



BENEMÉRITA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE PUEBLA
INSTITUTO DE CIENCIAS
MAESTRÍA EN MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS

**Evaluación del biocontrol y promoción del crecimiento en cacahuete
(*Arachis hypogaea* L.) por especies de *Trichoderma***

Tesis

Que para obtener el grado de Maestra en Manejo Sostenible de
Agroecosistemas

Presenta

LBT. SAIRA JAZMÍN MARTÍNEZ SALGADO

COMITÉ:

Director:

Dra. Petra Andrade Hoyos

Co-director:

Dr. Omar Romero Arenas

Asesores:

Dr. Alfonso Luna Cruz

Dr. José Antonio Rivera Tapia

Dr. José Filomeno Conrado

Parraguirre Lezama

12 de noviembre del 2021.



La presente tesis, titulada: **“Evaluación del biocontrol y promoción del crecimiento en cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) por especies de *Trichoderma*”**, realizada por la alumna **Lbt. Saira Jazmín Martínez Salgado**, bajo la dirección del Comité Tutorial indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRA EN CIENCIAS EN
MANEJO SOSTENIBLE DE AGROECOSISTEMAS**

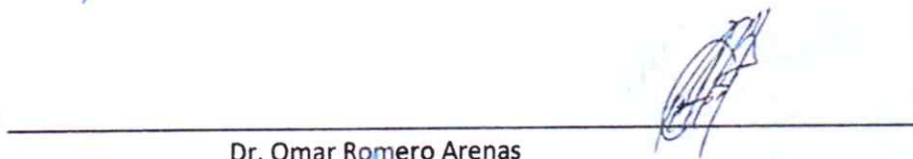
COMITÉ TUTORAL:

DIRECTOR:



Dra. Petra Andrade Hoyos

CO-DIRECTOR:



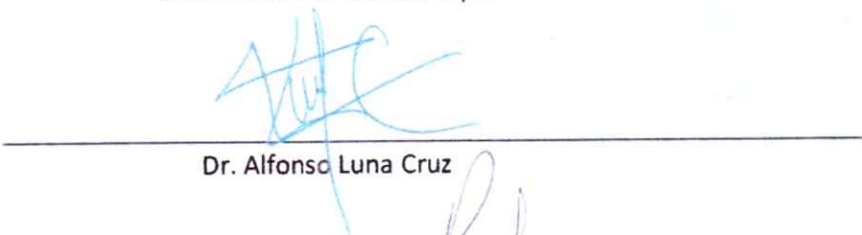
Dr. Omar Romero Arenas

ASESOR:



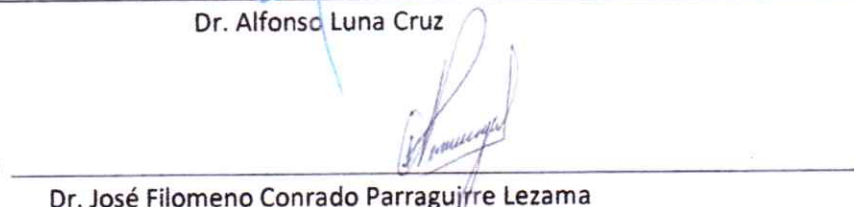
Dr. José Antonio Rivera Tapia

ASESOR EXTERNO:



Dr. Alfonso Luna Cruz

REVISOR EXTERNO:



Dr. José Filomeno Conrado Parraguirre Lezama

Puebla, Pue., noviembre de 2021.

Posgrado en Manejo Sostenible de Agroecosistemas
Instituto de Ciencias (ICUAP)

Edificio VAL 1, Km 1.7 carretera a
San Baltazar Tetela, C.P. 72960,
San Pedro Zacachimalpa, Puebla
01 (222) 229 55 00 Ext. 1302
masagro@correo.buap.mx

“La agricultura es la profesión propia del sabio, la más adecuada al sencillo y la ocupación más digna para todo hombre libre”

Marco Tulio Cicerón.

DEDICATORIA

Dedico esta tesis a mis padres, a quienes debo gran parte de lo que soy y son mi más grande ejemplo de que con esfuerzo todo se puede lograr.

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencias y Tecnología (CONACYT), por el apoyo económico brindado durante mi periodo de estudiante de maestría (2019-2021).

Agradezco a la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla y al Instituto de Ciencias por darme la oportunidad de formarme como Maestra en Ciencias.

“Se agradece a la Vicerrectoría de Investigación y Estudios de Posgrado por el apoyo otorgado para la conclusión de esta tesis dentro del programa IV. Investigación y Posgrado. Apoyar a los programas de posgrados para lograr su incorporación al Padrón Nacional de Calidad. Indicador establecido en el Plan de Desarrollo Institucional 2017-2021”.

Agradezco a mis padres Susana y Evaristo por su apoyo durante todo el proceso de esta investigación. A mis hermanos por su apoyo, sus consejos y amor incondicional.

Agradezco a mis tíos, tías y a todas las personas involucradas en la toma de datos durante la cosecha de cacahuete para esta investigación.

Agradezco a cada uno de mis compañeros por el tiempo y vivencias compartidas durante estos dos años, haciendo mi estancia más amena.

Agradezco a mis asesores Dra. Petra Andrade Hoyos, Dr. Omar Romero Arenas, Dr. Alfonso Luna Cruz, Dr. José Antonio Rivera Tapia, Dr. José Filomeno Conrado Parraguirre Lezama por sus aportaciones para el desarrollo de este trabajo de investigación.

Finalmente, agradezco a mis profesores por los conocimientos compartidos y al personal administrativo por su ayuda, siempre amable durante estos dos años.

INDICE

DEDICATORIA.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
INDICE DE FIGURAS	vi
INDICE DE CUADROS	vii
I. RESUMEN.....	1
II. ABSTRACT	2
III. INTRODUCCIÓN.....	3
IV. JUSTIFICACIÓN.....	4
V. MARCO TEÓRICO	5
5.1. Origen de <i>Arachis hypogaea</i>	5
5.2. Taxonomía.....	5
5.3. Fenología.....	5
5.4. Enfermedades causadas por hongos en cacahuete.....	6
5.5. Control biológico.....	7
5.6. El género <i>Trichoderma</i>	9
5.7. Mecanismos de acción.....	10
VI. REFERENCIAS	13
VII. OBJETIVOS.....	18
7.1. Objetivo general	18
7.2. Objetivos específicos.....	18
VIII. HIPÓTESIS	19
8.1. Hipótesis general	19
CAPÍTULO I: IDENTIFICACIÓN Y PRUEBAS DE PATOGENICIDAD	20
I. INTRODUCCIÓN.....	20
II. MATERIALES Y MÉTODOS	21
2.1. Área de estudio.....	21
2.2. Muestreo de material vegetal.....	22
2.3. Aislamiento a partir de tejido	22
2.4. Identificación molecular.....	23
2.4.1. Extracción de ADN	23
2.5. Identificación Morfológica.....	24
2.6. Preparación de inóculos para pruebas de patogenicidad	24

2.7.	Pruebas de patogenicidad	25
III.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	25
IV.	CONCLUSIONES.....	32
V.	REFERENCIAS	32
CAPÍTULO II. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTAGÓNICA DE LAS ESPECIES DE <i>Trichoderma</i> spp.		
		35
I.	INTRODUCCIÓN.....	35
II.	MATERIALES Y MÉTODOS	36
2.1.	Evaluación de la capacidad antagónica de <i>Trichoderma</i> spp. <i>in vitro</i>	36
2.2.	Análisis de datos.....	37
2.3.	Control biológico <i>Trichoderma</i> spp. frente a hongos fitopatógenos en campo.....	37
III.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	39
IV.	CONCLUSIONES.....	48
V.	REFERENCIAS	49
VI.	ANEXOS.....	58

INDICE DE FIGURAS

.....	6
Figura 1. <i>Arachis hypogaea</i> L. (köhler, 1887). (A) tipos de ramificación, (B) flor, (C) corte transversal del fruto, (D) corte transversal del pericarpio, (E) corte parcial de la semilla.	6
Figura 2. (A) Colonia de <i>Trichoderma harzianum</i> , (B) estructura microscópica de <i>Trichoderma</i> spp.	10
Figura 1. Mapa de ubicación del área de estudio. Buenavista de Benito Juárez, Chietla, Puebla.....	21
Figura 2. (A) Parcela con cultivo de cacahuete con síntomas de marchitez Buenavista de Benito Juárez, Chietla, Puebla, (B) síntomas de pudrición y necrosis en tallo de una planta muestreada.....	22
Figura 3. Características morfológicas de <i>Diaporthe</i> sp., cepa RG. (A) colonia color verde-grisácea de 15 días, (B) acercamiento de la colonia, (C, D) ascosporas.	26
Figura 4. Características morfológicas de <i>Fusarium oxysporum</i> cepa FM. (A) colonia con pigmentación violeta en el centro, (B) reverso de la colonia, (C) microconidias en monofiálides cortas, (D) macroconidias.....	27
Figura 5. Características morfológicas de <i>Fusarium equiseti</i> cepa FS. (A) colonia con crecimiento arrosetado y pigmentación salmón en el centro, (B) macroconidios, (C) reverso de la colonia, (D) clamidosporas.....	27
Figura 6. Características morfológicas y microscópicas de <i>Macrophomina phaseolina</i> cepa PUE 4.0. (A) colonia oscura creciendo en medio PDA, (B) microesclerotias, (C) apresorios e hifas.	28
Figura 7. Necrosis en cuello de raíz de cacahuete causada por <i>M. phaseolina</i> , (A) daño externo, (B) daño interno, (C) aislamiento del cuello del tallo de una planta enferma.	29
Figura 8. (A) Síntomas de marchitez en planta de cacahuete inoculada con <i>F. oxysporum</i> (B) las hojas se muestran necrosadas de los márgenes hacia el centro de la hoja, (C) colonias aisladas de raíces con necrosis y pudrición.....	30
Figura 9. (A) Síntomas de amarillamiento de la plántula inoculada con <i>F. equiseti</i> (izquierda) y planta control completamente sana y con un mayor tamaño (derecha), (B) corte transversal de tallos con síntoma de decoloración del sistema vascular.	30
Figura 10. Síntomas presentados en plántulas de cacahuete inoculadas con <i>Diaporthe</i> sp., cepa RG, (A) plántulas con daños necrosis en raíz principal y ahorcamiento, así como pudrición de los cotiledones, (B) raíces de planta no inoculada, no muestra síntomas de enfermedad.	31
Figura 1. Porcentaje de inhibición de las cinco especies de <i>Trichoderma</i> frente a <i>Macrophomina phaseolina</i>	40
Figura 2. Confrontación dual del fitopatógeno <i>M. phaseolina</i> aislado de cacahuete. (A) frente a la especie <i>T. asperellum</i> (T-AS1), (B) <i>T. harzianum</i> (Th-Ah), (C) <i>T. koningiopsis</i> (T-K11), (D) <i>T. hamatum</i> (T-A12), (E) <i>T. harzianum</i> (T-H3) durante 10 días a 28°C.....	40
Figura 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de las cinco especies de <i>Trichoderma</i> frente a <i>Fusarium equiseti</i> . *Barras con la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey HDS, p<0.05).	41
Figura 4. Ensayo dual del fitopatógeno <i>F. equiseti</i> aislado de cacahuete. (A) frente a <i>T. harzianum</i> (Th-Ah), (B) <i>T. koningiopsis</i> , (C) <i>T. harzianum</i> (T-H3), (D) <i>T. asperellum</i> (E) <i>T. hamatum</i> después de 10 días.	41
Figura 5. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de las cinco especies de <i>Trichoderma</i> frente al hongo fitopatógeno <i>Fusarium oxysporum</i>	42
Figura 6. Ensayos duales del fitopatógeno <i>F. oxysporum</i> aislado de cacahuete. (A) Frente a <i>T. asperellum</i> . (B) <i>T. harzianum</i> (Th-Ah), (C) <i>T. koningiopsis</i> , (D) <i>T. hamatum</i> y (E) <i>T. harzianum</i> (Th-Ah).	43
Figura 7. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de las cinco especies de <i>Trichoderma</i> spp., frente al fitopatógeno <i>Diaporthe</i> sp.....	43

