco de follaje y raíz fueron mediante un análisis de varianza (ANOVA) y separación de medias mediante la prueba DGC ($p < 0.05$). Se verificó el cumplimiento de los supuestos de la estadística paramétrica (independencia, homocedasticidad y normalidad). Cuando las variables no cumplieron alguno de los supuestos fue necesario realizar transformación de datos a Ln y $\sqrt{\cdot}$. Para las variables brotes basales y brotes laterales no se realizó un ANOVA dado que los datos obtenidos no cumplieron los supuestos de la estadística, por lo que se procedió a presentarlos de manera descriptiva con promedios y porcentajes.

6.10. Variables evaluadas

Por cada tratamiento se evaluaron las siguientes variables:

- 1) Longitud y diámetro de tallos iniciales:** se registró cada 7 días, para lo cual se utilizó una cinta métrica y un vernier digital.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

- 2) **Longitud de tallos florales:** se registró cada 7 días, para lo cual se utilizó una cinta métrica, y se tomó a partir de la base hasta el ápice del tallo floral.
- 3) **Diámetro de tallos florales:** con un vernier digital se midió el diámetro del tallo floral cada 7 días.
- 4) **Tamaño de botón floral:** con un vernier digital se midió el diámetro y altura del botón floral.
- 5) **Número de brotes laterales:** se realizó un conteo de brotes generados al primer mes después de la última inoculación de *T. asperellum* cepa TFR3 y posteriormente al segundo mes.
- 6) **Número de brotes basales:** se realizó un conteo de basales generados al primer mes después de la última inoculación de *T. asperellum* cepa TFR3 y posteriormente al segundo mes.
- 7) **Vida florero:** se evaluó la duración en días de 24 tallos con flor erguida por tratamiento evaluado, los cuales se colocaron en floreros de vidrio con agua potable sin ningún tratamiento, se revisaron diariamente hasta el punto de senescencia, hasta la pérdida de la turgencia de botón y de las hojas.
- 8) **Peso fresco de follaje:** se tomó en cuenta a partir del punto de injerto.
- 9) **Peso seco de follaje:** el follaje obtenido se cortó en trozos los cuales se colocaron en bolsas de papel estraza y se sometieron en una estufa de secado a 70 °C, se tomó el peso con una báscula digital diariamente durante 5 días hasta llegar a un peso constante.
- 10) **Peso fresco de raíz:** se tomó en cuenta a partir de la corona de la raíz la cual se enjuagó con agua potable para desprender el sustrato impregnado, se dejaron secar y se pesaron en una báscula digital.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

11) Peso seco de raíz: las raíces obtenidas se cortaron en trozos, se colocaron en bolsas de papel estraza y se sometieron en una estufa de secado a 70 °C, se tomó el peso con una báscula digital diariamente durante 5 días hasta llegar a un peso constante.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

7. RESULTADOS

7.1. Viabilidad de conidios inoculados de *Trichoderma asperellum* cepa TFR3

Las evaluaciones *in vitro* de la viabilidad de los conidios de *T. asperellum* cepa TFR3 en las inoculaciones realizadas, fue en los siguientes porcentajes, en la primera inoculación la germinación fue de 55.10 %, para la segunda aplicación el porcentaje de germinación correspondió al 91.5 %; mientras que, en la tercera aplicación, el porcentaje correspondió al 80 % de conidios germinados.

7.2. Respuestas fisiológicas de plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculadas con *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 y *Rosellinia necatrix*

7.2.1. Longitud y diámetro de tallos iniciales

La respuesta de las plantas que recibieron los tratamientos se muestra en las variables longitud y diámetro de tallos, los cuales fueron registrados por 43 días. Para la variable longitud de tallos (cm) no hubo diferencia estadística significativa (DGC; $p \leq 0.05$) entre tratamientos. Sin embargo, se puede observar tendencias de tal manera que, el tratamiento con *T. asperellum* cepa TFR3 es el que mayor promedio de crecimiento tuvo respecto al resto de tratamientos con una media de 34.22 cm, seguido de la combinación *Trichoderma asperellum* + *Rosellinia necatrix* con una media de 31.80 cm, el tratamiento con el menor valor fue el que recibió *Rosellinia necatrix* con 27.61 cm, una diferencia entre el mayor y menor crecimiento de tallos de 6.61 cm (Cuadro 1).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Cuadro 1. Longitud y diámetro de tallos iniciales de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculados con *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 y *Rosellinia necatrix*.

Tratamientos	Longitud de tallo (cm)	Diámetro de tallo (mm)
<i>Trichoderma asperellum</i>	34.22a	8.49a
<i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i>	31.80a	5.21b
Testigo absoluto	29.01a	5.19b
<i>Rosellinia necatrix</i>	27.61a	4.96b

Medias con letras distintas en una misma columna son significativamente diferentes (DGC; $p \leq 0.05$).

En lo que respecta a la variable de diámetro de tallo, la prueba DGC ($p < 0.05$) arrojó diferencias significativas entre tratamientos en donde el grupo de plantas que recibió la aplicación del hongo antagonista *T. asperellum* cepa TFR3 tuvo una media mayor de 8.49 mm, el resto de los tratamientos tuvieron el mismo comportamiento estadísticamente; la diferencia promedio entre los tallos de mayor y menor grosor fue de 3.53 mm atribuible al efecto de los tratamientos (Cuadro 1).

7.3. Primer corte de tallos florales

Se realizó un primer corte de tallos florales, después de 3.5 meses (105 días) de establecido el experimento, de acuerdo con el análisis de varianza y de la prueba estadística en las variables longitud y diámetro de tallo los dos tratamientos que recibieron la inoculación de la cepa TFR3, más el testigo absoluto fueron estadísticamente iguales DGC ($p < 0.05$) separándose de ellos el tratamiento inoculado con *R. necatrix*. De estos sobresalieron las plantas tratadas únicamente

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

con *T. asperellum* cepa TFR3 con una media de 57.17 cm y 4.82 mm en el largo y diámetro de tallo respectivamente. Respecto a las plantas inoculadas con *R. necatrix* fueron las que presentaron el menor valor de la media con 49.54 cm y 4.29 mm de largo y diámetro respectivamente (Cuadro 2).

Respecto a la variable longitud de botón floral, se obtuvo que, las plantas tratadas con *T. asperellum* + *R. necatrix*, *R. necatrix* y el testigo absoluto no hubo diferencia significativa entre ellas. Pero si, con el tratamiento que recibió la inoculación de *T. asperellum* con un valor menor de la longitud del botón de 5.81 cm (Cuadro 2). En el diámetro de botón no se presentó diferencia significativa DGC ($p < 0.05$) entre los tratamientos, aunque, el menor valor (27.16 mm), se presentó en el tratamiento donde estuvo presente *R. necatrix* en combinación con *T. asperellum* (Cuadro 2).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Cuadro 2. Respuestas fisiológicas en tallos florales de *Rosa hybrida* var. Freedom por efecto de la inoculación con *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 y *Rosellinia necatrix*, a 70 días después de la última inoculación.

Tratamientos	Longitud de tallo (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Longitud de botón (cm)	Diámetro de botón (mm)	Vida florero (días)
<i>Trichoderma asperellum</i>	57.17a	4.82a	5.81b	27.33a	9.18a
<i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i>	56.70a	4.73a	6.08 ^a	27.16a	9.06a
Testigo absoluto	54.25a	4.70a	6.17 ^a	28.38a	7.24b
<i>Rosellinia necatrix</i>	49.54b	4.29b	6.25 ^a	28.62a	8.71a

Medias con letras distintas en una misma columna son significativamente diferentes (DGC; $p \leq 0.05$).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

7.4. Segundo corte de tallos florales

Un segundo corte de tallos florales fue realizado siete días después del primero es decir a los 112 días (3.7 meses) después de establecido el experimento, y que de acuerdo con el ANOVA y la prueba DGC ($p < 0.05$) para la separación de medias en las variables longitud y diámetro de tallo se obtuvo que, los tratamientos donde estuvo presente *T. asperellum* y el testigo absoluto fueron estadísticamente iguales. Aunque, las plantas que no fueron inoculadas con ninguno de los microorganismos presentaron el mayor valor en la longitud del tallo 59.30 cm, pero no así para el diámetro de los tallos con 4.65 mm. Siguiendo este orden de ideas, el tratamiento que recibió los efectos del hongo *R. necatrix* presentó el valor más bajo de la media de apenas 45.76 cm y de 3.72 mm de longitud y diámetro de tallo respectivamente (Cuadro 3).

Para las variables de longitud y diámetro de botón floral todos los tratamientos fueron estadísticamente iguales de acuerdo con la prueba DGC ($p < 0.05$), presentando únicamente tendencias en sus valores. En el caso de las plantas tratadas con *T. asperellum* cepa TFR3 la longitud de botón es ligeramente mayor pero no significativa al resto de tratamientos con una media de 6.35 mm y en el caso del diámetro de botón floral, el testigo absoluto alcanzó una media de 30.46 mm, pero tampoco fue significativa en comparación al resto de tratamientos (Cuadro 3).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Cuadro 3. Respuestas fisiológicas de los tallos florales de *Rosa hybrida* var Freedom por efecto de la inoculación de *T. asperellum* cepa TFR3 y *R. necatrix* a 80 días después de la última inoculación.

Tratamientos	Longitud de tallo (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Longitud de botón (cm)	Diámetro de botón (mm)	Vida florero (días)
<i>Trichoderma asperellum</i>	55.71a	4.66a	6.35a	29.93a	9.29a
<i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i>	53.43a	4.90a	6.18a	28.64a	9.43a
Testigo absoluto	59.30a	4.65a	6.15a	30.46a	7.29b
<i>Rosellinia necatrix</i>	45.76b	3.72b	6.17a	28.46a	9.00a

Medias con letras distintas en una misma columna son significativamente diferentes (DGC; $p \leq 0.05$).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

7.5. Brotes laterales en plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom

7.5.1. Brotes generados a la primera poda, conteo 1.

La cuantificación del número de brotes originados posterior a la primera poda se realizó 21 días después de la última inoculación de la cepa TFR3. Los resultados indican que, en todos los tratamientos hubo brotes nuevos de las plantas en promedio fue de 2.1 - 2.4 brotes por planta. Las plantas que recibieron el tratamiento conformado por la cepa TFR3 (Tas) 96.67 % de ellas emitieron en promedio, 2.1 brotes. Otro de los tratamientos que presentó valores altos en el porcentaje de plantas (93.33 %) con brotes nuevos fue el inoculado con *Rosellinia necatrix* con un promedio de 2.4 tallos. Es preciso señalar que, el tratamiento testigo absoluto emitió en promedio 2.2 brotes por planta, pero esto ocurrió en tan solo el 76.67 % de las plantas (Gráfico 1).