Figura 8. Ensayos duales del fitopatógeno <i>Diaporthe</i> sp., aislado de cacahuate frente (A) <i>T. koningiopsis</i> , (B) <i>T. harzianum</i> (T-H3), (C) <i>T. hamatum</i> , (D) <i>T. asperellum</i> , (E) <i>T. harzianum</i> (Th-Ah).....	44
Figura 9. Efecto de tratamientos sobre el peso fresco de planta (raíz y follaje) de cacahuate	46
Figura 11. Efecto de los 34 tratamientos sobre la variable peso seco de vainas de cacahuate.....	48

INDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Características culturales de los hongos aislados de plantas de cacahuate.....	28
Cuadro 1. Cepas de <i>Trichoderma</i> para la evaluación del antagonismo	36
Cuadro 2. Escala de evaluación para el antagonismo de <i>Trichoderma</i> spp. frente a patógenos de cacahuate (Bell <i>et al.</i> 1982).....	37
Cuadro 3. Tratamientos para evaluar el control biológico de <i>Trichoderma</i> spp. frente a hongos patógenos de cacahuate.	38
Cuadro 4. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial y escala de Bell de <i>Trichoderma</i> spp., frente a fitopatógenos de cacahuate.....	44

I. RESUMEN

El presente trabajo de investigación se realizó en torno a las enfermedades de raíz y de semilla que afectan la calidad y rendimiento del cultivo de cacahuate (*Arachis hypogaea* L.) y la evaluación de cinco cepas del género *Trichoderma* y su efectividad en el control de estas enfermedades con el objetivo de implementar el control biológico con *Trichoderma* como una alternativa agroecológica en pequeñas zonas productoras de cacahuate en el municipio de Chietla, Puebla; manteniendo un enfoque equilibrado en los tres principales pilares de la agroecología. El cultivo de cacahuate es un cultivo muy importante en temas nutricionales, ya que aportan del 25-30% de proteína a la dieta humana, además de vitaminas y minerales. Así mismo al ser una leguminosa y fijar nitrógeno enriquece los suelos y es adecuado para rotaciones con maíz; grano indispensable en nuestra dieta. La paja y la cáscara de cacahuate son ideales para alimentar ganado, ya que también contienen una buena cantidad de proteína. Los resultados mostraron que las cinco cepas de *Trichoderma*; T-K11, T-AS1, T-A12, T-H3 y Th-Ah fueron eficientes en la inhibición de *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium equiseti*, *F. oxysporum* y *Diaporthe* sp., en condiciones *in vitro* evaluadas mediante la técnica de cultivos duales, donde se obtuvieron porcentajes de inhibición del crecimiento radial (PICR) de 50% hasta 94%. Los hongos fitopatógenos fueron aislados de cacahuate e identificados molecularmente por secuenciación de regiones ITS y gen beta-tubulina. La evaluación en campo mostró que el fitopatógeno *F. oxysporum* tuvo potencial para establecerse en el suelo en comparación con los otros fitopatógenos, ya que fue el tratamiento que tuvo los valores más bajos en la evaluación de las variables: peso de planta, peso fresco de vainas y peso seco de vainas, mostrando diferencias estadísticas significativas ($p < 0.05$) con el tratamiento que se inóculo con *F. equiseti* el cual no afectó a las variables evaluadas, posiblemente no logró adaptarse a las condiciones. Para futuras evaluaciones del biocontrol de *Trichoderma* sobre fitopatógenos del cacahuate se pretenderá evaluar más variables para asegurar con mayor certeza la efectividad de las especies de *Trichoderma* sobre patógenos importantes del cacahuate. De igual forma evaluar la aplicación periódica de los antagonistas durante el ciclo completo de cultivo.

II. ABSTRACT

The research consisted of study the effectiveness of five characterized *Trichoderma* spp., isolates to control different soilborne pathogens of peanut (*Arachis hypogaea* L.). The diseases induced by fungi can affect the quality and crop yield, but *Trichoderma* is considered an agroecological alternative to control them in production areas from Chietla municipality, Puebla state. Fungal soilborne pathogens were isolated and molecularly identified by sequencing ITS regions and beta-tubulin genes. The results showed that *Trichoderma* strains; T-K11, T-AS1, T-A12, T-H3 and Th-Ah were efficient to inhibit growth of *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium oxysporum* and *Diaporthe* sp., under *in vitro* conditions according to dual culture technique. Radial growth inhibition percentages (PICR) were obtained from 50% to 94%. Additionally, field evaluation considering the plant weight, fresh and dry weight of pods, they showed that the *F. oxysporum* is the principal phytopathogen, because it induced the lowest values of the analyzed variables ($p < 0.05$) when it was compared to the other studied pathogens. Contrarily, *F. equiseti*, did not affect the crop in the studied area. *Trichoderma* biocontrol of soil borne peanut phytopathogens were effective, but future research is needed under field conditions, considering additional crop variables and periodic *Trichoderma* applications during the complete crop cycle.

III. INTRODUCCIÓN

El cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) pertenece a la familia Fabaceae es un cultivo anual, valorado a nivel mundial. Presente en la dieta de gran parte de la población como la India, China, Nigeria, Indonesia, Canadá y México. Constituye y aporta una fuente importante de proteínas desde 25 hasta 30%, lípidos (Zapata *et al.*, 2012; Settaluri *et al.*, 2012) y minerales, como hierro, calcio, fósforo, magnesio, selenio y zinc; además de las vitaminas E, B6, riboflavina, tiamina y niacina (Savage y Keenan, 1994; Muimba-Kankolongo, 2018; Ijaz *et al.*, 2020). En México es una especie invaluable por su resistencia a la sequía, por conservar la fertilidad del suelo al incorporar nitrógeno atmosférico, y por sus cualidades excepcionales para la alimentación de la población del área rural; se considera un sustituto económico de la carne para los campesinos que carecen de recursos económicos (Akram *et al.*, 2018). Así mismo, las plantas de cacahuete son leguminosas que tienen la capacidad de enriquecer el suelo cuando la materia vegetal se incorpora y se descompone. Además, pueden crecer bien en suelos pobres donde no hay suficiente nitrógeno fijo para soportar otros tipos de plantas. Los agricultores aprovechan esta fertilización natural rotando cultivos con leguminosas. La fijación de nitrógeno por medios naturales reduce el uso de fertilizantes artificiales, reduciendo así los costos para los agricultores, además de mitigar los problemas provocados por el uso excesivo de fertilizantes comerciales de nitrógeno y amoníaco, como la eutrofización de ríos y lagos, la generación de lluvia ácida y el crecimiento excesivo de tierras agrícolas para cultivos no alimentarios (Muimba-Kankolongo, 2018).

Puebla forma parte de los principales estados productores de cacahuates ocupando el tercer lugar a nivel nacional con 9,313 ton (SIAP, 2021). Sin embargo, la producción nacional sigue siendo insuficiente, ya que México es uno de los principales países importadores de este alimento; China Estados Unidos, y Brasil son sus principales proveedores según datos del USDA (por sus siglas en inglés: *United States Department of Agriculture*) (USDA, 2021).

Las limitantes principales a nivel mundial en el cultivo del cacahuete son las enfermedades foliares y de raíz que afectan al cultivo durante sus diferentes etapas de desarrollo, así como durante el almacenamiento (Pal *et al.*, 2014). Otro factor importante es la temperatura, la que facilita la propagación y gravedad de las enfermedades y los patógenos (Colhoun, 1973). Estas enfermedades se encuentran afectando la calidad y rendimiento de las plantas. El desequilibrio en la diversidad de la microbiota a causa del uso de pesticidas y a la simplificación del agroecosistema de acuerdo con Altieri (2002) son causas principales para el desarrollo de estos problemas fitosanitarios. Esto

tiene un impacto directo con el decrecimiento que el cultivo está teniendo a nivel nacional, el cual es considerado por los agricultores como poco rentable.

IV. JUSTIFICACIÓN

El cacahuete se introdujo a México desde la época prehispánica; data del 2,000 a. p., teniéndose el registro en Tehuacán, Puebla. Desde entonces su cultivo ha sido adoptado en diversos estados del país. Siendo un cultivo con requerimientos mínimos de nutrientes y una gran adaptabilidad a temperaturas altas. Sin embargo, para el año 2019 México importó 149,389 ton de cacahuates pelados y preparados y produjo solo 81,413 ton. Esto puede adjudicarse a que el cultivo es sembrado en condiciones de temporal y en zonas marginadas, donde su producción es destinada para el autoconsumo y venta local principalmente. Por otro lado, los problemas fitosanitarios causados por hongos fitopatógenos impactan negativamente a la producción y calidad de los cacahuates provocando pérdidas económicas y necesidad de insumos agroquímicos. En cacahuete, recientemente se han reportado los patógenos *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Rhizoctonia solani*, *Verticillium dahliae*, *Sclerotium rolfsii* Sacc., *Alternaria* spp., *Pestalotiopsis* spp., *Drechslera* spp y *Cylindrocladium* spp. (Thiessen y Woodward, 2012; Pal *et al.*, 2014). Estos hongos causan enfermedades desde la emergencia de plantas hasta su almacenamiento. No obstante, al ser un cultivo que está adaptado a diversas zonas de nuestro país y que tiene un rendimiento de 1.7128 ton/ ha mayor al obtenido en India; país que ocupa el segundo lugar en producción de cacahuete a nivel mundial con una producción de 6,727,180 ton. El cultivo de cacahuete puede ser una alternativa de cultivo sostenible y desarrollo económico en zonas rurales productoras y abastecer las demandas nacionales. Por lo anterior, este trabajo tiene el objetivo de evaluar la capacidad antagonista de diferentes especies de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos del cultivo de cacahuete, así como su efecto en el rendimiento, generando una alternativa agroecológica para el manejo de las enfermedades en este cultivo en las zonas productoras del municipio de Chietla, Puebla.

V. MARCO TEÓRICO

5.1. Origen de *Arachis hypogaea*

Arachis hypogaea conocido comúnmente como cacahuate, maní, nuez pegajosa, nuez de mono y nuez de tierra, por su desarrollo bajo el suelo, es un fruto seco perteneciente a la familia Fabaceae, es un cultivo anual que mide unos 30-50 cm de altura (Figura 1F). Su origen es sudamericano reportándose como centros de origen; el sur de Bolivia y el noreste de Argentina (Kochert *et al.*, 1996; Simpson *et al.* 2001; Sanders, 2003, Suchoszek-Łukaniuk, *et al.*, 2011).

5.2. Taxonomía

La clasificación taxonómica del cacahuate según el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos (USDA, por sus siglas en inglés).

Reino: Plantae

Subreino: Tracheobionta

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Fabales

Familia: Fabaceae

Género: *Arachis* L.

Especie: *Arachis hypogaea* L.

5.3. Fenología

El cacahuate presenta crecimiento herbáceo indeterminado, su altura puede alcanzar entre 45 y 60 cm con 4 a 5 ramificaciones de importancia, sus hojas son tetrafoliadas de tamaño y tonalidad variables con la variedad botánica y las condiciones ambientales (Faiguenbaum, 1983). Las flores de esta especie están dispuestas en inflorescencias que se desarrollan en nudos foliares sobre las ramificaciones y/o tallo principal dependiendo de la variedad botánica (Leon, 2000). La floración abarca el 80% del ciclo evolutivo de la especie superponiéndose con la fructificación; una vez ocurrida la fecundación se produce la elongación del ovario fecundado hasta penetrar en el suelo donde se desarrollan los frutos (Figura 1) (Leon, 2000). Debido a su hábito de crecimiento indeterminado, esta especie produce hojas continuamente, sustituyendo las que mueren en detrimento del crecimiento de los frutos o semillas (Fernández *et al.*, 2006). La acumulación de biomasa en la planta describe una curva sigmoidea típica que puede caer al final de la estación de

crecimiento por condiciones ambientales menos favorables o por altas densidades (Giayetto *et al.*, 2006).

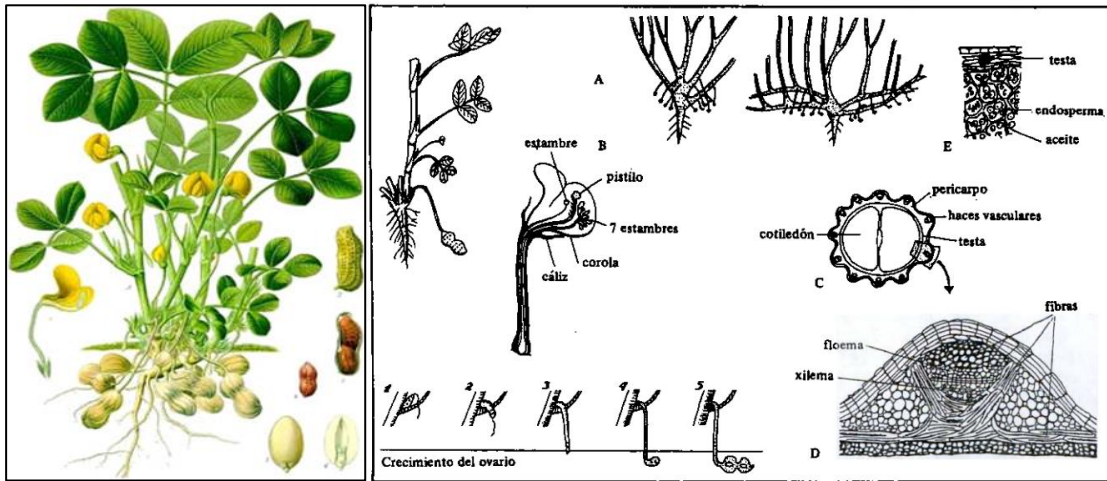


Figura 1. *Arachis hypogaea* L. (köhler, 1887). (A) tipos de ramificación, (B) flor, (C) corte transversal del fruto, (D) corte transversal del pericarpio, (E) corte parcial de la semilla.

5.4. Enfermedades causadas por hongos en cacahuete

Las enfermedades causadas por hongos son diversas, la gran mayoría de hongos patógenos no requieren de vectores móviles tales como insectos o ácaros, principalmente se dispersan por el viento, la lluvia o el suelo (Purcell, 2009). Su distribución es amplia y causan pérdidas importantes en diversos cultivos alrededor del mundo incluido el cacahuete. Todas las partes de la planta de cacahuete son susceptibles a enfermedades, estas pueden ser atacadas durante el ciclo de cultivo o durante el almacenaje, como se presenta el hongo *A. flavus* que es productor de aflatoxinas reportadas como carcinogénicas (Pildain *et al.*, 2008; Pal *et al.*, 2014; Norlia *et al.*, 2019). Entre las enfermedades fúngicas foliares, las manchas foliares (temprana y tardía) y la roya son económicamente importantes y pueden causar pérdidas de rendimiento arriba de 57% así como pérdida de la calidad del aceite (Mondal y Badigannavar, 2015). Otras enfermedades fúngicas foliares como el tizón de la hoja (*Alternaria* sp.), antracnosis (*Colletotrichum* spp.), mancha de la hoja (*Phomopsis* sp.), mancha negra (*Phyllosticta* sp.), mancha de la hoja (*Pestalotiopsis* sp.), enfermedad de la hoja (*Phoma* sp.), tizón de la hoja (*Myrothecium roridum*), tizón de la hoja (*Drechslera* sp.), mancha de la hoja (*Cylindrocladium* sp.) y moho polvoriento (*Botrytis cinerea*), actualmente no son patógenos económicamente importantes; según lo reportado en países productores como India, Estados Unidos y China (Pal *et al.*, 2014).

Las enfermedades transmitidas por el suelo y las semillas se encuentran ampliamente distribuidas en el cultivo de cacahuete y son consideradas las más importantes. La pudrición del tallo causada por *Sclerotium rolfsii* Sacc., damping off (*Rhizoctonia solani*), pudrición de raíz (*Verticillium dahliae*, *Fusarium* spp.), pudrición carbonosa (*Macrophomina phaseolina*), tizón (*Sclerotinia minor*), pudrición de la corona (*Aspergillus niger*) cascara o vaina negra (*Theilaviopsis basicola*) y pudrición de vainas (*R. solani*, *Fusarium* sp., *Phytium* spp.) (Sanogo y Puppala, 2012; Jadon *et al.*, 2015) son las enfermedades más comúnmente reportadas en zonas productoras de cacahuete.

5.5. Control biológico

El término control biológico fue usado primero por Smith (1919), para describir la introducción de enemigos naturales para la supresión permanente de insectos plaga. Desde entonces se ha aplicado ocasionalmente para incluir todas las medidas de control de plagas, excepto la aplicación de plaguicidas químicos, fitomejoramiento para resistencia a plagas, controles autocidas, aplicaciones de semioquímicos y controles culturales (Harman, 2006). Según Stenberg *et al.* (2021), el control biológico siempre debe involucrar a los siguientes tres actores separados: 1) un agente de control biológico, 2) una plaga y 3) un interesado que se beneficia del servicio de control de plagas proporcionado por el agente de control biológico. Generalmente, se conocen cuatro tipos diferentes de control biológico: control biológico natural, de conservación, clásico y aumentativo (Cock *et al.* 2010).

1. El control biológico natural es un servicio de los ecosistemas (Millennium Ecosystem Assessment, 2005), por el cual los organismos benéficos naturales reducen los organismos plaga. Esto ocurre en todos los ecosistemas del mundo sin ninguna intervención humana.
2. El control biológico clásico, se centra en las plagas invasivas, de modo que un enemigo natural se recoge en el lugar donde se origina la plaga y se introduce en el nuevo entorno para controlar las especies de plagas invasoras; la expectativa es que el organismo introducido se establecerá permanentemente (Bale *et al.*, 2008).
3. El control biológico aumentativo consiste en la producción masiva del enemigo natural y una amplia distribución en el ambiente para suprimir la plaga sin la colonización permanente del agente de biocontrol liberado (el enfoque es similar a la forma en que se emplean la mayoría de los insecticidas químicos estándar). existen dos formas de liberación

en el control biológico aumentativo; liberación inundativa y liberación inoculativa estacional.

- Liberación por inundación, implica la recolección, cría en masa y liberación periódica en grandes cantidades de los enemigos naturales para obtener un control inmediato de la plaga. El control se obtiene principalmente de los enemigos liberados y no de sus descendientes.
 - Liberación por inoculación, el proceso es similar al anterior, sin embargo, en este caso la liberación de los enemigos es periódica (6-12 meses), en los cuales ocurren muchas generaciones de plagas.
4. El control biológico de conservación tiene como objetivo a los enemigos naturales que ya se encuentran habitando esa zona (Blackburn *et al.*, 2016). Esto incluye la implementación de prácticas que mantengan y mejoren la reproducción, supervivencia y eficacia de los enemigos naturales (depredadores, parasitoides y patógenos) de las plagas. Los enfoques para la conservación de estos enemigos naturales implican evitar prácticas perjudiciales para ellos, así como la adopción de prácticas que los beneficien (McCravy, 2008).

El objetivo del control biológico es proveer protección a la planta durante su periodo de cultivo sin dejar residuos tóxicos que dañen al ambiente y la salud humana (Gawai, 2018). No obstante, algunos agentes de control biológico tienen la capacidad de promover el crecimiento de las raíces y a su vez aumentar el rendimiento de los cultivos. El control biológico es un componente importante para la producción agrícola sostenible (Bale *et al.*, 2008).

Diversos organismos han sido investigados como potenciales agentes de control biológico, incluidos parasitoides de insectos, depredadores y entomopatógenos, que incluyen bacterias, virus, hongos y nematodos. Muchos de estos organismos se producen comercialmente y tienen un uso generalizado para el control biológico inoculativo e inundativo (Chandler *et al.*, 2011; Shapiro-Ilan *et al.*, 2002; Vega y Kaya, 2012). En el control de enfermedades se ha usado en varias ocasiones para el manejo de patógenos importantes como; *Rhizoctonia solani*, *R. baticola*, *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *F. verticilliodes*, *Sclerotium rolfsii*, *S. sclerotiorum*, *Macrophomina phaseolina*, *Pythium ultimum* y *Botrytis cinerea* (Dubey *et al.* 2007; Singh y Singh, 2012; Ghazanfar *et al.*, 2018).

5.6. El género *Trichoderma*

Reino: Fungi

División: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Trichoderma*

Trichoderma es un género de hongos típicos anaerobios facultativos y cosmopolitas distribuidos ampliamente en suelos agrícolas, forestales, tropicales, y en otros sustratos como madera en descomposición (Samuels, 1996; Hermosa *et al.*, 2014). Pertenecen a la subdivisión Deuteromycetes, cuyos miembros no tienen o no exhiben un determinado estado sexual ya que la mayoría de las cepas se adaptan a un ciclo de vida asexual (Harman, 2004). Se caracterizan por un crecimiento rápido, considerándose como competidores agresivos; sin embargo, Wardle *et al.* (1993) encontraron que estas propiedades dependen de la especie. Existen alrededor de 90 especies en el género *Trichoderma* (Sandle, 2014). De acuerdo con lo mencionado por Samuels *et al.*, (2002) la mayoría de las especies del género tienen un rango óptimo de temperatura 25-30 °C, mientras que otras crecen bien arriba de los 35°C. Los medios de cultivo mayormente empleados para su crecimiento son agar papa dextrosa y harina de maíz, en el primero las colonias aparecen de color blanco y en el segundo las colonias aparecen más transparentes (Shah *et al.* 2012). Algunas especies secretan un pigmento amarillo en el agar, el cual está relacionado con las capacidades antagonistas de *T. reesei* contra otros hongos y su pérdida afecta la estabilidad de los conidios según estudios de Atanasova *et al.* (2013), así mismo algunas especies producen un olor característico a dulce o coco (Schuster y Schmoll, 2010).

Morfológicamente presentan conidios de color verde brillante y una estructura de conidióforos (Figura 2 A, B) repetidamente ramificada (Gams y Bissett, 1998), compacta, a menudo formados en distintos anillos concéntricos, o soportados a lo largo de la escasa hifa aérea. El conidióforo típico de *Trichoderma* con ramas emparejadas asume un aspecto piramidal. Las fiálides generalmente están agrandadas en el medio, pero pueden ser cilíndricas o casi subglobosas (Zin y Badaluddin, 2020). Las clamidosporas pueden ser producidas por todas las especies; son típicamente subglobosas unicelulares y terminan en hifas cortas (Sandle, 2014).