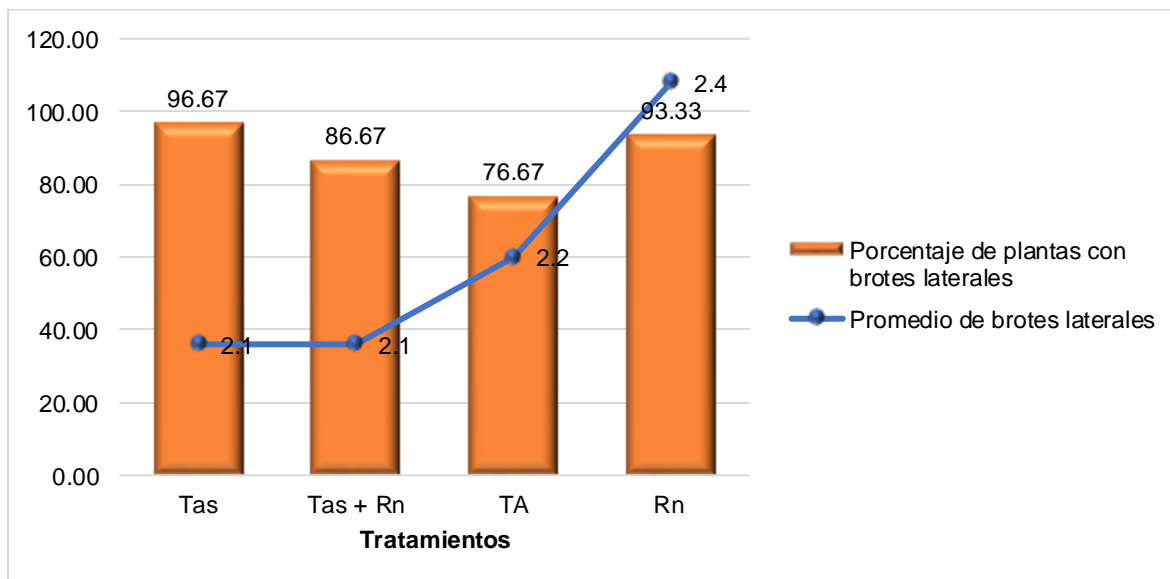


Gráfico 1. Brotes laterales de *Rosa hybrida* var. Freedom originados posterior a la primera poda por efecto de los tratamientos. **Tas**= *Trichoderma asperellum*, **Tas + Rn**= *Trichoderma asperellum* + *Rosellinia necatrix*, **TA**= Testigo absoluto y **Rn**= *Rosellinia necatrix*.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

7.5.2. Brotes generados a la primera poda, conteo 2.

Un segundo conteo del número de brotes generados posterior a la primera poda se realizó 30 días después del primer conteo. Los datos indicaron que hubo un aumento del 3.33 % en el número de plantas beneficiadas con la inoculación del hongo antagonista donde la emisión de brotes laterales se elevó a 1.1 más por planta en el piso 1 (Gráfico 2). Para el caso del tratamiento con el hongo *Rosellinia necatrix* hubo un aumento del 3.34 % en el número de plantas que emitieron brotes laterales (1.3 más), en comparación al primer registro de datos (Gráfico 1). En la combinación *T. asperellum* + *R. necatrix* hubo un aumento del 6.66 % en el número de plantas que emitieron brotes laterales, pero, con menor proporción de apenas 0.6 tallos nuevos (Gráfico 2). Es preciso destacar que, en esta segunda fecha el registro de datos indicó que, el testigo absoluto alcanzó el 100 % de las plantas con la emisión de nuevos brotes laterales; aunque, el incremento del número de brotes laterales por planta apenas fue de 0.6 con relación al primer conteo (Gráfico 1).

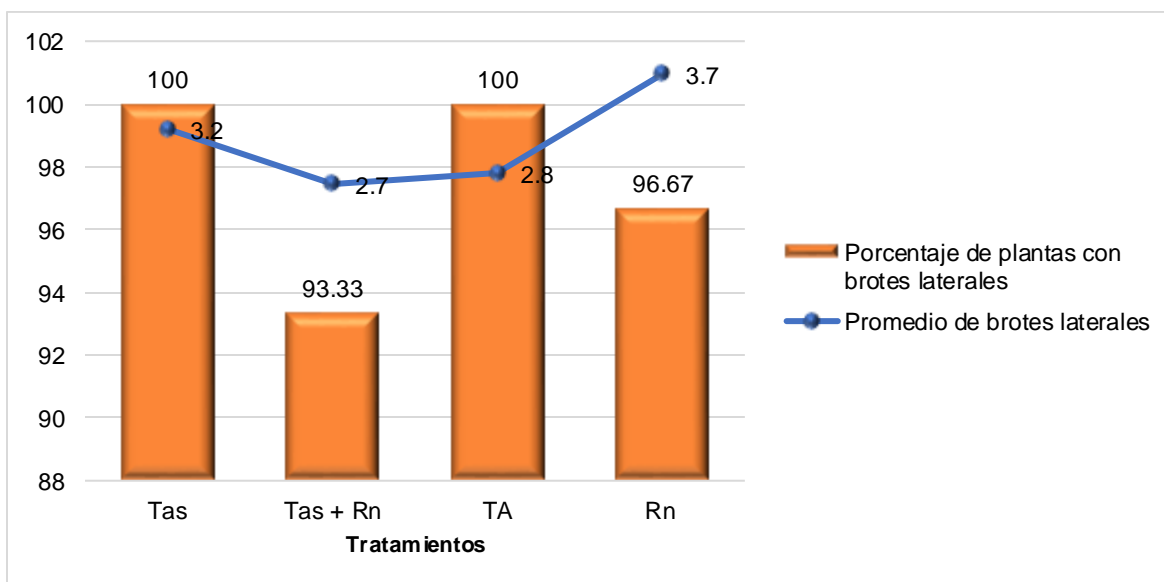


Gráfico 2. Brotes laterales de *Rosa hybrida* var. Freedom generados posterior a la primera poda por efecto de los tratamientos. **Tas**= *Trichoderma asperellum*, **Tas + Rn**= *Trichoderma asperellum* + *Rosellinia necatrix*, **TA**= Testigo absoluto y **Rn**= *Rosellinia necatrix*.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

7.6. Brotes laterales en plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom

7.6.1. Brotes generados a la segunda poda, conteo 1

La cuantificación del número de brotes laterales generados posterior a la segunda poda, se realizó 21 días después de la última inoculación de la cepa TFR3; lo cual arrojó que las plantas tratadas con *T. asperellum*, el 96.67 % se vieron favorecidas por la inoculación del hongo antagonista con un promedio de 2.7 brotes laterales por planta, seguido de la combinación de *T. asperellum* + *R. necatrix* con el 90 % de plantas que emitieron 1.8 brotes laterales en promedio (Gráfico 3). Para el caso del tratamiento con *R. necatrix*, la emisión de brotes laterales en promedio fue de 2.3 tallos nuevos en el 86.67 % de las plantas sometidas al tratamiento. Finalmente, el testigo absoluto fue el tratamiento que mayor número de brotes laterales por planta emitió 3.1; pero esto ocurrió en tan solo el 83.33 % de las plantas sometidas a tratamiento (Gráficos 2 y 3).

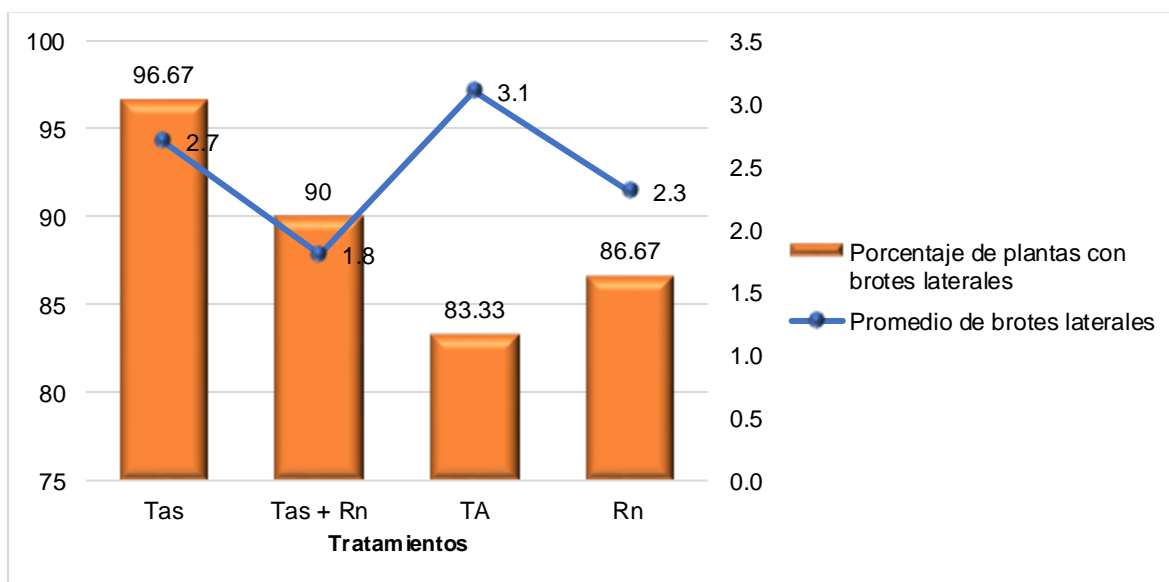


Gráfico 3. Brotes laterales de *Rosa hybrida* var. Freedom generados posterior a la segunda poda por efecto de los tratamientos. **Tas**= *Trichoderma asperellum*, **Tas + Rn**= *Trichoderma asperellum* + *Rosellinia necatrix*, **TA**= Testigo absoluto y **Rn**= *Rosellinia necatrix*.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

7.6.2. Brotes generados a la segunda poda, conteo 2

El segundo conteo del número de brotes laterales generados posterior a la segunda poda se realizó 30 días después del conteo 1; los datos indicaron que, las plantas que se sometieron a los tratamientos con los microorganismos *T. asperellum* y *R. necatrix* por separado, el 100 % de ellas generó brotes laterales nuevos en relación con el conteo 1, así como el Testigo absoluto (Gráficos 3 y 4). Respecto al número de tallos nuevos se observó que, el tratamiento que recibió la acción del microorganismo *T. asperellum* hubo 5.1 brotes laterales en promedio por planta, mientras que las plantas inoculadas con *R. necatrix* desarrollaron 4.8 en promedio, un número mayor (6.0) lo registró el tratamiento con las plantas que no recibieron la acción de los microorganismos evaluados. Finalmente, pero no menos importante, el tratamiento que recibió la acción de los hongos *T. asperellum* + *R. necatrix* registró para esta fecha 4.0 brotes laterales por planta (Gráfico 4).

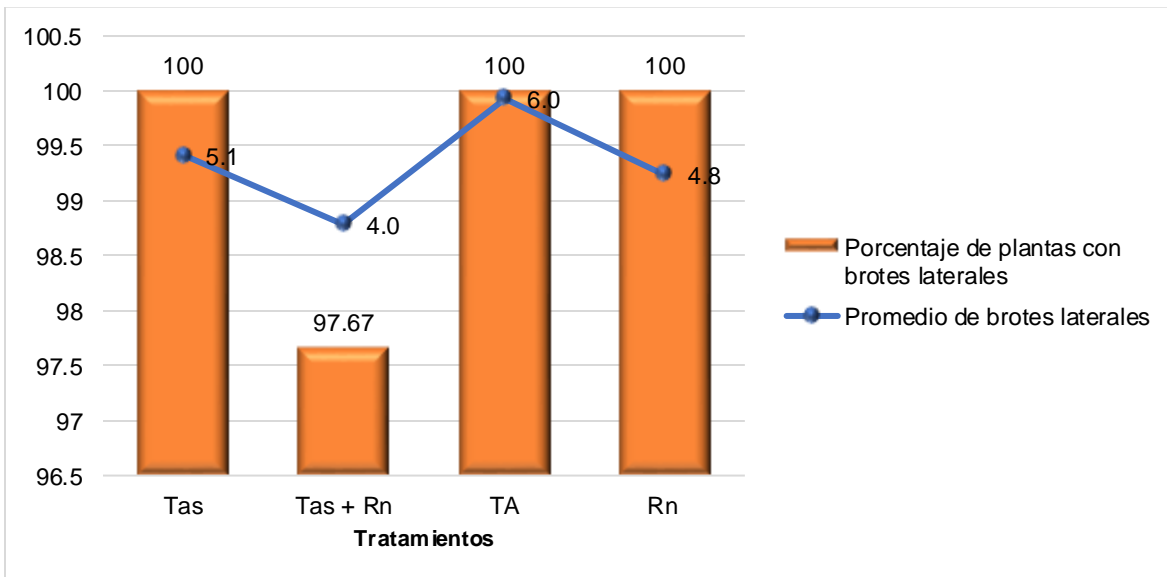


Gráfico 4. Brotes laterales de *Rosa hybrida* var. Freedom generados posterior a la segunda poda por efecto de los tratamientos. **Tas**= *Trichoderma asperellum*, **Tas + Rn**= *Trichoderma asperellum* + *Rosellinia necatrix*, **TA**= Testigo absoluto y **Rn**= *Rosellinia necatrix*.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

7.7. Tallos basales en plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom

7.7.1. Tallos basales generados 21 ddi (días después de la última inoculación)

Los resultados de la primera cuantificación del número de tallos basales originados en las plantas de rosa se tomaron 21 días después de la última inoculación de la cepa TFR3; los cuales indican que, las plantas que recibieron la inoculación de *R. necatrix*, el 60 % de ellas emitieron 1.1 tallos basales en promedio; mientras que, las plantas que recibieron la acción del hongo antagonista *T. asperellum* el 56.67 % de ellas desarrollaron 1.2 tallos basales en promedio. Por su parte, el tratamiento inoculado con *T. asperellum* + *R. necatrix*, el 53.33 % de las plantas emitieron 1.1. Finalmente, el testigo absoluto solo el 50 % de las plantas emitió tallos basales (Gráfico 5).