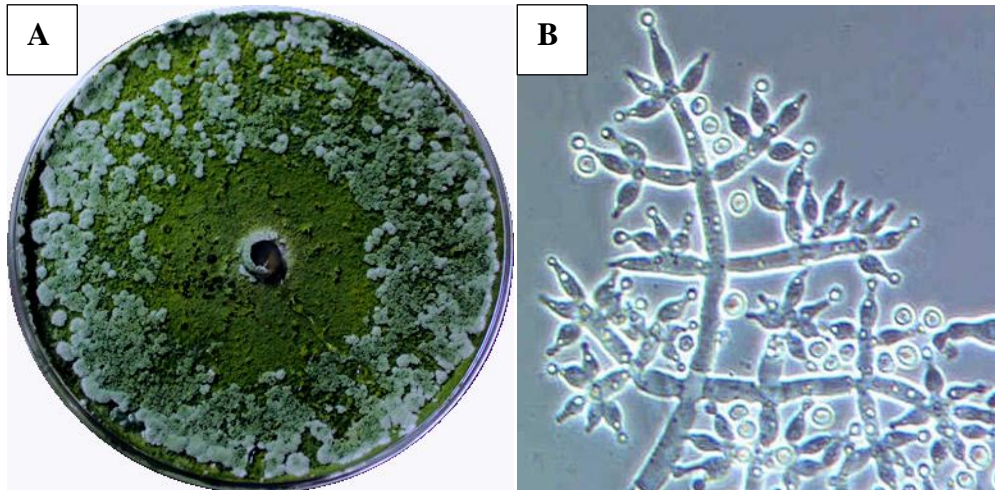


Figura 2. (A) Colonia de *Trichoderma harzianum*, (B) estructura microscópica de *Trichoderma* spp.

5.7. Mecanismos de acción

Trichoderma spp., son hongos muy populares entre la comunidad científica dedicada al estudio de nuevas alternativas de control de enfermedades causadas por diversos hongos fitopatógenos, con el fin de disminuir el uso de pesticidas sintéticos. Esto se debe a los diferentes mecanismos de acción que presenta como agente de control biológico contra patógenos de la raíz y semillas, además de su capacidad para promover el crecimiento de las plantas (Singh *et al.*, 2011). Se han desarrollado principalmente como agentes de control biológico para enfermedades fúngicas que afectan a las plantas. Sin embargo, su papel no sólo es ese, tiene otras funciones como; estimular la colonización de la rizósfera (Vinale *et al.*, 2008; Harman, 2004), potenciar el crecimiento y desarrollo de la planta mediante la producción de moléculas promotoras del crecimiento, así como induciendo la resistencia sistémica de la planta contra patógenos de la raíz y foliares (Shoresh *et al.*, 2010). Los mecanismos que emplean las diferentes especies de *Trichoderma* incluyen competencia por espacio y nutrientes, antibiosis, micoparasitismo, producción de metabolitos secundarios (Mukherjee *et al.*, 2013). Entre las interacciones positivas a favor del crecimiento y defensa de la planta se encuentra la competencia por nutrientes entre estos el nitrógeno, carbohidratos no estructurales (azúcares y polisacáridos como almidón, laminarina, pectinas, entre otros) y microelementos (Hernández-Melchor *et al.*, 2019).

5.7.1. Competencia por nutrientes

La competencia por nutrientes es uno de los mecanismos más conocidos ejercidos por especies del género *Trichoderma*, está relacionada con su alta velocidad de crecimiento y facilidad para desarrollarse sobre un sinfín de sustratos (Singh *et al.*, 2014). La competición entre microorganismos ocurre únicamente cuando las fuentes de nutrientes y espacio están limitadas (Nusaibah y Musa, 2019). La captación de hierro mediante la secreción de sideróforos es llevada a cabo cuando existe una deficiencia de este mineral o se encuentra de forma insoluble en el suelo. Lehner *et al.* (2013) mencionan que existen más de 10 diferentes sideróforos producidos por *Trichoderma* spp. El ácido harzianico es un sideróforo producido por *T. harzianum*, Vinale *et al.* (2009) reportaron que promovió el crecimiento en plántulas de canola, así mismo mostró inhibición del crecimiento de *R. solani* en ensayos *in vitro*. Lo anterior sugiere que la quelación de Fe^{+3} en la rizósfera podría tener un efecto simultáneo como proveedor de Fe^{+3} a las plantas y como inhibidor de la absorción de Fe^{+3} por los fitopatógenos (Sánchez-Espinoza *et al.*, 2020). Por otra parte, las especies de *Trichoderma* tienen una alta capacidad para movilizar y utilizar nutrientes, esto está relacionado con la producción de ácidos inorgánicos como; ácidos cítrico, glucónico y fumárico, los cuales bajan el pH del suelo e incrementan la solubilización del fosfato y micronutrientes entre ellos hierro y manganeso (Vinale *et al.*, 2008).

5.7.2. Sideróforos

Los sideróforos (Gk.sidero-hierro, phores-portador) son quelantes específicos de iones férricos de alta afinidad con un peso molecular bajo de menos de 10 KDa, excretados bajo inanición de hierro por varios microorganismos como bacterias, hongos y también por algunas plantas (Khan *et al.*, 2018). Estos se pueden clasificar según su naturaleza química como; hidroxamato, carboxilato y catecolato, algunos pueden ser mezclados. En las bacterias son principalmente producidos por *Escherichia coli* y *Pseudomonas florenscens* y sólo son producidos extracelularmente. Por parte de los hongos *Aspergillus fumigatus* y *A. nidulans* son los más estudiados en la producción de sideróforos reportándose hasta 55 tipos similares de estos. Las moléculas quelantes de Fe^{3+} pueden ser beneficiosas para las plantas porque pueden solubilizar el hierro que de otro modo no estaría disponible y pueden suprimir el crecimiento de microorganismos patógenos al privar a los patógenos de este micronutriente necesario (Leong, 1986). A pesar de que no es un mecanismo de acción de *Trichoderma* muy estudiado es importante para algunos cultivos que se encuentran en

suelos donde el hierro no se encuentra disponible para absorberlo, como ocurre con las gramíneas en suelos calcáreos. Es aquí donde surge la importancia de los sideróforos producidos por *Trichoderma* con función de promoción de crecimiento y por otra parte como un mecanismo de acción para el control de hongos fitopatógenos.

Vinale *et al.* (2013) demostraron que el ácido harzianico producido por *T. harzianum* tuvo un efecto sobre la promoción del crecimiento de canola y el crecimiento de diferentes hongos patógenos que depende de su concentración, lo que comprueba la importancia de los sideróforos tanto en el antagonismo como en la promoción del crecimiento.

5.7.3. Antibiosis

La antibiosis es el proceso por el cual compuestos difusibles de bajo peso molecular interactúan y reducen el crecimiento de otros organismos (Sood *et al.*, 2020). La antibiosis es un proceso llevado a cabo por diversos agentes de control biológico (BACs) como *Spreptomyces* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. y *Trichoderma* spp. (Nehra *et al.*, 2021). Estos compuestos son metabolitos secundarios; pequeñas moléculas que no son directamente esenciales para su crecimiento. Las especies del género *Trichoderma* producen una gran cantidad de estos compuestos, siendo reportados a lo largo del estudio de los modos de acción de especies del género *Trichoderma*. La actividad de la gliotoxina fue observada por Weindling (1934), describiéndola como “un principio letal”, secretado alrededor del medio, permitiendo la actividad parasítica del antagonista. Hoy día ha sido demostrado que la especie productora de gliotoxina es *T. virens* no *T. lignorum* como había reportado Weindling (1934) citado por Howell y Stipanovic (1983), quien para 1983 describió un nuevo antibiótico de *T. virens*, la gliovirina con capacidad inhibitoria sobre *Phythium ultimum* y especies de *Phytophthora*. Otros antibióticos producidos por especies de *Trichoderma* son glisprenina, ácido heptelídico, koningininas, antraquinonas, tricodermamidas, peptaiboles, policétidos, terpenoides, polipéptidos, tricotecenos, tricodermaidas, azafilonas, harzialactonas (Cardoza *et al.*, 2005).

5.7.4. Micoparasitismo

El micoparasitismo describe el ataque directo de un hongo por otro el cual tiene el objetivo de explotar al otro como fuente de nutrientes (Moreno- Ruiz *et al.*, 2020). El proceso de mico parasitación se describe en cuatro fases; en la primera ocurre el crecimiento quimiotrófico del

micelio del antagonista hacia el hongo fitopatógeno seguido del segundo paso que es el reconocimiento. En la tercera etapa ocurre el ataque y degradación de la pared celular de los fitopatógenos, mediada por la producción de enzimas tales como quitinasas, celulasas y proteasas (Harman *et al.*, 2004). Adicionalmente inactivan las enzimas de los hongos fitopatógenos, lo cual evita la colonización y penetración de las plantas. Finalmente, en la fase cuarto ocurre la penetración de las células del fitopatógeno; durante esta etapa ocurren cambios morfológicos, lo que lleva al enrollamiento y estrangulación de hifas por parte del antagonista (Lu *et al.*, 2004; Ram y Singh, 2018).

VI. REFERENCIAS

1. Akram, U., Metson, G. S., Quttineh, N.H. & Wennergren, U. 2018. Closing Pakistan's Yield Gaps Through Nutrient Recycling. *Front. Sustain. Food Syst.* 2:24. doi: 10.3389/fsufs.2018.00024
2. Nusaibah, A.S. & Musa, H. 2019. A Review Report on the Mechanism of *Trichoderma* spp. as Biological Control Agent of the Basal Stem Rot (BSR) Disease of *Elaeis guineensis*. *Trichoderma - The Most Widely Used Fungicide*. doi:10.5772/intechopen.84469
3. Altieri, M.A. 2002. "Agroecology: the science of natural resource management for poor farmers in marginal environments", *Agric. Ecosyst. Environ.* 93, 1-24.
4. Atanasova, L., Knox, B. P., Kubicek, C. P., Druzhinina, I. S. & Baker, S. E. 2013. The polyketide synthase gene *pks4* of *Trichoderma reesei* provides pigmentation and stress resistance. *Eukaryotic cell*, 12(11): 1499–1508. <https://doi.org/10.1128/EC.00103-13>
5. Bale, J. S., van Lenteren, J. C. & Bigler, F. 2008. Biological control and sustainable food production. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 363: 761–776.
6. Bosamia, T. C., Dodia, S. M., Mishra, G. P., Ahmad, S., Joshi, B. & Thirumalaisamy, P. P. 2020. Unraveling the mechanisms of resistance to *Sclerotium rolfsii* in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using comparative RNA-Seq analysis of resistant and susceptible genotypes. *PLoS ONE* 15(8): e0236823. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236823>

7. Cardoza, R., Hermosa, R., Vizcaino, J., Sanz, L., Monte, E. & Gutiérrez, S. 2005. Secondary metabolites produced by *Trichoderma* and their importance in the biocontrol process. *Microorganisms for Industrial Enzymes and Biocontrol*. 10: 1-22.
8. Cock, M. J. W., van Lenteren, J. C., Brodeur, J., Barratt, B. I. P., Bigler, F., Bolckmans, K., Cònsoli, F. L., Haas, F., Mason, P. G. & Parra. J. R. P. 2010. Do new access and benefit sharing procedures under the convention on biological diversity threaten the future of biological control? *BioControl* 55:199–218
9. Colhoun, J. 1973. Efectos de los factores ambientales sobre las enfermedades de las plantas. *Rev. Anual Fitopatol.* 11: 343 – 364. <https://doi.org/10.1002/ecs2.3074>
10. Dubey, S. C., Suresh, M. & Singh, B. 2007. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f.sp. ciceri for integrated management of chickpea wilt. *Biol. Control* 40(1):118–127
11. Gams, W., and Bissett, J. 1998. Morphology and identification of *Trichoderma*. In: *Trichoderma and Gliocladium*. Kubicek, C. P. and Harman, G. E., Eds. Taylor & Francis, London, pp.1-34
12. Gawai, D. U. 2018. Role of fungi as biocontrol agents for the control of plant diseases in sustainable agriculture. *Fungi and their Role in Sustainable Development: Current Perspectives*. 16: 283- 291, https://doi.org/10.1007/978-981-13-0393-7_16
13. Ghazanfar, M. U., Raza, M., Raza, W., and Qamar, M. I. 2018. *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: a review. *Plant Prot.* 2: 109–135.
14. Gross M. 2020. Disease in the times of climate change. *Curr. Biol.* 30(19): 1104–1106, <https://doi.org/10.1016/j.cub.2020.09.039>
15. Hermosa, R., Cardoza, R. E., Rubio, M. B., Gutiérrez, S. & Monte, E. 2014. Secondary Metabolism and Antimicrobial Metabolites of *Trichoderma*. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, 10: 125–137. doi:10.1016/b978-0-444-59576-8.00010-2
16. Howell, C. R. & Stipanovic, R. D. 1983. Gliovirin, a new antibiotic from *Gliocladium virens*, and its role in the biological control of *Pythium ultimum*. *Can. J. Microbiol.* 29:321- 324.
17. Jadon, K. S., Polavakkalipalayam, P., Thirumalaisamy, Kumar, V., Koradia, V. G. & Padavi, R. D. 2015. Management of soil borne diseases of groundnut through seed dressing fungicides. *Crop Prot.* 78: 198-203, doi: 10.1016/j.cropro.2015.08.021.

18. Khan, A.; Singh, P.; Srivastava, A. 2018. Synthesis, nature and utility of universal iron chelator – Siderophore: A review. *Microbiol. Res.* 212-213: 103–111. doi:10.1016/j.micres.2017.10.012
19. Lehner, S. M., Atanasova, L., Neumann, N. K., Krska, R., Lemmens, M., Druzhinina, I. S. & Schuhmacher, R. 2013. Isotope-assisted screening for iron-containing metabolites reveals a high degree of diversity among known and unknown siderophores produced by *Trichoderma* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 79 (1): 18–31. <https://doi.org/10.1128/AEM.02339-12>
20. Lu, Z., Tombolini, R., Woo, S., Zeilinger, S., Lorito, M. & Jansson, J. K. 2004. In vivo study of *Trichoderma*-pathogen-plant interactions, using constitutive and inducible green fluorescent protein reporter system. *Appl. Environ. Microbiol.* 70(5): 3073-3081
21. McCravy K.W. 2008. Conservation Biological Control. In: Encyclopedia of Entomology. Capinera, J. L. Eds. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6359-6_812
22. Millennium Ecosystem Assessment. 2005. Ecosystems and human well-being: synthesis. Island Press, Washington, DC
23. Mondal, S. & Badigannavar, A.M. 2015. Peanut rust (*Puccinia arachidis* Speg) disease: its background and recent accomplishments towards disease resistance breeding. *Protoplasma* 252(6):1409-1420. doi: 10.1007/s00709-015-0783-8.
24. Moreno-Ruiz, D., Lichius, A., Turrà, D., Di Pietro, A. & Zeilinger, S. 2020. Chemotropism Assays for Plant Symbiosis and Mycoparasitism Related Compound Screening in *Trichoderma atroviride*. *Front. Microbiol.* 11: 601251, doi:10.3389/fmicb.2020.601251
25. Mukherjee, P. K., Horwitz, Herrera-Estrella, B. A., Schmoll, A., M. & Kenerley, C. M. 2013. *Trichoderma* research in the genome era. *Annu. Rev. Phytopathol.* 51:105–129, <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102353>
26. Nehra, S., Gothwal, R. K., Varshney, A. K., Solanki, P. S., Chandra, S., Meena, P. & Ghosh, P. 2021. Bio-management of *Fusarium* spp. associated with fruit crops. *Fungi Bio-Prospect in Sustainable Agriculture. Environ. Nanotechnol. Monit.* 14: 475–505. doi:10.1016/b978-0-12-821394-0.00019-6
27. Norlia, M., Jinap, S., Nor-Khaizura, M., Radu, S., Samsudin, N. & Azri, F.A. 2019. *Aspergillus* section *Flavi* and Aflatoxins: Occurrence, Detection, and Identification in

- Raw Peanuts and Peanut-Based Products Along the Supply Chain. *Front. Microbiol.* 10: 2602. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02602>
28. Pildain, B., Frisvad, J. C., Vaamonde, G., Cabral, D., Varga, J. & Samson, R. A. 2008. Two novel aflatoxin-producing *Aspergillus* species from Argentinean peanuts. *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.* 58: 725–735. 10.1099/ijms.0.65123-0
29. Purcell, A. H. 2009. Plant Diseases and Insects. In: *Encyclopedia of Insects*. Academic Press. Pp. 802–806. doi:10.1016/b978-0-12-374144-8.00212-5
30. Pusztahelyi, T., Holb, I. J. & Pócsi, I. 2015. Secondary metabolites in fungus-plant interactions. *Front. Plant Sci.* 6: 573, doi:10.3389/fpls.2015.00573
31. Ram, R. & Singh, H. B. 2018. *Trichoderma* spp.: An opportunistic pathogen. *Biotech Today. An International Journal of Biological Sciences.* 8 (2): 16, doi: 10.5958/2322-0996.2018.00013.3.
32. Samuels, G. J., Dodd, S. L., Gams, W., Castlebury, L. A. & Petrini, O. 2002. *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 94:146
33. Sánchez-Espinosa, A. C., Villarruel-Ordaz, J. L. & Maldonado-Bonilla, L. D. 2020. The cause and potential solution to the *Fusarium* wilt disease in banana plants. *Terra Latinoam.* 38 (2): 435-442, doi: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.617>
34. Sanogo, S. & Puppala, N. 2012. Microorganisms Associated with Valencia Peanut Affected by Pod Rot in New Mexico. *Peanut Sci.* 39: 95-104, doi: 10.3146/PS11-25.1.
35. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Available online: <https://www.gob.mx/siap> (accessed on 1 October 2021).
36. Shah, S., Nasreen, S. & Sheikh, P. A. 2012. Cultural and morphological characterization of *Trichoderma* sp. associated with green mold disease of *Pleutorus* sp. in Kashmir. *Res. J. Microbiol.* 7(2):139–144
37. Simpson, C. E., Krapovickas, A. & Valls, J. F. M. 2001. History of *Arachis*, including evidence of *A. hypogaea* L. progenitors. *Peanut Sci.* 28: 78-80.
38. Singh, S. P. & Singh, H. 2012. Effect of consortium of *Trichoderma harzianum* isolates on growth attributes and *Sclerotinia sclerotiorum* rot of brinjal. *Veg. Sci.* 39: 144-148
39. Smith, H. S. 1919. On Some Phases of Insect Control by the Biological Method. *J. Econ. Entomol.* 12 (4): 288–292, <https://doi.org/10.1093/jee/12.4.288>

40. Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiwy, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Araniti, F. & Sharma, A. 2020. *Trichoderma*: The "Secrets" of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants* (Basel, Switzerland), 9(6): 762. <https://doi.org/10.3390/plants9060762>
41. Stenberg, J. A., Sundh, I. & Becher, P.G. 2021. When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. *J. Pest Sci.* 94: 665–676, doi: <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01354-7>
42. Tang, X., Zhong, R. & Jiang, J. 2020. Cassava/peanut intercropping improves soil quality via rhizospheric microbes increased available nitrogen contents. *Biotechnol.* 20: 13. <https://doi.org/10.1186/s12896-020-00606-1>
43. United States Department of Agriculture. Available online: <https://www.fas.usda.gov/data> (accessed on 8 October 2021).
44. Vinale, F., Ghisalberti, E. L., Sivasithamparam, K., Marra, R., Ritieni, A., Ferracane, R., Woo, S. & Lorito, M. 2009. Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.* 48(6): 705–711. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02599.x>
45. Vinale, F., Nigro, M., Sivasithamparam, K., Flematti, G., Ghisalberti, E. L., Ruocco, M. & Lorito, M. 2013. Harzianic acid: a novel siderophore from *Trichoderma harzianum*. *FEMS Microbiol. Lett.* 347(2): 123–129, doi:10.1111/1574-6968.12231
46. Vinale, F., Sivassithamparam, K., Ghisalbert, E.L., Marra, R., Woo, S.L. & Lorito, M. 2008. *Trichoderma* plant-pathogen interactions. *Soil Biol. Biochem.* 40: 1-10
47. Weindling, R., 1934, Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lingorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi. *Phytopathology* 24: 1153.
48. Zapata, N., M. Vargas, V.L. Finot, & B. Vallejos. 2012. Caracterización fenológica y morfológica de veinte accesiones de maní (*Arachis hypogaea* L.) establecidas en la Provincia de Ñuble, Chile. *Chilean J. Agric. Anim. Sci.* 28:127-137
49. Zin, N. A. & Badaluddin, N. A. 2020. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Ann. Agric. Sci.* 65(2): 168–178, doi:10.1016/j.aoas.2020.09.003

VII. OBJETIVOS

7.1. Objetivo general

Evaluar la capacidad antagónica de diferentes especies de *Trichoderma* spp., frente a hongos fitopatógenos de raíz, así como su efecto en el crecimiento y rendimiento de plantas de cacahuete (*Arachis hypogaea* L.) en Buenavista de Benito Juárez, Chietla, Puebla.

7.2. Objetivos específicos

1. Aislar a los hongos patógenos de raíz y fruto de cacahuete e identificar morfológica y molecularmente.
2. Realizar pruebas de patogenicidad de los hongos aislados.
3. Evaluar la capacidad antagónica *in vitro* de *Trichoderma* spp. frente a los hongos fitopatógenos aislados del cacahuete.
4. Evaluar la estimulación de las cinco cepas de *Trichoderma* en el crecimiento de raíz y producción de cacahuete.

VIII. HIPÓTESIS

8.1. Hipótesis general

Las especies de *Trichoderma* que sean más efectivas en la inhibición de los hongos fitopatógenos de *Arachis hypogaea* L. en condiciones *in vitro* mostrarán un mayor crecimiento y rendimiento en campo.

8.2. Hipótesis particulares

1. El porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de las diferentes especies de *Trichoderma* sobre los hongos fitopatógenos presentarán diferencias estadísticas significativas.
2. Las especies de *Trichoderma* que mayor PICR obtengan *in vitro*, serán mejores antagonistas en campo frente a los hongos fitopatógenos de *A. hypogaea* L.
3. La producción de *A. hypogaea* L., será mayor en plantas inoculadas con las cepas de *Trichoderma* a diferencia de plantas no inoculadas con los antagonistas.

CAPÍTULO I: IDENTIFICACIÓN Y PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos y oomicetes continúan causando pérdidas en diversos cultivos de importancia hortícola alrededor del mundo (Savary *et al.*, 2012). El cultivo de cacahuete (*Arachis hypogaea*) no es la excepción, en los países productores de este fruto seco se reporta una alta incidencia de enfermedades, causadas en su mayoría por hongos; disminuyendo su calidad y rendimiento (Pal *et al.*, 2014). Entre las enfermedades más importantes se reportan algunas especies del género *Fusarium*, las cuales afectan el sistema vascular de las plantas, evitando el paso de nutrientes y causando marchitez en las plantas y eventualmente su muerte (Pal *et al.*, 2014; Rajeswari, 2014). En Argentina se ha reportado incidencia del 95% de *Fusarium solani* causando pudrición de raíces, tallo, corona y vainas (Rojo *et al.*, 2007). La especie *F. oxysporum* se ha encontrado causando marchitez en campos de cacahuete en la India, Brasil, Irán, Libia, Tanzania y Zimbawe (Farr y Rossman, 2021). *Macrophomina phaseolina* es un hongo con un amplio rango de hospedantes entre ellos el cacahuete, afectando desde la emergencia de las plantas (damping-off), pudrición del tallo, raíces y vainas (Shanmugan *et al.*, 2003; Rao y Kishore, 2016). *Aspergillus niger* y *Sclerotium rolfsii* son dos fitopatógenos importantes para el cultivo de cacahuete, causando daños en el cuello de la planta, así mismo pueden causar infección en la preemergencia de las plántulas y los daños pueden prevalecer en climas cálidos (Eslami *et al.*, 2015).