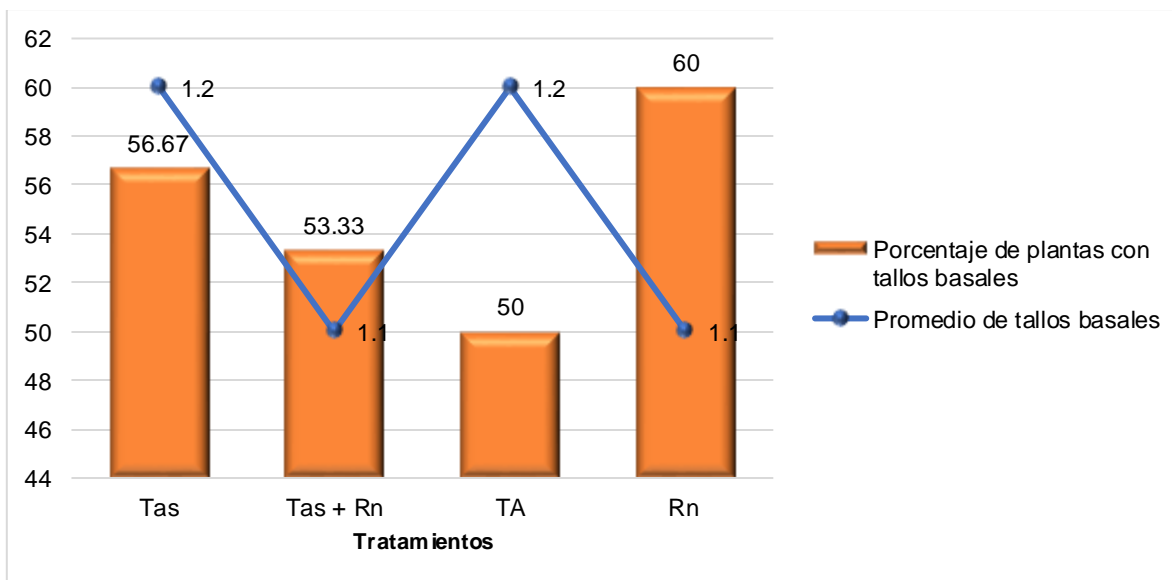


Gráfico 5. Tallos basales generados en plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom por efecto de los tratamientos. **Tas:** *Trichoderma asperellum*, **Tas + Rn=** *Trichoderma asperellum* + *Rosellinia necatrix*, **TA=** Testigo absoluto y **Rn=** *Rosellinia necatrix*.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

7.7.2. Segundo conteo

En el segundo conteo del número de tallos basales generados en las plantas de rosa que se realizó 30 días después del primer conteo, se obtuvo que las plantas tratadas con el antagonista *T. asperellum* cepa TFR3 el 73.33 % de ellas emitieron tallos basales, en promedio de 1.3 por planta. En este mismo sentido, el tratamiento inoculado con el hongo *R. necatrix*, el 70 % de las plantas emitieron 1.1 tallos basales en promedio para este periodo. Para el tratamiento conformado por la combinación de *T. asperellum* + *R. necatrix*, se registraron el 63.33 % de plantas con emisión de tallos basales; datos similares se registraron en el testigo absoluto con 60 % de plantas que emitieron 1.1 tallos basales en promedio (Gráfico 6).

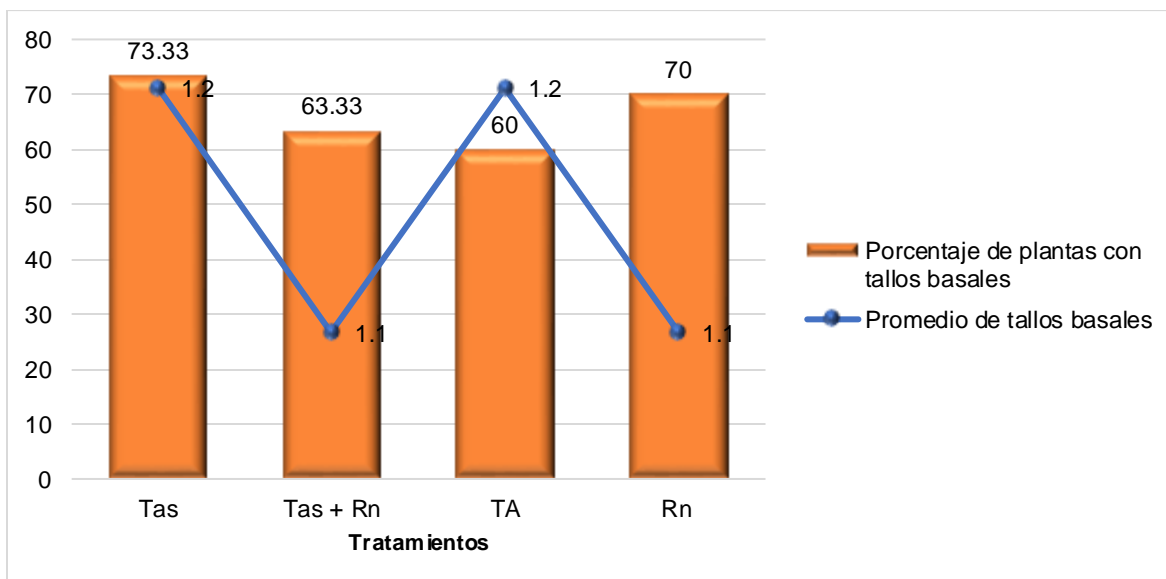


Gráfico 6. Tallos basales generados en plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom por efecto de los tratamientos. **Tas**= *Trichoderma asperellum*, **Tas + Rn**= *Trichoderma asperellum* + *Rosellinia necatrix*, **TA**= Testigo absoluto y **Rn**= *Rosellinia necatrix*.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

7.8. Peso fresco y seco de follaje de plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculadas con *T. asperellum* cepa TFR3 y *R. necatrix*

Para las variables de peso fresco y seco de follaje, se presentó diferencia estadística significativa entre tratamientos para ambas variables de acuerdo con la prueba DGC ($p < 0.05$). Las plantas que presentaron los valores más altos de peso fresco fueron las que recibieron el tratamiento de la cepa TFR3 con 232.57 g, seguido del tratamiento con *R. necatrix* 201.14 g; mientras que, el menor peso fresco se registró para el tratamiento inoculado con *T. asperellum* + *R. necatrix* con apenas 155.27 g. En este mismo orden, el tratamiento que registro el mayor peso seco fue el conformado por plantas que recibieron el efecto de la inoculación de la cepa TFR3 con 93.00 g, seguido del tratamiento inoculado con *R. necatrix* (81.29 g), finalmente los tratamientos que registraron menor peso seco fueron el testigo absoluto y el conformado por *T. asperellum* + *R. necatrix* con 69.00 g y 64.86 g respectivamente (Cuadro 4).

Cuadro 4. Peso fresco y seco de la parte aérea de las plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom sometidas a los diferentes tratamientos.

Tratamientos	Peso fresco de follaje (g)	Peso seco de follaje (g)
<i>Trichoderma asperellum</i>	232.57a	93.00a
<i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i>	155.27b	64.86b
Testigo absoluto	175.29b	69.00b
<i>Rosellinia necatrix</i>	201.14a	81.29a

Medias con letras distintas en una misma columna son significativamente diferentes (DGC; $p \leq 0.05$).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

7.9. Peso fresco y seco de raíces de plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculadas con *T. asperellum* cepa TFR3 y *R. necatrix*

Para las variables de peso fresco y seco de raíces, de acuerdo con la prueba estadística DGC ($p < 0.05$) hubo diferencia significativa entre tratamientos en ambas variables. Las plantas sometidas al tratamiento con la cepa TFR3 favoreció el desarrollo de la raíz de las plantas de rosa alcanzando un valor de 72.43 g de raíz en peso fresco, seguido del tratamiento inoculado con *T. asperellum* + *R. necatrix* con 58.86 g, aunque, este fue estadísticamente igual al resto de tratamientos, pero fue el tratamiento conformado por el testigo absoluto quien presentó el menor peso fresco de raíz de apenas 50.71 g (Cuadro 5).

Con relación a la variable de peso seco de raíz se obtuvo que, el tratamiento con el mayor peso fue el conformado por las plantas que recibieron la inoculación de la cepa TFR3 alcanzando así 29.43 g de raíz, el cual corresponde al mismo tratamiento que registró el mayor peso fresco de raíz; en este orden de ideas, le siguió el tratamiento de *T. asperellum* + *R. necatrix* con 24.57 g de raíz seca, el menor peso seco fue para las plantas inoculadas con *R. necatrix* con 22.86 g (Cuadro 5).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Cuadro 5. Peso fresco y seco de raíces de plantas de *Rosa hybrida* var. Freedom sometidas a los diferentes tratamientos.

Tratamientos	Peso fresco de raíz (g)	Peso seco de raíz (g)
<i>Trichoderma asperellum</i>	72.43a	29.43a
<i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i>	58.86b	24.57b
Testigo absoluto	50.71b	23.14b
<i>Rosellinia necatrix</i>	51.14b	22.86b

Medias con letras distintas en una misma columna son significativamente diferentes (DGC; $p \leq 0.05$).

8. DISCUSIÓN

A la fecha la especie de *Trichoderma asperellum* cuenta con gran variedad de efectos benéficos o bondades como las mencionadas a lo largo de este trabajo, algunos de los beneficios que han sido demostrados son: como controlador biológico de fitopatógenos de importancia económica en cultivos agrícolas, promotor de crecimiento en plantas, inducción de resistencia sistémica, biorregulador, entre otras más.

En este trabajo se evaluaron los parámetros agronómicos por efecto del hongo antagonista *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 y del hongo fitopatógeno *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés en el cultivo de *Rosa hybrida* var. Freedom. La respuesta de las plantas que recibieron los tratamientos con *T. asperellum* cepa TFR3 y *R. necatrix*, no presentaron diferencias significativas DGC ($p < 0.05$), pero si tendencias entre los resultados obtenidos, siendo, las plantas inoculadas únicamente con la cepa TFR3 las que tuvieron el mayor promedio en la variable de longitud de los tallos iniciales (o de origen) con 34.22 cm y en el caso de las plantas inoculadas con *R. necatrix* obtuvieron el menor promedio de longitud con tan solo 27.61 cm (Cuadro 1). En este sentido, Gómez-Ramírez y colaboradores, (2013), al estudiar la respuesta fisiológica de tomate rojo (*Solanum lycopersicum*) reportaron a *T. asperellum* cepa T109 como promotora de un incremento significativo del 91 % en el crecimiento longitudinal de las plántulas de *S. lycopersicum*, mientras que, las plántulas control crecieron solo un 53 %. En otro estudio, al evaluar las cepas (Ta.1, Ta.13, Ta.25, Ta.78, Ta.79 y Ta.90) de *T. asperellum* sobre el patosistema tomate rojo (*Solanum lycopersicum*) y el nematodo (*Meloidogyne incognita*), encontraron que, las plantas con mayor altura fueron las que recibieron tratamiento con la cepa de *Trichoderma* Ta.90 y el testigo absoluto, mientras que, las plantas que fueron parasitadas por los nematodos tuvieron la menor altura. Así mismo, el mayor

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

diámetro de tallos lo reportaron en las plantas tratadas con *T. asperellum*, y el menor, se presentó en las plantas inoculadas con *M. incognita*, sin diferencias significativas con el resto de los tratamientos (Hernández-Ochandía *et al.*, 2015). Este mismo comportamiento se observó en esta investigación donde el diámetro de tallo de *R. hybrida* var. Freedom, se manifestó en las plantas inoculadas con la cepa TFR3 el cual fue estadísticamente diferente al resto de tratamientos con un promedio de 8.49 mm y para las plantas tratadas con *R. necatrix*, el valor fue de apenas 4.96 mm, aunque, similares a los tratamientos *T. asperellum* + *R. necatrix* y testigo absoluto (Cuadro 1).