En México se ha puesto poca atención a las enfermedades de la raíz en el cultivo de cacahuete al no ser cultivado en grandes extensiones como el caso del maíz y aguacate por mencionar algunos. Por ello es necesario estudiarlas para así tener una estrategia de manejo adecuada, reducir las pérdidas y evitar la diseminación hacia otras zonas productoras. En este capítulo el objetivo fue identificar a los hongos asociados a enfermedades de la raíz de cacahuete en parcelas localizadas en el municipio de Chietla, Puebla.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Área de estudio

Buenvista de Benito Juárez es una comunidad rural perteneciente al municipio de Chietla en el estado de Puebla, México (Figura 1). Ubicada entre los paralelos $18^{\circ} 31' 09''$ y $18^{\circ} 33' 15''$ de latitud norte y entre los meridianos $98^{\circ} 31' 40''$ y $98^{\circ} 34' 42''$ de longitud oeste a una altitud media de 1128 metros sobre el nivel del mar. El clima es cálido subhúmedo con lluvias en verano (89%) A(w); la temperatura media anual es de 23.1°C . La precipitación media anual es de 700 mm (INEGI, 2021).

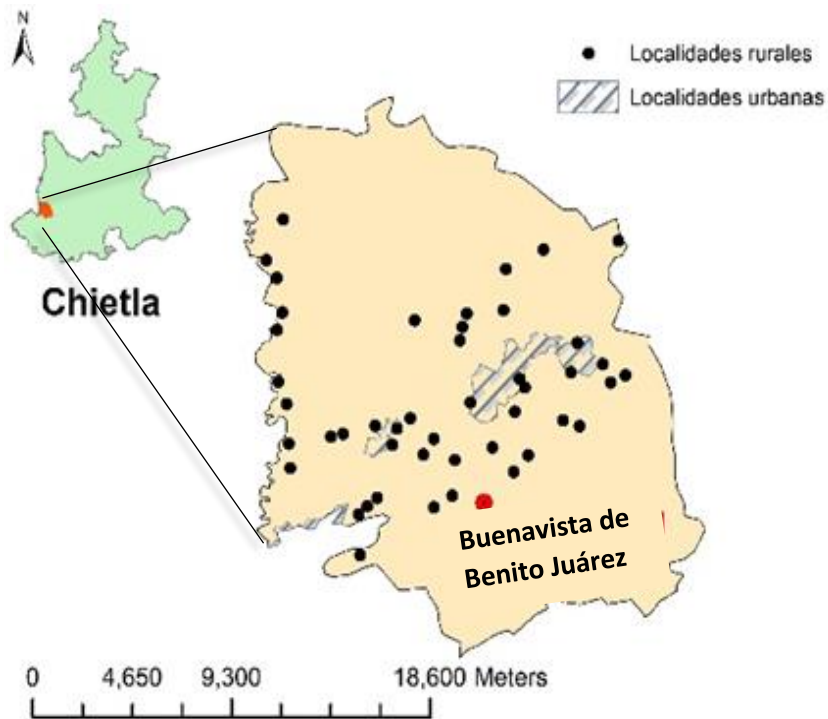


Figura 1. Mapa de ubicación del área de estudio. Buenvista de Benito Juárez, Chietla, Puebla.

2.2. Muestreo de material vegetal

El muestreo de plantas de cacahuete se realizó de forma dirigida, es decir de plantas con síntomas causados por hongos (Figura 2). El periodo de colecta fue en el mes de septiembre del año 2019, previo a la cosecha. Cada planta se extrajo con raíz del suelo y se colocó en bolsas plásticas rotuladas, mantenidas en frío hasta su traslado al laboratorio de hongos y patología vegetal, ubicado en el edificio Val1-Ecocampus Valsequillo, de la Benemérita Universidad Autónoma de Puebla, México.



Figura 2. (A) Parcela con cultivo de cacahuete con síntomas de marchitez Buenavista de Benito Juárez, Chietla, Puebla, (B) síntomas de pudrición y necrosis en tallo de una planta muestreada.

2.3. Aislamiento a partir de tejido

Los hongos se aislaron a partir de tejido sintomático de raíces y de tallos de las plantas colectadas. Las muestras de raíz y de tallo se lavaron con agua del grifo para eliminar el suelo, enseguida se sumergieron en hipoclorito de sodio al 1% (NaOCl) durante 3 minutos. Las muestras se enjuagaron con agua destilada estéril por un lapso de 2-3 minutos, posteriormente, el tejido vegetal se colocó en papel filtro estéril para retirar el exceso de agua. Las raíces se cortaron en fragmentos de 5-10 mm con un bisturí estéril y se colocaron cinco fragmentos en cajas Petri (90 x 15 mm) con medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA, Bioxon[®]) y cloranfenicol al 1% para evitar el crecimiento de bacterias. Finalmente, los cultivos se incubaron en oscuridad a $28 \pm 1^\circ\text{C}$ durante 3 días y se purificaron por punta de hifa para la obtención de cultivos axénicos (Gómez-De La Cruz *et al.*, 2017).

2.4. Identificación molecular

2.4.1. Extracción de ADN

Este procedimiento se realizó por el método CTAB 2% (Tris-HCL 10 Mm; H₂O 20 Mm, pH 8; CTAB 2%; NaCl 1.4 M a 60 ± 2 °C) con algunas modificaciones (Rivera-Jiménez *et al.*, 2018). El DNA se resuspendió en 100 µL de agua HPLC estéril y se cuantificó por espectrofotometría en un Nanodrop 2000 C (Thermo Scientific, MA, USA) para determinar la calidad del DNA, la cual deberá ser de $A_{260/280} - A_{230/260}$ nm, se sugiere encontrar entre 1.8 y 2.2 de pureza. Finalmente, el DNA se diluyó a 20 ng µL⁻¹ y se almacenó a -20 ± 2 °C para la amplificación de los productos de PCR.

2.4.2. Reacción en cadena de la polimerasa de regiones ITS y gen β-tubulina

Para la identificación molecular de las cepas aisladas del cacahuete; FM, FS, RG y PUE 4.0 se utilizó la amplificación de genes mediante PCR, se utilizaron los iniciadores ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAA GG-3') e ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3') (White *et al.*, 1990). La mezcla de reacción se preparó en un volumen final de 15 µl con: 1 x Taq buffer DNA polimerasa, 0.18 µM dNTPs, 20 ng/µL de DNA, 0.18 µL de cada primer y 0.90 U de enzima *GoTaq* (Promega, Madison, WI, USA) para cada aislamiento. La amplificación de la reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó en un termociclador de DNA Peltier PTC-200 (BioRad, CA, USA) con un control de desnaturalización inicial a 95 °C durante 4 min, 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C durante 1 min, recorrido a 56 °C. Los productos de PCR amplificados se verificaron mediante electroforesis en un gel de agarosa al 1.5 % (Seakem, CA, USA), se limpiaron utilizando ExoSAP-IT (Affymetrix, Santa Clara, CA, USA). En las secuencias de dos hebras se usó el Kit de secuenciación de ciclos BigDye Terminator v3.1 (Applied Biosystems, USA) en un secuenciador analizador genético 3130 (Applied Biosystems, USA) en el Colegio de Postgraduados, Montecillos, Texcoco, Edo. de México (Rivera-Jiménez *et al.*, 2018; Fuentes-Aragón *et al.*, 2018).

Para la amplificación del gen β-Tubulina-2 se utilizaron los primers T1 (T1-F 5' AAC ATG CGT GAG ATT GTA AGT 3') y T2 (T2-R 5' TAG TGA CCC TTG GCC CAGT TG 3') (O'Donnell Cigelnik, 1997) con el siguiente programa de PCR: desnaturalización inicial 94°C por 3 minutos, 10 ciclos a 94°C por 30 segundos de desnaturalización, 46°C por 30 segundos de alineación, 72°C por 1 minuto de extensión; 25 ciclos a 94°C por 30 segundos de desnaturalización, 57°C por 30

segundos de alineación, 72°C por 1 minuto de extensión y una extensión final de 72°C por 10 minutos, utilizando el equipo termociclador MiniAmp Plus (Applied Biosystems™) (Sánchez-López *et al.*, 2020).

2.5. Identificación Morfológica

Las cepas aisladas se crecieron en medio de cultivo agar papa dextrosa (PDA) para evaluar sus características cualitativas de coloración de la colonia en el anverso y reverso, textura, tipo de crecimiento del micelio y abundancia, evaluándose visualmente y se documentaron por fotografías. Posteriormente se realizó la caracterización morfométrica de los aislamientos mediante la elaboración de microcultivos para cada uno de los aislamientos y su observación en un microscopio óptico compuesto (Leica, DM550®). La identificación a género consideró la presencia y dimensiones de fiálides, conidios, forma de las hifas y pigmentación, las cuales se describieron con ayuda de las claves taxonómicas especializadas: Barnett y Hunter (1998); Burgess *et al.* (1994); Leslie y Summerell (2006). Por último, se evaluó la tasa de desarrollo de cada cepa, para ello; en placas con medio PDA se inoculó con un disco de 5 mm de micelio activo en el centro por triplicado. Se incubaron en oscuridad a $28\text{ °C} \pm 1\text{ °C}$ (Duarte-Leal *et al.*, 2016). Las mediciones del crecimiento se realizaron cada 24 h durante 10 días.

2.6. Preparación de inóculos para pruebas de patogenicidad

Los cuatro aislados fueron crecidos en medio PDA durante tres semanas para promover la producción de conidios y estructuras infectivas. Para *Fusarium equieti* y *F. oxysporum* el micelio de cada uno fue cosechado por inundación con agua destilada estéril, frotando la superficie del medio con una espátula estéril y se colocaron en matraces con 250 mL de agua destilada estéril (Rivera-Jiménez *et al.*, 2018). Las concentraciones de conidios se ajustaron con la cámara de Neubauer a una concentración de 1×10^5 conidios mL^{-1} . Para el caso de *Macrophomina phaseolina* y *Diaporthe* sp., se colocaron palillos esterilizados sobre las placas de medio PDA donde se puso a crecer al hongo para ser colonizados, y estos sirvieron como fuente de inóculo.

2.7. Pruebas de patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad se hicieron para las cuatro especies de hongos aisladas; *Fusarium equiseti*, *F. oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* y *Diaporthe* sp. Se usaron vasos de 1 L de volumen que contenían una mezcla de peat most y agrolita (relación 1:1) esterilizado en autoclave por 2 h a 115 lb de presión. Las semillas de cacahuete se desinfectaron sumergiéndolas en una solución de hipoclorito de sodio al 1% durante 3 minutos y con sulfato de cobre al 1% durante 3 minutos, finalmente se enjuagaron con agua destilada estéril y se sembraron dos semillas por cada vaso, se regaron y colocaron en el invernadero hasta su desarrollo. Pasado un mes cada una de las plantas fue inoculada (Punja y Parker, 2000; Benaouali *et al.*, 2014). Cinco grupos de cinco plantas fueron colocadas en un diseño experimental completamente al azar y como control se usó un grupo de cinco plantas inoculadas con agua destilada estéril. Se regaron periódicamente hasta la aparición de síntomas. Para corroborar que el agente causal de la enfermedad fue el hongo inoculado previamente, se hicieron reaislados de los tejidos que mostraron síntomas para su debida identificación.