En relación con los tallos florales originados de los tallos de origen de donde se derivaron el primer y segundo corte evaluados en este trabajo, al realizar un análisis general de las variables agronómicas para ambos cortes se tiene que la longitud de tallo en promedio fueron muy similares entre los tratamientos *T. asperellum*, *T. asperellum* + *R. necatrix*, y Testigo absoluto con 56.44, 55.07 y 56.78 cm respectivamente y 5.0 mm de diámetro de tallo para estos tres tratamientos a excepción del tratamiento con *R. necatrix* el cual presentó 47.65 cm de longitud y 4.01 mm de diámetro de los tallos florales (Anexo 2). González, (2013), al evaluar tres hongos fitopatógenos (*R. necatrix*, *Ophiostoma stenoceras* y *Fusarium oxysporum*) en *Rosa* sp., cultivar Royal Baccara, injertadas en el patrón Manetti, se observó que, las plantas de rosa inoculadas únicamente con *R. necatrix*, redujeron su altura considerablemente hasta en un 98.3 %, con respecto al testigo sin inocular.

En este mismo orden de ideas y lógica de análisis se obtuvo que, en los cuatro tratamientos la variable de longitud de botón floral evaluada en el presente trabajo fue de 6.1 cm y de 29.0 mm en el diámetro del botón floral con excepción del tratamiento con *T. asperellum* + *R. necatrix* el cual registró 28.0 mm de diámetro (Anexo 2). Gómez-Ramírez *et al.*, (2013), definieron que, la ausencia de un estímulo de crecimiento puede deberse a una baja concentración de conidios aplicados de

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

T. asperellum no suficientes para compensar las necesidades que limitan el crecimiento de la planta. Por el contrario, la ausencia de estímulo por exceso, lo definen como una competencia por recursos entre la planta y el hongo. También señalan que, el estímulo del crecimiento puede inhibirse por un exceso del metabolito o nutriente que el hongo suministra a la planta.

En cuanto a la vida en florero se observó que, los tallos florales procedentes del tratamiento que no recibió ningún efecto (Testigo absoluto) fue menor en dos días (7.2 días) su vida en florero con relación a los tratamientos donde estuvo presente la cepa TFR3 (9.2 días), lo que sugiere que, se debe al efecto por la presencia de *T. asperellum* cepa TFR3 (Anexo 2).

La emisión de brotes laterales y de tallos basales en las plantas de rosa es un indicador de las plantas con capacidad para la producción de tallos florales. Así que, en el tratamiento con *T. asperellum* cepa TFR3 generó en promedio 3 brotes laterales en un 98.4 % de las plantas tratadas, y aunque se obtuvo el mismo promedio de 3 brotes laterales en el Testigo absoluto el porcentaje de plantas que lo presentaron fue menor 88.4 %. Sin embargo, el tratamiento influenciado por la presencia de ambos microorganismos se vio disminuido en el número de brotes laterales en promedio con apenas 2 por planta en un 90 % de estas (Anexo 3). Esto probablemente se deba a la capacidad de *Trichoderma* para producir ácido indolacético, debido a que, este compuesto ayuda como catalizador de los tejidos meristemáticos primarios y la activación de enzimas de la membrana plasmática de las plantas, que favorecen el crecimiento y la división celular, y promueve el crecimiento de la planta (Moo-Koh *et al.*, 2017; González-Marquetti *et al.*, 2019).

Los tallos basales generados en las plantas de rosa; que recibieron la inoculación del fitopatógeno *R. necatrix*, el 65 % de ellas emitieron 1.1 tallos basales en promedio; probablemente debido a la respuesta de estrés a que fueron sometidas por la presencia del fitopatógeno, mientras que, las plantas que se inocularon con

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

la cepa TFR3, el 65 % desarrollaron 1.3 tallos basales en promedio, para el tratamiento con la combinación de ambos hongos el 58.3 % emitieron 1.1 tallos basales y la menor emisión de tallos basales se registró en el testigo absoluto con 1.1 tallos basales en tan solo el 55 % de las plantas evaluadas para este tratamiento (Anexo 4). Por su parte, Martínez, (2020), al evaluar la efectividad de dos cepas de *Trichoderma* spp., (Cut-B y SS2, cuyas especies corresponden a *T. asperellum* y *T. barbatum*) sobre el fitopatógeno *Puccinia horiana* en el cultivo de crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* var. Delano), obtuvo como resultados en la variable número de hojas que, la media en el tratamiento testigo fue de 13.63 %, con *T. barbatum* de 15 % y con *T. asperellum* de 15.37 %, lo que indicó un aumento en el número de hojas en plantas de crisantemo con respecto al testigo, de 10.3 % y 12.8 %, encontrando diferencias significativas entre sus tratamientos únicamente para esta variable.

En este mismo sentido, Rodríguez-García y Vargas-Rojas, (2022), al estudiar cepas de *Trichoderma* spp., aisladas de productos comerciales una de un producto importado de Estados Unidos (*Trichoderma* Unidos (THU-01- *T. guizhouense*) y otra de Colombia (THC-02- *T. asperellum*) y las nativas (THM-03- *T. asperelloides* y THM-04- *T. guizhouense*), sobre el crecimiento de tomate rojo (*S. lycopersicum*) con base en los resultados obtenidos bajo condiciones de invernadero para la variable número de hojas por planta, reportaron que, no hubo diferencias significativas entre los tratamientos que contenían la misma especie de *Trichoderma*, ya sea *T. guizhouense*, *T. asperelloides* o *T. asperellum*, pero sí entre especies, donde *T. asperelloides* y *T. asperellum*, tienen en promedio de medias, el mayor número de hojas por planta (THM-03 con 27,9 y 23,0 para THC-02). Por el contrario, en el ensayo que realizaron a nivel de campo al evaluar las diferentes variables en cada uno de los tratamientos a los 68 dds (días después de la siembra) se observaron diferencias significativas ($p < 0,05$), en el número de hojas, destacándose el

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

tratamiento THM-03 como el mejor, con un promedio de medias de 116 hojas, mientras que, los demás obtuvieron 61.6 THM-04; 59.9 THC-02; 33.0 THU-01 y el testigo con la menor cantidad de hojas por planta (promedio de medias 31.1).

Por otro lado, Cruz-Triana *et al.*, (2018), al evaluar la cepa Ta. 13 (*Trichoderma asperellum*) del producto comercial SevetriC® para el manejo de hongos fitopatógenos en plantas de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) donde también se determinó el número de legumbres, número de granos por legumbres y la masa de 100 granos, obteniendo entre sus resultados las mayores medias en el número de legumbres en los tratamientos 4 y 5 con 17,80 y 19,53 con diferencias significativas respecto al testigo.

Respecto a las variables de peso fresco y seco de follaje evaluadas, en la primera variable los tratamientos conformados de forma individual por la cepa TFR3 y *R. necatrix* estadísticamente fueron iguales, aunque, las plantas inoculadas con la cepa TFR3, obtuvieron una media de 232.57 g, 13.5 % más que las plantas inoculadas con *R. necatrix*, donde se registró una media de 201.14 g, la diferencia fue más distante en los tratamientos conformados por el testigo absoluto y *T. asperellum* + *R. necatrix* con 24.6 % y 33.2 % respectivamente, menos que el tratamiento con *T. asperellum*. Para la variable peso seco se mantuvo el mismo comportamiento y relación de los tratamientos donde el efecto de la cepa TFR3 fue superior en 12.59 % mayor que el tratamiento con el hongo fitopatógeno *R. necatrix* (Cuadro 4), confirmando que las plantas sometidas al tratamiento con la cepa TFR3 favoreció ambas variables, lo que sin duda comprueba que, la promoción del crecimiento vegetal en plantas de rosa se ve reflejado en un aumento de la biomasa en el follaje, aunque, de acuerdo a Gómez-Ramírez *et al.*, (2013), el estímulo del crecimiento también depende de la cepa en especial y concentración de conidios aplicados. Por su parte, Ruiz-Sánchez y colaboradores, (2022), al evaluar cepas de *T. asperellum* en plantas de arroz reportan la estimulación del crecimiento vegetal

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

en este cultivo por la interacción positiva entre la planta y el hongo antagonista *T. asperellum* cepas Ta13 y Ta.78, la cual está regulada, para asegurar los beneficios de ambos simbioses en donde la planta recibe protección y mayor cantidad de nutrientes disponibles y por otra parte, el hongo obtiene compuestos orgánicos y un nicho para su crecimiento.

La raíz de la planta cumple con varias funciones diferenciadas, siendo tres las principales de ellas: fijación al anclaje, absorción y conducción de nutrientes inorgánicos (minerales disueltos) y agua, por lo que su desarrollo y volumen es de suma importancia (Solomon *et al.*, 2013). Dichos minerales disueltos se transportan entonces a lo largo de toda la planta en el xilema. Estudios señalan que, *Trichoderma asperellum* estimula el desarrollo radicular como el reportado por Bravo y colaboradores (2016), al evaluar cepas nativas de *Trichoderma* spp., y *T. asperellum* como enraizadores en plantas de palma aceitera (*Elaeis guineensis*); 18 meses después de la inoculación encontraron que, el tratamiento conformado por raquis enriquecido con *Trichoderma asperellum* manifestó la mejor respuesta para el crecimiento de raíces con 1384,8 cm; 27,5% de incremento con respecto al segundo mejor tratamiento de raquis + Trichoeb 5WP (testigo comercial) con un promedio de 1086 cm; los tratamientos: raquis + *Trichoderma* sp.T2., raquis + *Trichoderma* sp.T3 y raquis solo, presentaron un menor crecimiento con 955,3, 824,4 y 1001,8 cm respectivamente, en relación con el crecimiento que presentó el testigo absoluto con 208,5 cm. En cuanto al peso seco, los autores señalan que, el mayor peso seco obtenido fue en el tratamiento que manifestó la mayor longitud de raíz fresca (raquis + *Trichoderma asperellum*) con 105.0 g (47% de incremento con respecto al segundo mejor tratamiento conformado por raquis + Trichoeb 5WP. Este mismo efecto se registró en el presente trabajo con las variables de peso fresco y seco de raíces; el tratamiento con *T. asperellum* cepa TFR3, obtuvo el mayor valor de las medias para la variable de peso fresco de raíz con 72.43 g, contra 58.86 y

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

51.14 y 50.71 g para los tratamientos *T. asperellum* + *R. necatrix*, *R. necatrix* y Testigo absoluto lo que representa el 18.7, 29.5 y 30.0 % en la reducción de raíz fresca por efecto de los microorganismos y la ausencia de estos en el Testigo absoluto (Cuadro 5). Para el caso de peso seco de raíz el valor más alto se presentó en el tratamiento con la cepa TFR3 con 29.43 g en contraste con 23.14 g del testigo absoluto lo que representa 21.37 % mayor peso por efecto de *T. asperellum*. Sin embargo, es de resaltar que, el tratamiento con el hongo inductor de estrés *R. necatrix* fue el que presentó el menor peso de raíz seca con 22.86 g. De esta manera queda confirmado que la cepa TFR3 también promueve una mejor respuesta fisiológica en cuanto a la producción de biomasa radicular. Esto puede deberse a la producción de auxinas, una fitohormona que ayuda al desarrollo radicular en las plantas (Altomare *et al.*, 1999; Vera *et al.*, 2002).

Con base a estos resultados y la literatura existente referente a este tema, todo sugiere que *T. asperellum* estimula el crecimiento vegetativo de las plantas. Aunque, no en todos los casos se presenten diferencias significativas estadísticamente, pero si marca tendencias en estas variables, que, de acuerdo con Gómez-Ramírez *et al.*, (2013), el estímulo del crecimiento está en función de la cepa en especial y las concentraciones de UFC inoculadas por unidad de superficie o la concentración en la suspensión aplicada.

9. CONCLUSIONES

- Se determinó que el efecto en las variables agronómicas sobre plantas de rosa de la variedad Freedom inoculadas con el hongo antagónico *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 fue favorable sobre todo en las variables de brotes laterales, peso fresco y seco tanto del follaje como de las raíces, y la vida florero, en el resto de las variables hubo diferencias numéricas, pero no significativas estadísticamente, aun así, se concluye que, se recomienda el uso de la especie *T. asperellum* en el cultivo de rosa.
- En relación con el hongo fitopatógeno *Rosellinia necatrix* inductor de estrés y causante de la pudrición blanca, no se manifestaron síntomas típicos de la enfermedad durante la evaluación del experimento. Sin embargo, se registraron diferencias significativas en algunas de las variables respecto al antagonista y al testigo absoluto.
- Se obtuvieron los pesos frescos y secos del área foliar de *Rosa hybrida* var. Freedom, y radicular del porta injerto Natal briar, ambos se vieron favorecidos por la inoculación de *T. asperellum* cepa TFR3, especialmente cuando estuvo de manera individual la cepa TFR3, demostrando así la capacidad del efecto del antagonista estudiado en este trabajo.
- Con relación a la interacción antagonista-fitopatógeno, el tratamiento donde se inocularon ambos hongos, se presentaron tendencias a una mejor respuesta de la planta que cuando estuvo presente únicamente *R. necatrix*.
- En general, el uso de cepas nativas del género *Trichoderma*, han demostrado diferentes respuestas en las variables agronómicas relacionadas al tipo de cultivo y fitopatógeno que se estudie, relacionándose también con las condiciones climáticas donde se lleve a cabo el experimento y a la disponibilidad de nutrientes presentes en el suelo, ya que como se ha demostrado en un sinnúmero de trabajos, las especies de este género pueden

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

beneficiar algunas de las variables en estudio, pero nunca a todas, por lo cual, la elección de la especie o cepa, debe tomarse con previa indagación.

10. RECOMENDACIONES

- Se recomienda hacer pruebas de patogenicidad previamente a la ejecución del experimento principal para asegurar el ataque del fitopatógeno.
- Confirmar los signos y síntomas descritos en la literatura de acuerdo con el fitopatógeno y cultivo a evaluar.
- Reaislar constantemente tanto al hongo antagonista como al hongo fitopatógeno para confirmar su establecimiento en el cultivo a través de observaciones bajo microscopio.
- Realizar la metodología bajo estrictos estándares de inocuidad principalmente en las actividades de laboratorio y al momento de hacer las inoculaciones en el cultivo.
- Diseñar con anticipación un plan B en caso de ser necesario su aplicación.
- Repetir el experimento las veces que sean necesarias si el tiempo lo permite, y si las circunstancias lo ameritan.
- Registrar todas las actividades que se realicen sin descartar ninguna.
- Conocer la morfología y fenología del cultivo elegido para establecer los momentos en que se realizarán las actividades relacionadas al experimento, así como del mantenimiento mismo del cultivo.
- Tener a reserva inoculo joven tanto del hongo antagonista como del fitopatógeno.
- Mantener una actitud positiva ante las adversidades que se puedan presentar durante la evaluación del experimento y nunca desertar.

11. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agrios, G. N. (2005). *Fitopatología* (2ª ed). México: Editorial Limusa.
- Agus, N., Saranga, A.P., Rosmana, A. y Sugiarti A. (2015). Viability and conidial production of entomopathogenic fungi *Penicillium* sp. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 4(1) 193-195. Recuperado de la dirección web <https://www.ijstr.org/final-print/jan2015/Viability-And-Conidial-Production-Of-Entomopathogenic-Fungi-Penicillium-Sp.pdf>
- Ahmad, J. S., y Baker, R. (1987). Rhizosphere Competence of *Trichoderma harzianum*. *Canadian Journal of Microbiology*, 77, 182–189. <https://doi.org/10.1139/m88-043>
- 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]. Recuperado de la dirección web <http://hdl.handle.net/20.500.11799/105592>
- Altomare, C., Norvell, W. A., Björkman, T., y Harman, G. E. (1999). Solubilization of phosphates and micronutrients by the plant-growth- promoting and biocontrol fungus *Trichoderma harzianum* Rifai. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(7), 2926–2933. <https://doi.org/10.1128/aem.65.7.2926-2933.1999>
- Andrade, D., y Tenelema, M. (2020). Control de mancha foliar temprana del maní (*Cercospora arachidicola*) empleando *Trichoderma asperellum*. *Revista Científica Interdisciplinaria Investigación y Saberes*, 10(2), 1390–8146. Recuperado de la dirección web http://revistasdigitales.utelvt.edu.ec/revista/index.php/investigacion_y_saberes/article/view/107
- Arjona, J. M. (2019). Control integrado de la podredumbre blanca del aguacate mediante métodos biológicos y químicos. [Tesis doctoral, Universidad de Córdoba]. Recuperado de la dirección web <https://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/19670>
- Arjona, M. I. (2015). Proceso de infección de *Rosellinia necatrix* en aguacate y determinación del antagonismo (antibiosis y micoparasitismo) de *Trichoderma spp.*, en el control biológico de la podredumbre blanca

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

radicular. [Tesis doctoral, Universidad de Córdoba]. Recuperado de la dirección web <https://helvia.uco.es/xmlui/handle/10396/13059>

- Arzate-Fernández, A., Bautista-Puga, M., Piña-Escutia, J., Reyes-Díaz, J., y Vásquez-García, L. (2014). Técnicas tradicionales y biotecnológicas en el mejoramiento genético del rosal (*Rosa* spp.). México: Universidad Autónoma del Estado de México.
- Barrera, O. A., Cabrera, R. J., García, P. F., Espinosa, C. G., y Granada, C. L. (2007). Producción de Rosa Coster Rosa spp. Morelos. [Folleto técnico].
- Baudoin, W., Grafiadellis, M., Jiménez, M., la Malfa, G., Martínez-García, P. F., Monteiro, A. A., Nisen, A., Verlodt, H., de Villele, P., von Zabeltitz, Ch., y Garnaud, J. C. (2002). El cultivo protegido en clima mediterráneo. Roma, Italia: Organización de las Naciones Unidas para la Agricultura y la Alimentación.
- Bettiol, W., Rivera, M.C., Mondino, P., Montealegre, J.R., y Colmenárez, Y. (2014). Control biológico de enfermedades de plantas en América Latina y el Caribe. <https://doi.org/10.13140/2.1.2368.5922>
- Bravo, V., Ronquillo, M., Martínez, M., y Quesada, G. (2016). Efecto enraizador de *Trichoderma asperellum* en el cultivo de palma aceitera. *Revista Científica Ecuatoriana*, 4(1), 1-8. DOI: <https://doi.org/10.36331/revista.v4i1.26>
- Bravo, V., Ronquillo, M., Martínez, M., y Quezada G. (2016). Efecto enraizador de *Trichoderma asperellum* en el cultivo de palma aceitera. *Revista Científica Ecuatoriana*, 1(1), 1-8. DOI: <https://doi.org/10.36331/revista.v4i1.26>
- Brotman, Y., Briff, E., Viterbo, A., y Chet, I. (2008). Role of swollenin, an expansin-like protein from *Trichoderma*, in plant root colonization. *Plant Physiol*, 147(2), 779-789. doi: 10.1104/pp.108.116293
- Camacho-Luna, V., Flores-Moctezuma, H. E., Rodríguez-Monroy, M., Montes-Belmont, R., y Sepúlveda-Jiménez, G. (2021). Inducción de la respuesta de defensa de plantas de cebolla en la interacción con *Trichoderma asperellum* y *Alternaria porri*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 12(4), 685-698. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i4.2683>
- Camarena-Gutiérrez, G., y de la Torre-Almaráz, R. (2007). Resistencia sistémica adquirida en plantas: Estado actual. *Revista Chapingo Serie Ciencias Forestales*

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

y del Ambiente, 13(2), 157-162. Recuperado de la dirección web <https://www.scielo.org.mx/pdf/rcscfa/v13n2/2007-4018-rcscfa-13-02-157.pdf>

- Cardona, L.N., Borrego, D.A., Fernández, E.P., Sánchez, J., Cardona, V. y Montoya, G. (2014). Microbiological evaluation and pathogenicity of a liquid bioformulation of the fungus *Purpureocillium* sp. (strain UdeA 0109) on *Meloidogyne incognita-javanica* stages. *Bioteconología Aplicada*, 31(3), 210-215. Recuperado de la dirección web: <https://elfosscientiae.cigb.edu.cu/PDFs/Biotecnol%20Apl/2014/31/3/BA003103OL210-215.pdf>
- Carsolio, C., Benhamou, N., Haran, S., Cortés, C., Gutiérrez, A., Chet, I., y Herrera-Estrella, A. (1999). Role of the *Trichoderma harzianum* endochitinase gene, ech42, in mycoparasitism. *Applied and Environmental Microbiology*, 65(3), 929-935. Recuperado de la dirección web <http://aem.asm.org/>
- Catalogue of life, (2023). *Rosellinia necatrix* Berl. ex Prill. Recuperado de la dirección web <https://www.catalogueoflife.org/data/taxon/6CJ8H> COL
- Cavalcanti, L.S., Di Piero, R.M., Cia, P., Pascholati, S.F., De Resende, M.L.V., Romeiro, R. (2005). *Indução de resistência em plantas a patógenos e insetos* (ed).
- Choudhary, D.K., y Johri, B.N. (2009). Interactions of *Bacillus* spp. and plants – With special reference to induced systemic resistance (ISR). *Microbiological Research*, 164(5), 493-513. DOI: 10.1016/j.micres.2008.08.007
- Companiononi, B., Domínguez, G., y García, R. (2019). *Trichoderma*: su potencial en el desarrollo sostenible de la agricultura. *Bioteconología Vegetal*, 19(4), 237-248. Recuperado de la dirección web. <http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sciabstract&pid=S2074-86472019000400237>
- Cortes de León, D. M. (2023). Evaluación de sustratos por fermentación líquida, bifásica y sólida para la producción de *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México]. Recuperado de la dirección web <http://hdl.handle.net/20.500.11799/139652>
- Cruz-Triana, A., Rivero-González, D., Infante-Martínez, D., Echevarría-Hernández, A., y Martínez-Coca, B. (2018). Manejo de hongos fitopatógenos en *Phaseolus vulgaris* L. con la aplicación de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg. *Revista de Protección Vegetal*, 33(3), 2224-4697. Recuperado de la dirección web <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v33n3/2224-4697-rpv-33-03-e04.pdf>

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

- Delgado-Oramas, B.P. (2020). La resistencia inducida como alternativa para el manejo de plagas en las plantas de cultivo. *Revista de Protección Vegetal*, 35(1), 1-12. Recuperado de la dirección web <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v35n1/2224-4697-rpv-35-01-e07.pdf>
- Díaz-Puentes, L. N. (2012). Resistencia sistémica adquirida mediada por el ácido salicílico. *Bioteología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial*, 10(2), 257-267. Recuperado de la dirección web. <https://revistas.unicauca.edu.co/index.php/bioteologia/article/view/813>
- Domínguez Arizmendi, G. (2008). *Rosellinia necatrix* Prill. asociado a la pudrición blanca de raíz en rosas y su evaluación a la sensibilidad de fungicidas en la zona de Villa Guerrero, Estado de México [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México].
- El-Shoura, H. A. S. (2018). Effect of spraying with ethrel, benzyladenine (BA) and seaweed on the growth and flowering of rose plants cv. (Eiffel Tower), *Middle East Journal of Applied Sciences*, 8(1), 135–140. Recuperado de la dirección web <https://www.curresweb.com/mejas/mejas/2018/135-140.pdf>
- Fungicide Resistance Action Committee, (2023). Search by FRAC Mode of Action Groups for Recommendations. Recuperado de la dirección web. <https://www.frac.info/fungicide-resistance-management/by-frac-mode-of-action-group>
- García, J., George, A., Argyle, T., Hoopen, M., y Krauss, U. (2005). ¿Existe la tolerancia genética del cacao (*Theobroma cacao*) a *Rosellinia bunodes* y *Rosellinia pepo*? 75, 21-31. Recuperado de la dirección web. <https://repositorio.catie.ac.cr/bitstream/handle/11554/6960/A1866e.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- García-Velasco, R., Domínguez-Arizmendi, G., Chavarro-Carrero., E.A, y Mora-Herrera M.E. (2017). Pathogenecity of *Verticillium dahliae* Klebahn in rootstock rose cv. Manetti. *APS Annual Meeting*. Recuperado de la dirección web. <https://apsnet.confex.com/apsnet/2017/meetingapp.cgi/Paper/4849>
- García-Velasco, R., González-Díaz, J., Domínguez-Arizmendi, G., Ayala-Escobar, V., y Aguilar-Medel, S. (2012). *Rosellinia necatrix* en *Rosa* sp. y su evaluación a sensibilidad de fungicidas. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 18(1), 39-54. Recuperado de la dirección web. <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=60923315003>