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Identificación morfológica

Cuatro cepas fitopatógenas del cultivo de cacahuete etiquetadas como PUE 4.0, RG, FM y FS fueron identificadas a género mediante sus características morfométricas y culturales. La cepa RG, pertenece al género *Diaporthe* sp. La colonia presentó un crecimiento lento en medio PDA, micelio aéreo moderado, con textura fibrosa, su coloración fue blanco cuando la colonia era joven y con áreas de color amarillo verdoso claro después de los 7 días. (Figura 3A, B). Microscópicamente se observaron ascosporas con un tamaño promedio $8.9\text{--}11.4 \times 2.1\text{--}3.1 \mu\text{m}$ (Figura 3B, C). La cepa FM fue identificada como *Fusarium oxysporum*, la colonia desarrollada en medio PDA mostró coloración violeta en el centro de la colonia y blanco en el micelio circundante, al reverso se observó la misma coloración (Figura 4A, B), hifas septadas y micelio algodonoso abundante. Los macroconidios de 3-4 septos ligeramente curvados de ambos extremos en forma de medialuna o bananas como lo indicó Link (1809), con un tamaño de $31\text{--}45 \times 4.5\text{--}6 \mu\text{m}$ (Figura 4C). Los microconidios elipsoidales a cilíndricos con un septo y no septados $5\text{--}14.5 \times 3\text{--}4.5 \mu\text{m}$ sostenidos en cabezas falsas y monofiálides cortas (Figura 4D). Para el caso de *F. equiseti* se observó una

colonia con coloración salmón en el centro y al reverso, micelio abundante con crecimiento arrosetado (Figura 5A, B). Hifas hialinas septadas con presencia de macroconidios curvados con 3-4 septos con un tamaño 14.67-24.768 x 2.031- 3.093 μm (Figura 5C). No se observaron microconidios y las clamidosporas se produjeron en las hifas, se encontraron solitarias, pares y en cadena con un tamaño aproximado entre 5. 825-11.743 μm (Figura 5D) (Leslie y Summerell, 2006). Estos datos coinciden con lo descrito por Hami *et al.* (2021) para las especies *F. equiseti* y *F. oxysporum*, las cuales fueron halladas por primera vez causando marchitez en Chile en Cachemira. Finalmente, la cepa PUE 4.0 fue identificada como *Macrophomina phaseolina*, esta presentó un crecimiento rápido, cubriendo la superficie del medio completamente en 3 días a 28 °C. La colonia fue de color gris claro inicialmente en el medio PDA y al envejecer se tornó a gris oscuro (Figura 6A). Se observaron microesclerotias de color negro azabache con un tamaño de 90-110 μm incrustadas dentro de las hifas (Figura 6B), lo cual concuerda con la caracterización de *M. phaseolina* reportada por Pandey *et al.* (2019) y Marquez *et al.* (2021). *M. phaseolina* se ha reportado como agente causal de la podredumbre del carbón, pudrición de raíces, tallos y damping-off de plántulas (Ghosh *et al.*, 2018). Es considerado un fitopatógeno necrotrófico importante para diversos cultivos de interés, afectando al menos 500 especies de plantas en más de 100 familias (Kumar *et al.*, 2017; Marquez *et al.*, 2021).

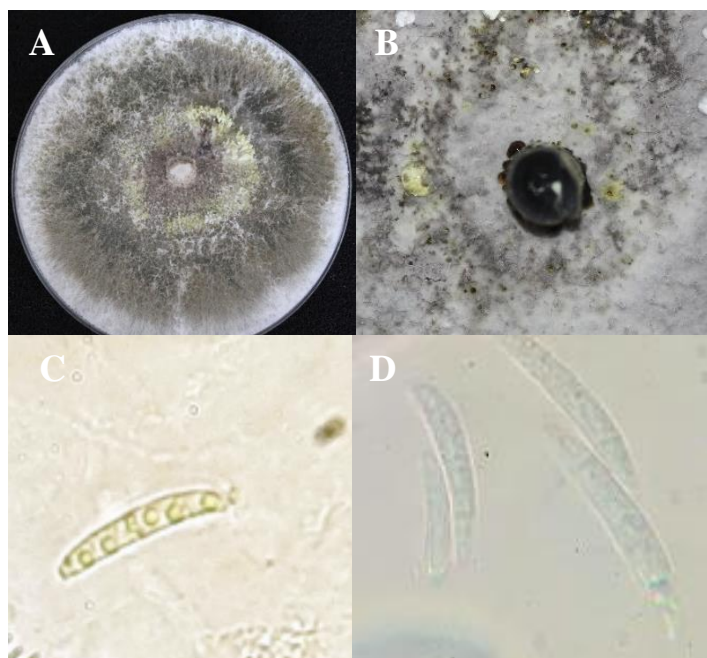


Figura 3. Características morfológicas de *Diaporthe* sp., cepa RG. (A) colonia color verde-grisácea de 15 días, (B) acercamiento de la colonia, (C, D) ascosporas.

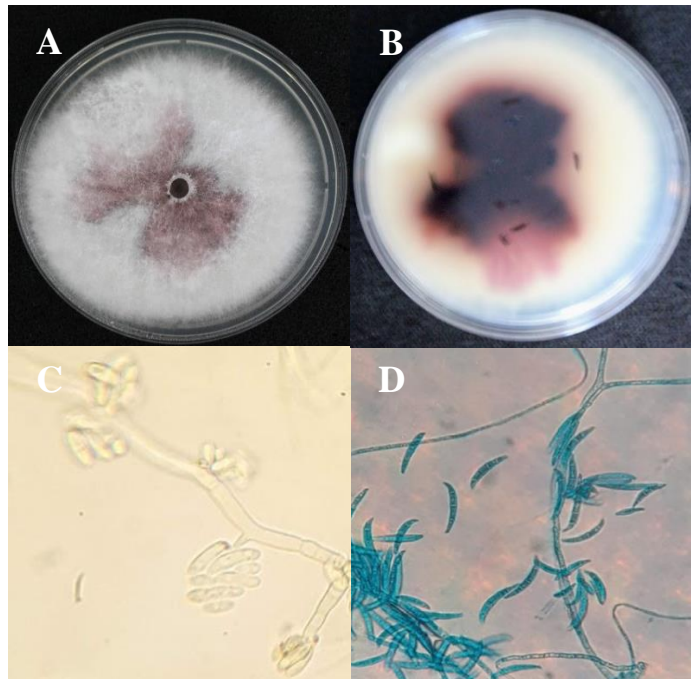


Figura 4. Características morfológicas de *Fusarium oxysporum* cepa FM. (A) colonia con pigmentación violeta en el centro, (B) reverso de la colonia, (C) microconidias en monofiálides cortas, (D) macroconidias.

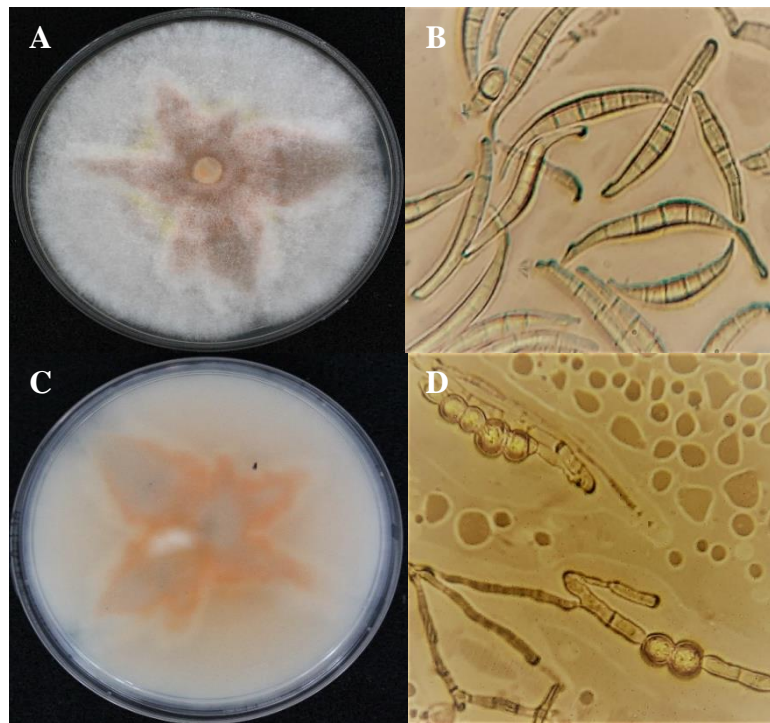


Figura 5. Características morfológicas de *Fusarium equiseti* cepa FS. (A) colonia con crecimiento arrosado y pigmentación salmón en el centro, (B) macroconidios, (C) reverso de la colonia, (D) clamidosporas.

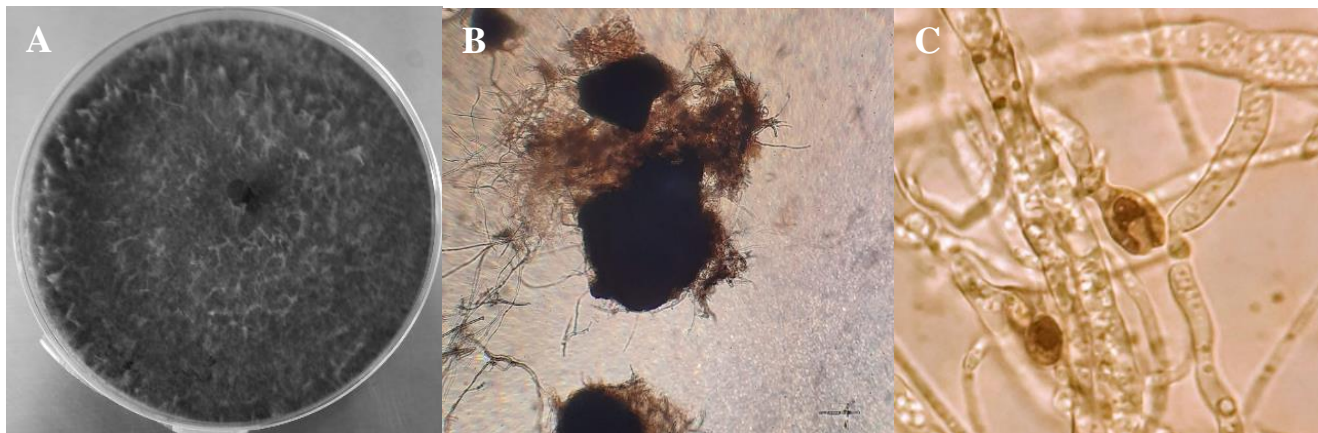


Figura 6. Características morfológicas y microscópicas de *Macrophomina phaseolina* cepa PUE 4.0. (A) colonia oscura creciendo en medio PDA, (B) microesclerotias, (C) apresorios e hifas.

Los resultados de la tasa de desarrollo de cada cepa aislada y caracterizada se muestran en el Cuadro 1, aquí se observa que la tasa de desarrollo más alta fue la del hongo *M. phaseolina* con un valor de 14.9 mm/día, mientras que *F. equiseti*, *F. oxysporum* y *Diaporthe* sp., tuvieron valores menores a 6 mm/día y no mostraron diferencias estadísticas significativas entre sí.