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

- Gómez-Ramírez, S.E., Gilchrist-Ramelli, E., y Reynaldi, S. (2013). Importancia del aislamiento y del rango de concentración de conidias en el efecto de *Trichoderma asperellum* sobre el crecimiento de plántulas de *Solanum lycopersicum* L. *Rev. Colomb. Biotecnol*, 15(1), 118-125. Recuperado de la dirección web <https://revistas.unal.edu.co/index.php/biotecnologia/article/view/22188>
- González Camacho, N. G. (2013). Patogenicidad de hongos asociados a *Rosellinia necatrix* Prill., en la pudrición de raíz en *Rosa* sp. [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México]. Recuperado de la dirección web <http://hdl.handle.net/20.500.11799/40666>
- González Camacho, N. G. (2013). Patogenicidad de hongos asociados a *Rosellinia necatrix* Prill., en la pudrición de raíz en *Rosa* sp. [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México]. Recuperado de la dirección web <http://hdl.handle.net/20.500.11799/40666>
- González-Domínguez, E., Pérez-Sierra, A., Álvarez, L., A., León, M., Abad-Campos, P., Armengol, J., y García-Jiménez, J. (2009). Agentes fúngicos presentes en plantaciones de nísperos (*Eriobotrya japonica* Lindl.) con síntomas de decaimiento en la provincia de Alicante. *Boletín de Sanidad Vegetal*, 35(1), 453–467. Recuperado de la dirección web. https://www.mapa.gob.es/ministerio/pags/biblioteca/revistas/pdf_Plagas/BSVP_35_03_453_467.pdf
- González-Marquetti, I., Infante, M.D., Arias, V.Y., Gorrita, R.S., Hernández, G.T., Noval, P.B., Martínez, C.B., y Peteira, B. (2019). Efecto de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt and Nirenberg sobre indicadores de crecimiento y desarrollo de *Phaseolus vulgaris* L. cultivar BAT-304. *Revista de Protección Vegetal*, 34(2), 2224-4697. Recuperado de la dirección web. http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S1010-27522019000200004
- Gottula, J., Lewis, R., Saito, S., y Fuchs, M. (2014). Allopolyploidy and the evolution of plant virus resistance. *BMC Evolutionary Biology*, 14(149), 1-15. Recuperado de la dirección web. <https://bmcecol.evol.biomedcentral.com/articles/10.1186/1471-2148-14-149>
- Haran, S., Schickler, H., y Chet, I. (1996). Molecular mechanisms of lytic enzymes involved in the biocontrol activity of *Trichoderma harzianum*. *Microbiology*, 142, 2321-2331. <https://doi.org/10.1099/00221287-142-9-2321>

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

- Harman, G. (2001). *Trichoderma* spp., including *T. harzianum*, *T. viride*, *T. koningii*, *T. hamatum* and other sp. Deuteromycetes, Moniliales (asexual classification system). Recuperado de la dirección web. <https://biocontrol.entomology.cornell.edu/pathogens/trichoderma.php>
- Harman, G. E. (2000). Myths and dogmas of biocontrol changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. *Plant disease*, 1, 377-393. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2000.84.4.377>
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., y Lorito, M. (2004). *Trichoderma* species - opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Reviews Microbiology*, 2(1), 43–56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- He, J., Li, D.-W., Zhang, Y., Ju, Y.-W. y Huang, L. (2021). *Fusarium rosicola* sp. nov. causing vascular wilt on *Rosa chinensis*. *Plant Pathology*, 1–12. <https://doi.org/10.1111/ppa.13452>
- Hernández-Ochandía, D., Rodríguez, M. G., Peteira, B., Miranda, I., Arias, Y., y Martínez, B. (2015). Efecto de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg sobre el desarrollo del tomate y *Meloidogyne incognita* (Kofoid Y White) Chitwood. *Revista Protección Vegetal*, 30(2), 139–147. Recuperado de la dirección web. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v30n2/rpv08215.pdf>
- Hernández-Ochandía, D., Rodríguez, M. G., Peteira, B., Miranda, I., Arias, Y., y Martínez, B. (2015). Efecto de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt y Nirenberg sobre el desarrollo del tomate y *Meloidogyne incognita* (Kofoid Y White) Chitwood. *Revista Protección Vegetal*, 30(2), 139–147. Recuperado de la dirección web. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v30n2/rpv08215.pdf>
- Holliday, P. (1995). *Fungus Diseases of Tropical Crops*. USA: Courier Dover Publications.
- Hoopen, G., y Krauss, U. (2006). Biology and control of *Rosellinia bunodes*, *Rosellinia necatrix* and *Rosellinia pepo*: A review. *Crop Protection*, 25(2), 89-107 <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.03.009>
- 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. <https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

- Hoyos, L.M., Jaramillo S., y Orduz, S. (2008). Evaluación de *Trichoderma asperellum* como biorregulador de *Spongospora subterranea* f. sp. *subterranea*. *Revista Facultad Nacional de Agronomía Medellín*, 61(2), 4496-4502. Recuperado de la dirección web <http://www.scielo.org.co/pdf/rfnam/v61n2/a03v61n2.pdf>
- Iavicoli, A., Boutet, E., Buchala, A., y Metraux, J. (2003). Induced systemic resistance in *Arabidopsis thaliana* in response to root inoculation with *Pseudomonas fluorescens* CHA0. *Molecular Plant Microbe Interactions*, 16(10), 851-8. DOI: 10.1094/MPMI.2003.16.10.851
- Infante, D., Martínez, B., González, N., y Reyes, Y. (2009). Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Revista Protección Vegetal*, 24(1), 14–21. Recuperado de la dirección web. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v24n1/rpv02109.pdf>
- Kloepper, J.W., Ryu, C.M., y Zhang, S. (2004). Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology*, 94(11),1259-1266. DOI: 10.1094/PHYTO.2004.94.11.1259
- Kobayashi, K.K., Sekine, K.T., y Nishiguchi, M. (2014). Breakdown of plant virus resistance: can we predict and extend the durability of virus resistance? *Journal of General Plant Pathology*, 80(4), 327-336. DOI: 10.1007/s10327-014-0527-1
- Kuc, J. (2001). Concepts and direction of induced systemic resistance in plants its application. *European Journal of Plant Pathology*. 107(1), 7-12. DOI: 10.1023/A:1008718824105
- López-Herrera, C. J. y Zea-Bonilla, T. (2007). Effects of benomyl, carbendazim, fluazinam and thiophanate methyl on white root rot of avocado. *Crop Protection*, 26(8), 1186-1192. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2006.10.015>
- López-Herrera, C. J., Pérez-Jiménez, R. M., Llobel, A., Monte-Vázquez, E., y Zea-Bonilla, T. (1999). Estudios in vivo de *Trichoderma* como agente de biocontrol contra *Phytophthora cinnamomi* y *Rosellinia necatrix* en aguacate. *Revista Chapingo Serie Horticultura*, (1), 261-265. Recuperado de la dirección web https://www.avocadosource.com/wac4/wac4_p261.pdf
- López-Herrera, C. J., Pérez-Jiménez, R. M., Zea-Bonilla, T., Besallote-Ureba, M. J., y Melero-Vara, J. M. (1998). Soil solarization in established avocado trees for

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

control of *Dematophora necatrix*. *Plant dis*, 82, 1088-1092.
<https://apsjournals.apsnet.org/doi/pdf/10.1094/PDIS.1998.82.10.1088>

- Malgarejo, P., y Salazar, D. (2003). Tratado de fruticultura para zonas áridas y semiáridas. Mundi-Prensa,
- Martin F. N. (1992). *Pythium*. In: Singleton, L., D. Mihail and M. Rush. Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. Minnesota: APS PRESS.
- Martínez Tapia, V. (2020). Efectividad de *Trichoderma* spp. sobre *Puccinia horiana* y respuesta en el crecimiento de *Chrysanthemum morifolium* var. Delano. [Tesis de licenciatura, Universidad Autónoma del Estado de México]. Recuperado de la dirección web <http://hdl.handle.net/20.500.11799/109894>
- Martínez, B., Infante, Danay., y Yusimy, Reyes. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en cultivos. *Revista de Protección Vegetal*, 28(1), 1–11. Recuperado de la dirección web. <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v28n1/rpv01113.pdf>
- Martínez, B., Reyes, Y., Infante, D., González, E., Baños, H., y Cruz, A. (2008). Selección de aislamientos de *Trichoderma* spp. candidatos a biofungicidas para el control de *Rhizoctonia* sp. en arroz. *Protección Vegetal*, 23(2), 118-125. Recuperado de la dirección web <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v23n2/rpv09208.pdf>
- Martínez, C., Blanc, F., Le Claire, E., Besnard, O., Nicole, M., y Baccou, J.C. (2001). Salicylic acid and ethylene pathways are differentially activated in melon cotyledons by active or heat-denatured cellulase from *Trichoderma longibrachiatum*. *Plant Physiol*, 127(1), 334-344. doi: 10.1104/pp.127.1.334
- Martínez-Coca, B., Infante, D., Caraballo, W., Duarte-Leal, Y., y Echevarría-Hernández, A. (2018). Antagonismo de cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels, Lieckfeldt & Nirenberg frente a aislamientos de *Fusarium* spp. procedentes de garbanzo. *Revista de Protección Vegetal*, 33(2), 1–13. Recuperado de la dirección web <http://opn.to/a/W5k5y>
- Mehrotra, R. S., y Aneja, K. R. (1990). An introduction to mycology. New age International Publishers.
- Mejorada-Cuellar, B.Y., Zamora-Macorra, E.J., Vilchis-Zimuta, R., y Zamora-Macorra, M. (2020). Inductores de resistencia sistémica adquirida para el manejo del viroide de la papita mexicana en el cultivo de tomate (*Solanum lycopersicum* L.).

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Agro productividad, 13(7), 75-80. Recuperada de la dirección web <https://www.revistaagroproductividad.org/index.php/agroproductividad/article/view/1686>

Mendoza, Z. C., y A. González. (1993). Enfermedades del rosal en México. México: Universidad Autónoma Chapingo.

Métraux, J. (2001). Systemic acquired resistance and salicylic acid: current state of knowledge (Abstract). *European Journal of Plant Pathology*, 107(1), 13-18. DOI: 10.1023/A:1008763817367

Mishra, S., Jagadeesh, K.S., Krishnaraj, P.U., y Prem, S. (2014). Biocontrol of tomato leaf curl virus (ToLCV) in tomato with chitosan supplemented formulations of *Pseudomonas* sp. under field conditions. *Australian Journal of Crop Science*, 8(3), 347-355. Recuperado de la dirección web. https://www.cropj.com/mishra_8_3_2014_347_355.pdf

Moo-Koh, F., Cristóbal, A.J., Reyes, R.A., Tun, S.J., y Gamboa, A.M. (2017). Identificación molecular de aislados de *Trichoderma* spp. y su actividad promotora en *Solanum lycopersicum* L. *Investigación y Ciencia*, 25(71), 5-11. Recuperado de la dirección web. <https://www.redalyc.org/journal/674/67452917001/html/>

Mukherjee, M., Mukherjee, P., Horwitz, B., Zachow, C., Berg, G., y Zeilinger, S. (2012). *Trichoderma*-Plant-Pathogen Interactions: Advances in genetics of biological control. *Indian Journal of Microbiology*. 52(4), 522-529. doi: 10.1007/s12088-012-0308-5

Mukherjee, P. K., y Raghu, K. (1997). Effect of temperature on antagonistic and biocontrol potential of *Trichoderma* sp. on *Sclerotium rolfsii*. *Mycopathologia*, 189(3), 151-155. Recuperado de la dirección web. <https://link.springer.com/article/10.1023/A:1006868009184>

Muñoz, M., Rojas, W., y Malqui, I. (2019). Crecimiento de *Trichoderma asperellum* en medio sólido utilizando como única fuente de carbono a los plaguicidas clorpirifos y cipermetrina. *UCV-SCIENTIA*, 11(2), 149–156. <https://doi.org/10.18050/revucv-scientia.v10n1a10>

Nieto-Jacobo, M.F., Steyaert, J.M., Salazar-Badillo, F.B., Nguyen, D.V., Rostás, M., Braithwaite, M., De Souza, J.T., Jiménez-Bremont, J.F., Ohkura, M., Stewart, A.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

- y Mendoza-Mendoza, A. (2017). Environmental growth conditions of *Trichoderma* spp. affects indole acetic acid derivatives, volatile organic compounds, and plant growth promotion. *Frontiers in Plant Science*, 8(102), 1-18. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00102>
- Perdomo, C.E., Villamizar, L. F., Báez, F.J., Viera, W.F., y Jackson, T. (2021). Evaluación de la estabilidad de cuatro sistemas de liberación para la formulación de conidios de *Trichoderma asperellum*. *Revista de Investigación Agropecuaria*. 47(2), 249-258. Recuperado de la dirección web. <http://www.scielo.org.ar/pdf/ria>
- Pérez-Jiménez, R. M. (2006). A review of the biology and pathogenicity of *Rosellinia necatrix*-cause of white root rot disease of fruit trees and other plants. *Journal Phytopathology*, 154, 257-266. Recuperado de la dirección web <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/j.1439-0434.2006.01101.x>
- Pérez-Jiménez, R. M., Zea-Bonilla, T., y López-Herrera, C. J. (2003). Studies of *Rosellinia necatrix* perithecia found in nature on avocado roots. *Journal Phytopathology*, 151, 660-664. Recuperado de la dirección web <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1046/j.0931-1785.2003.00782.x>
- Pliego, C., López-Herrera, C., Ramos, C., y Cazorla, F. (2012). Developing tools to unravel the biological secrets of *Rosellinia necatrix*, an emergent threat to woody crops. *Molecular Plant Pathology*, 13(3), 226-239. DOI: 10.1111/j.1364-3703.2011.00753.x
- Ramírez. H. J. J. y Torres. O. F. (2021). Situación de la floricultura mexicana en tiempos del COVID-19. *Revista Economía Actual*, 14(1), 17-20. Recuperado de la dirección web. <http://ri.uaemex.mx/bitstream/handle/20.500.11799/112341/2021%20RevEconomiaActual%201T%20art%20RamirezTorres.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Reyes, Y., Infante, D., García-Borrego, J., del P Ozo, E., Cruz, A., y Martínez, B. (2012). Compatibilidad de *Trichoderma Asperellum* Samuels con herbicidas de mayor uso en el cultivo del arroz. *Revista de Protección Vegetal*, 27(1), 45-53. Recuperado de la dirección web <http://scielo.sld.cu/pdf/rpv/v27n1/rpv08112.pdf>
- Roberts, K. (1992). Potential awareness of plants. *Nature*, 360, 14-15.
- Rodríguez-García, D., y Vargas-Rojas, J. (2022). Efecto de la inoculación con *Trichoderma* sobre el crecimiento vegetativo del Tomate (*Solanum*

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

lycopersicum). *Agronomía Costarricense*, 46(2), 47-60. Recuperado de la dirección web <https://www.scielo.sa.cr/pdf/ac/v46n2/0377-9424-ac-46-02-47.pdf>

Romero-Cova, S. (1993). Hongos fitopatógenos. México: Universidad Autónoma Chapingo.

Ronnie-Gakegne, E., y Martínez-Coca, B. (2018). Antibiosis y efecto de pH-temperatura sobre el antagonismo de cepas de *Trichoderma asperellum* frente a *Alternaria solani*. *Revista de Protección Vegetal*, 33(2). Recuperado de la dirección web <http://opn.to/a/0XV5m>

Ruano-Rosa, D., Schena, L., Ippolito, A., y López-Herrera, C. J. (2007). Comparison of conventional and molecular methods for the detection of *Rosellinia necatrix* in avocado orchards in southern Spain. *Plant Pathology*, 56(2), 251–256. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3059.2006.01546.x>

Ruiz-Sánchez, M., Echeverría-Hernández, A., Muñoz-Hernández, Y., Martínez-Robaina, A.Y., y Cruz-Triana, A. (2022). Aplicación de dos cepas de *Trichoderma asperellum* S. como estimulante de crecimiento en el cultivo del arroz. 43(1), 1-12. Recuperado de la dirección web. <https://ediciones.inca.edu.cu/index.php/ediciones/article/view/1646>

Ryan, C. A. (1992). The search for proteinase inhibitor-inducing factor, PIIF. *Plant Molecular Biology*, 19(1), 123-133. DOI: 10.1007/BF00015610

Samuels, G. J., Lieckfeldt, E., y Nirenberg, H. I. (1999). *Trichoderma asperellum*, a new species with warted conidia, and redescription of *T. viride*. *Sydowia*, 51(1). 71-88. Recuperado de la dirección web https://www.zobodat.at/pdf/Sydowia_51_0071-0088.pdf

Sánchez, V., y Rebolledo, O. (2010). Especies de *Trichoderma* en suelos cultivados con *Agave tequilana* en la región de Los Altos Sur, Jalisco y valoración de su capacidad antagónica contra *Thielaviopsis paradoxa*. *Revista Mexicana de Micología*, 32, 11-18. Recuperado de la dirección web. <http://blast.ncbi.nlm.nih>

Sharon, E., Chet, I., y Spiegel, Y. (2011). *Trichoderma* as a biological control agent. In: Davies K, Spiegel Y. Biological control of plant-parasitic nematodes: building coherence between microbial ecology and molecular mechanisms. Springer Science.

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

- SIAP, (2022). Anuario estadístico de la producción agrícola. [Base de datos]. <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>
- Sivanesan, A., y Holliday, P. (1972). *Rosellinia necatrix*. CMI descriptions of pathogenic fungi and bacteria N° 352
- Sivasithamparam, K., y Ghisalberti, E.L. (1998). Secondary metabolism in *Trichoderma* and *Gliocladium*. In: Harman G.E, Kubicek C.P. *Trichoderma* and *Gliocladium* (ed). London: Taylor & Francis Group. pp. 139-191.
- Smith, I. M., Dunez, J., Phillips, D. H., Lelliott, R. A., y Archer, S. A. (1992). Manual de enfermedades de las plantas. España: Mundi-Prensa.
- Solomon, E.P., Berg, L.R., y Martin, D.W. (Novena edición). (2013). *Biología*. Cengage Learning,
- Stefanova, M., Leiva, A., Larrinaga, L., y Coronado, M. F. (1999). Actividad metabólica de cepas de *Trichoderma* spp. para el control de hongos fitopatógenos del suelo. *Revista Facultad de Agronomía*, 16, 509–516. Recuperado de la dirección web. <https://produccioncientificaluz.org/index.php/agronomia/article/view/26280/26905>
- Tamayo, M. P. J. (2007). Enfermedades del aguacate Colombia: Revista Facultad Nacional de Agronomía sede Medellín.
- Teixeira, A. J., y Whalley, A. J. S. (1991). Induction of mature stromata in *Rosellinia necatrix* and its taxonomic implications. *Sydowia*, 43, 281-290. Recuperado de la dirección web. https://www.zobodat.at/pdf/Sydowia_43_0281-0290.pdf
- Tejeda-Sartorius, O., Ríos-Barreto, Y., Trejo-Téllez, L. I., y Vaquera-Huerta, H. (2015). Caracterización de la producción y comercialización de flor de corte en Texcoco, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 6(5), 1105-1118. Recuperado de la dirección web. <https://www.scielo.org.mx/pdf/remexca/v6n5/v6n5a16.pdf>
- TRADE MAP, (2022). Lista de los exportadores para el producto seleccionado: Producto: 060311 "Rosas ""flores y capullos"", cortadas para ramos o adornos, frescas" [Base de datos]. https://www.trademap.org/Country_SelProduct_TS.aspx?nvpm=3%7c%7c%7c%7c%7c060311%7c%7c%7c6%7c1%7c1%7c2%7c2%7

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

- Troya, C. y Vaca Granda, L. (2014). Protocolo para la producción de cepas nativas de *Trichoderma* spp. en laboratorios artesanales. Ministerio de Agricultura, Ganadería, Acuacultura y Pesca. (ed). Planta Central MAGAP. Ecuador. 42 p. recuperado de la dirección web. <https://www.agricultura.gob.ec/wp-content/uploads/2016/01/MANUAL-labos-para-web.pdf>
- Uwe, C., Beckers, J.M.G.D., Flors, V., García-Agustín, P., Jakab, G., Mauch, F., *et al.* (2006). Priming: Getting Ready for Battle. *MPMI*, 19(10), 1062-1071. DOI: 10.1094/MPMI-19-1062
- Van der Ent, S., Van Hulten, M., Pozo, M., Czechowski, T., Udvardi, M., Pieterse, C., y Ton, J. (2009). Priming of plant innate immunity by rhizobacteria and β -aminobutyric acid: differences and similarities in regulation. *New Phytologist*, 183(2), 419-431. DOI: 10.1111/j.1469-8137.2009.02851.x
- Vargas-Hoyos, H. A., Rueda-Lorza, E. A., y Gilchrist-Ramelli, E. (2012). Actividad antagónica de *Trichoderma asperellum* (Fungi: Ascomycota) a diferentes temperaturas. *Actual Biol*, 34(96), 103-112. Recuperado de la dirección web. <https://revistas.udea.edu.co/index.php/actbio/article/view/14245?articlesBySimilarityPage=20>
- Vera Bahima, J. (2020). Hongos causantes de la mancha gris de la hoja en *Lycopersicon esculentum* Mill., su variabilidad y el rol de la resistencia sistémica adquirida (RSA) en la reducción de su incidencia. [Tesis de doctorado, Universidad Nacional de la Plata]. Recuperado de la dirección web. <http://sedici.unlp.edu.ar/handle/10915/120973>
- Vera, D., Pérez, H., y Valencia, H. (2002). Aislamiento de hongos solubilizadores de fosfatos de la rizosfera de araza (*Eugenia stipitata*, Myrtaceae). *Acta Biológica Colombiana*, 7(1), 33-40. Recuperado de la dirección web. <https://repositorio.unal.edu.co/handle/unal/38011?show=full>
- Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E. L., Marra, R., Woo, S. L., y Lorito, M. (2008). *Trichoderma*-plant-pathogen interactions. *Soil Biology and Biochemistry*, 40(1), 1–10. <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002>
- Walters, D. (2009). Are plants in the field already induced? Implications for practical disease control. *Crop Protection*, 28(6), 459-465.
- Windham, G. L., Windham, M. T., y Williams, W. P. (1989). Effects of *Trichoderma* spp. on maize growth and *Meloidogyne arenaria* reproduction. *Plant Disease*, 73(1),

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

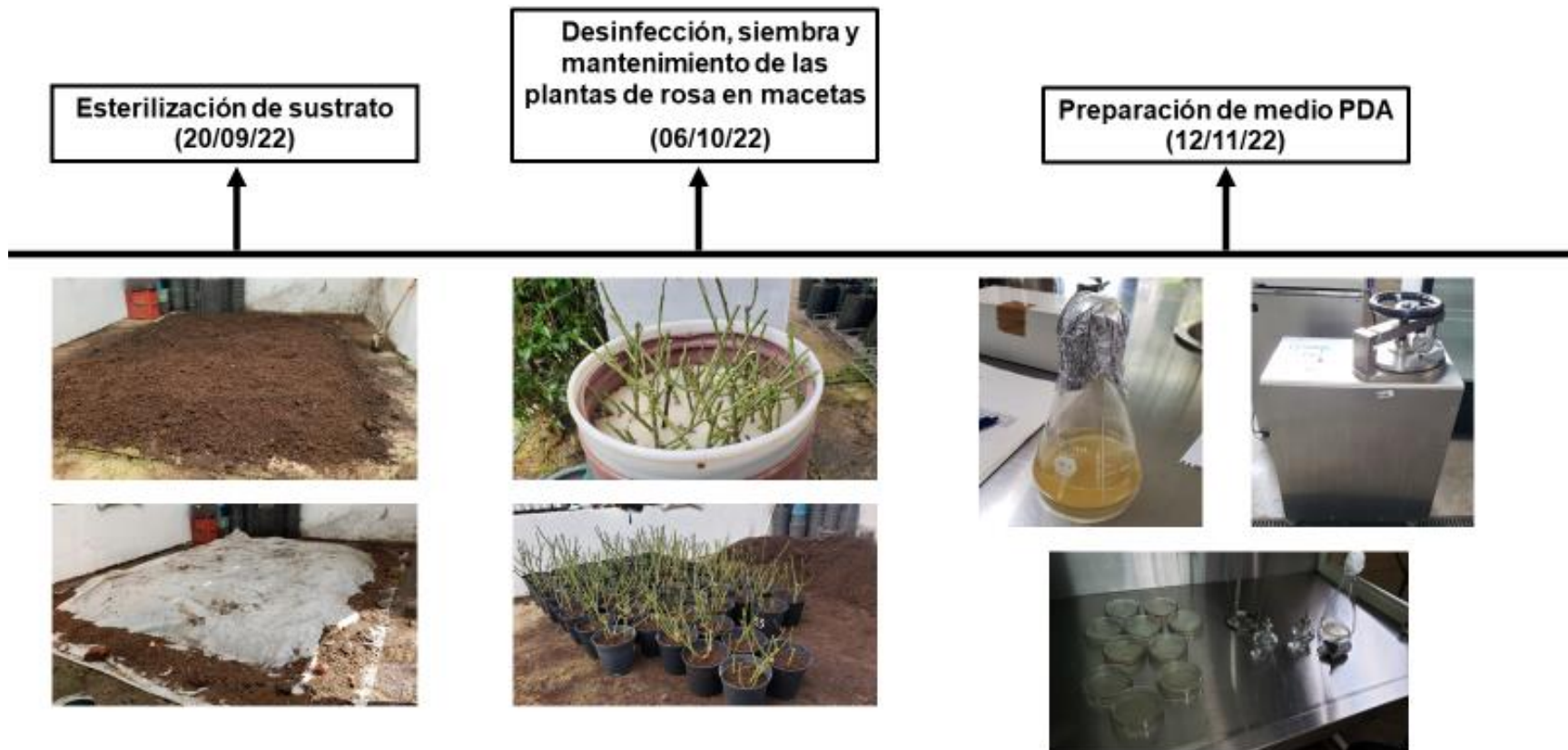
493–495. Recuperado de la dirección web.
https://www.apsnet.org/publications/PlantDisease/BackIssues/Documents/1989Articles/PlantDisease73n06_493.PDF

- Woo, S., y Lorito, M. (2007). Exploiting the interactions between fungal antagonists, pathogens and the plant for biocontrol. *In: Vurro, M.; Gressel, J. (Eds.). Novel biotechnologies for biocontrol agent enhancement and management. Springer, 107-130.*
- Woo, S.L., Scala, F., Ruocco, M., y Lorito, M. (2006). The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology, 96(2)*, 181-185. DOI: 10.1094/PHYTO-96-0181
- Yan, J., Wang, J., y Zhang, H. (2002). An ankyrin repeat containing protein plays a role in both disease resistance and antioxidation metabolism. *Plant Journal, 29(2)*, 193-202. DOI: 10.1046/j.0960-7412.2001.01205.x

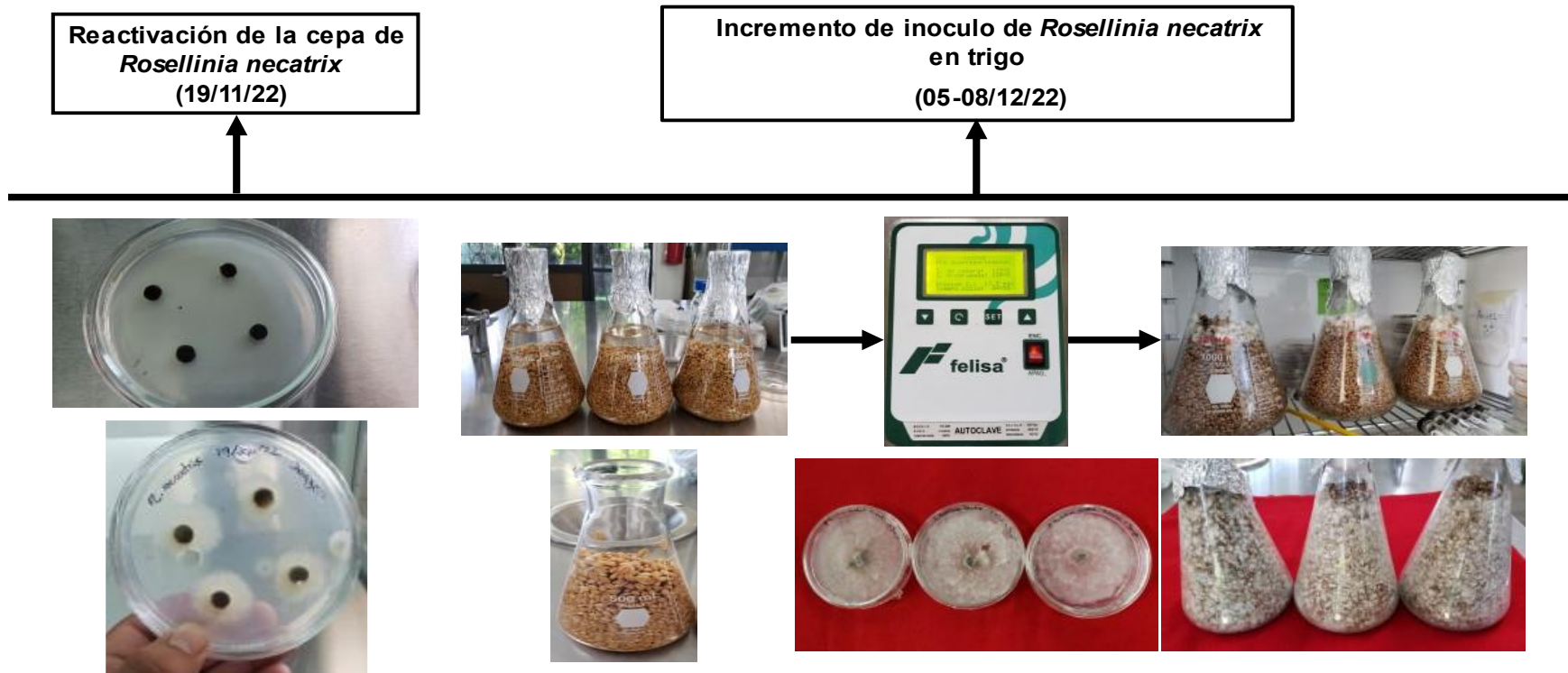
Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

12. ANEXOS

Anexo 1. Secuencia en el tiempo de las actividades realizadas durante el desarrollo del experimento.

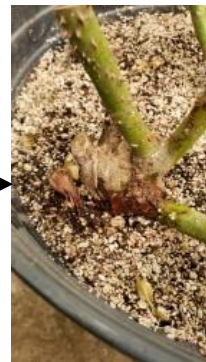
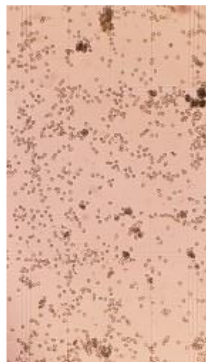


Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés



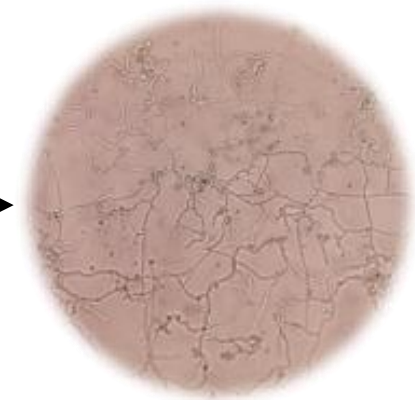
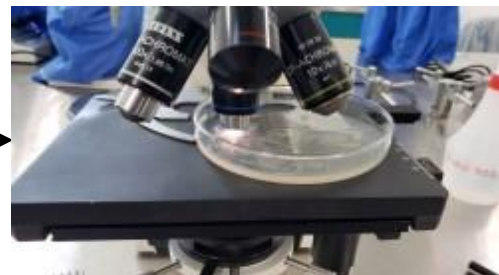
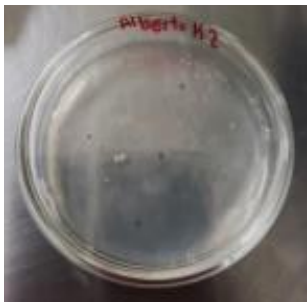
Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Preparación y aplicación de la suspensión de conidios de *Trichoderma asperellum* cepa TFR3 (31/01/23; 07 y 14/02/23)



Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Prueba de viabilidad de la suspensión de conidios de
Trichoderma asperellum cepa TFR3
(01/02/23; 08 y 15/02/23)



Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Medición de variables (longitud y diámetro de botón)
(03, 05, 07, 10 y 13/04/23)

Vida florero
(03-15/04/23)



Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Conteo de brotes y basales
(23/03/23 y 23/04/23)

Registro de peso fresco de follaje y raíz
(04/06/23)



Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés



Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Anexo 2. Promedio de variables primer y segundo corte de tallos florales.

Tratamientos	Longitud de tallo (cm)	Diámetro de tallo (mm)	Longitud de botón (cm)	Diámetro de botón (mm)	Vida florero (días)
<i>Trichoderma asperellum</i>	56.44	4.74	6.08	28.63	9.24
<i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i>	55.07	4.82	6.13	27.90	9.25
Testigo absoluto	56.78	4.68	6.16	29.42	7.27
<i>Rosellinia necatrix</i>	47.65	4.01	6.21	28.54	8.86

Anexo 3. Promedio de brotes emitidos y porcentaje de plantas que emitieron brotes en el piso 1 y 2 en la estructura de la planta de *Rosa hybrida* var. Freedom.

Tratamientos	Piso 1		Piso 2	
	Brotes	% de plantas	Brotes	% de plantas
<i>Trichoderma asperellum</i>	2.6	98.4	3.9	98.4
<i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i>	2.4	90.0	2.9	93.8
Testigo absoluto	2.5	88.4	4.55	91.7
<i>Rosellinia necatrix</i>	3.0	95.0	3.55	93.3

Parámetros agronómicos de *Rosa hybrida* var. Freedom inoculada con el antagonista *Trichoderma asperellum*, cepa TFR3 y del hongo *Rosellinia necatrix* como inductor de estrés

Anexo 4. Promedio de basales y porcentaje de plantas que emitieron basales en la estructura de la planta de *Rosa hybrida* var. Freedom.

Tratamientos	Basales	% de plantas
<i>Trichoderma asperellum</i>	1.25	65
<i>Trichoderma asperellum</i> + <i>Rosellinia necatrix</i>	1.1	58.33
Testigo absoluto	1.2	55
<i>Rosellinia necatrix</i>	1.1	65