Cuadro 1. Características culturales de los hongos aislados de plantas de cacahuete.

Especie	Cepa	Color	Micelio aéreo	*Tasa de desarrollo (mm día ⁻¹)
<i>Diaporthe</i> sp.	RG	Blanco- café	Normal	5.487 ± 0.09245 b
<i>Fusarium oxysporum</i>	FM	Blanco-violeta	Abundante	5.435 ± 0.02564 b
<i>Fusarium equiseti</i>	FS	Blanco-naranja	Abundante	5.641 ± 0.06783 b
<i>Macrophomina phaseolina</i>	PUE 4.0	Gris-negro	Abundante	14.904 ± 0.04783 a

*Valores con la misma letra no son significativamente diferentes (Tukey HDS, p<0.05).

Con la amplificación de la región ITS ribosomal se corroboraron las identidades de los hongos antes descritos. Se obtuvo un producto de 602 pb con 100% de máxima identidad con *M. phaseolina*, la secuencia de la cepa se encuentra depositada en el GenBank (accesión MW585378), según lo mencionado por Zhang et al. (2011) las regiones ITS son de utilidad para identificar a *M. phaseolina*. De la misma forma para la cepa RG un producto de 596 pb con 98.99% de máxima

identidad con *Diaporthe* sp., en este caso no se encontró similitud con alguna especie por lo que se supone que se trata de una nueva especie. Para *Fusarium equiseti* se obtuvo un producto de 533 pb con 100% de máxima identidad. Adicionalmente se realizó la amplificación del gen beta-tubulina (TUB2) para *F. equiseti* se obtuvo un fragmento de 549 pb y para *F. oxysporum* 538 pb presentando una identidad del 97.58% basados en la similitud de secuencia, verificado mediante la herramienta BLASTn del GenBank. Las secuencias de las cepas mencionadas se incluyeron en la base de datos del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI por sus siglas en inglés).

3.2. Pruebas de patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad de las cuatro cepas ensayadas mostraron que la cepa PUE 4.0 identificada como *M. phaseolina*, fue la que mostró mayor severidad en cuanto a los síntomas; se observó necrosis en el cuello de la raíz externa e internamente (Figura 7A, B), lo que provocó marchitez general de las plantas, empezando por las hojas más cercanas al suelo. Estos síntomas coinciden con los mencionados por Pal *et al.* (2014). Posterior se realizó la siembra de trozos del cuello de la raíz para verificar que se encontrara la cepa inoculada como agente causal, la cual muestra características morfológicas parecidas (Figura 7C).



Figura 7. Necrosis en cuello de raíz de cacahuete causada por *M. phaseolina*, (A) daño externo, (B) daño interno, (C) aislamiento del cuello del tallo de una planta enferma.

Las plantas inoculadas con *F. oxysporum* presentaron síntomas de marchitez gradual (Figura 8A), donde las hojas se mostraron tostadas de la mitad hacia el ápice (Figura 8B), algunas hojas mostraron clorosis hasta desprenderse del tallo (Subrahmanyam *et al.*, 2012). Sin embargo, la infección no fue tan invasiva, de modo que las plantas no murieron; esto quizá se deba a que las

plantas usadas son menos susceptibles a esta cepa de *F. oxysporum*. Este patógeno ha sido reportado causando graves daños en raíces y frutos de cacahuete en China, esto debido a la gran extensión de tierra cultivada con este fruto, significando pérdidas económicas para sus productores (Li *et al.*, 2013).

Al igual que el tratamiento anterior se sembraron partes de raíces con coloración café con síntomas de necrosis para aislar el agente causal y verificar si coincide con la cepa inoculada. Las características de las colonias crecidas muestran coincidencia en el color, sin embargo se logran observar más de una en el medio (Figura 8C).



Figura 8. (A) Síntomas de marchitez en planta de cacahuete inoculada con *F. oxysporum* (B) las hojas se muestran necrosadas de los márgenes hacia el centro de la hoja, (C) colonias aisladas de raíces con necrosis y pudrición.

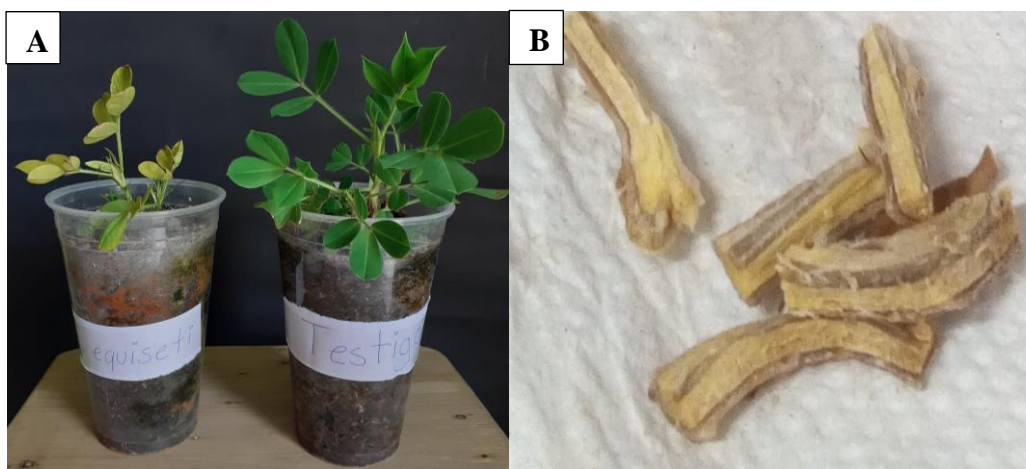


Figura 9. (A) Síntomas de amarillamiento de la plántula inoculada con *F. equiseti* (izquierda) y planta control completamente sana y con un mayor tamaño (derecha), (B) corte transversal de tallos con síntoma de decoloración del sistema vascular.



Figura 10. Síntomas presentados en plántulas de cacahuete inoculadas con *Diaporthe* sp., cepa RG, (A) plántulas con daños necrosis en raíz principal y ahorcamiento, así como pudrición de los cotiledones, (B) raíces de planta no inoculada, no muestra síntomas de enfermedad.

Las plantas inoculadas con la especie *F. equiseti* mostraron amarillamiento y atrofia en su crecimiento, mientras las plantas control permanecieron sanas y con crecimiento normal (Figura 9A), así mismo en la Figura 9B se observa decoloración del sistema vascular. El hongo *F. equiseti* ha sido encontrado causando tizón foliar y marchitez en complejo con *F. incarnatum* en el cultivo de cacahuete en India, así mismo se ha reportado en otros cultivos; en coliflor ha sido encontrada causando marchitez en China (Pan-Liang *et al.*, 2017) y en lenteja en Pakistan (Rafique *et al.*, 2020), damping-off en pino carrasco en Argelia (Lazreg *et al.*, 2014), pudrición de la raíz en caupí Georgia en los Estados Unidos (Li *et al.*, 2017). Por otro lado, El hongo *Phomopsis longicolla* ha sido reportado por Sanogo y Etarock (2009) como agente causal del tizón del tallo en cacahuete en campos de Nuevo México. Estos síntomas se asemejan a los observados en plantas de cacahuete estudiadas en esta investigación (Figura 10), siendo en este caso *Diaporthe* sp. cepa RG el agente causal. Sin embargo, en México no se tiene reporte hasta el momento.

IV. CONCLUSIONES

Se identificó mediante biología molecular y caracterización morfológica a *Fusarium equiseti*, *F.oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* y *Diaphorte* sp., este último hongo no ha coincidido completamente con alguna especie, por lo que se sugiere es una nueva especie.

Las pruebas de patogenicidad realizadas dieron positivo para cada uno de fitopatógenos. Así mismo las especies *Diaphorte* sp. y *F. equiseti* no han sido reportadas en el cultivo de cacahuete en México, esto como se mencionó al inicio probablemente se deba a la importancia económica del cultivo; sin embargo, es un riesgo fitosanitario para el cultivo de cacahuete.

Se logró caracterizar a hongos fitopatógenos del cultivo de cacahuete en parcelas de la comunidad de Buenavista de Benito Juárez, Chietla, lo cual contribuirá al desarrollo de estrategias adecuadas para su manejo agroecológico.

V. REFERENCIAS

1. Benaouali, H., Hamini-Kadar, N., Bouras, A., Benichou, S. L., Kihal, M. & Henni, J. E. 2014. Isolation, pathogenicity test and physicochemical studies of *Fusarium oxysporum* f.sp radialis lycopersici. Adv. Environ. Biol., 8(10): 36-49.
2. Burgess, L. W., Summerell, A. B., Bullock, S., Gott, K. P. & Backhouse, D. 1994. Laboratory Manual for *Fusarium* Research. 3rd ed. Sydney University. Sydney, Australia. 133 p.
3. Eslami, A. A., Khodaparast, S. A., Mousanejad, S. & Padasht-Dehkaei, F. 2015. Evaluation of the virulence of *Sclerotium rolfsii* isolates on *Arachis hypogaea* and screening for resistant genotypes in greenhouse conditions. Hellenic Plant Protec. J. 8(1): 1–11. doi:10.1515/hppj-2015-0001
4. Farr, D.F. & Rossman, A.Y. Fungal Databases, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved May 19, 2021, from <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>

5. Fuentes-Aragón, D., Silva-Rojas, H. V., Guarnaccia, V., Mora-Aguilera, J. A., Aranda-Ocampo, S., Bautista-Martínez, N. & Téliz-Ortíz, D. 2020. *Colletotrichum* species causing anthracnose on avocado fruit in Mexico: current status. *Plant Pathol.* doi:10.1111/ppa.13234
6. Ghosh, T., Biswas, M.K., Guin, C. & Roy, P. 2018. A review on characterization, therapeutic approaches and pathogenesis of *Macrophomina phaseolina*. *Plant Cell Biotechnol. Mol. Biol.* 19: 72–84.
7. Hami, A., Rasool, R.S. & Khan, N.A. 2021. Morpho-molecular identification and first report of *Fusarium equiseti* in causing chilli wilt from Kashmir (Northern Himalayas). *Sci. Rep.* 11: 3610, <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82854-5>
8. Hernández-Melchor, D. J., Ferrera-Cerrato, R. & Alarcón, A. 2019. *Trichoderma*: Importancia agrícola, biotecnológica, y sistemas de fermentación para producir biomasa y enzimas de interés industrial. *Chil. J. Agric. Anim. Sci.* 35(1): 98-112. <https://dx.doi.org/10.4067/S0719-38902019005000205>
9. Instituto Nacional de Estadística y Geografía, disponible online <https://www.inegi.org.mx/>, consultado enero 2021.
10. Lazreg, F., Belabid, L., Sanchez, J., Gallego, E., Garrido-Cardenas, J.A. & Elhaitoum, A. 2014. First report of *Fusarium equiseti* causing damping-off disease on Aleppo pine in Algeria. *Plant Dis.* 98(9): 1268.
11. Li, X. G., Zhang, T. L., Wang, X. X., Hua, K., Zhao, L. & Han, Z. M. 2013. The composition of root exudates from two different resistant peanut cultivars and their effects on the growth of soil-borne pathogen. *Int. J. Biol. Sci.* 9(2): 164–173. <https://doi.org/10.7150/ijbs.5579>
12. Li, Y.G., Zhang, S.Q., Sun, L.P., Li, S. & Ji, P. 2017. First report of root rot of cowpea caused by *Fusarium equiseti* in Georgia in the United States. *Plant Dis.* 101(9): 1674.
13. Marquez, N., Giachero, M. L., Declerck, S. & Ducasse, D. A. 2021. *Macrophomina phaseolina*: General Characteristics of Pathogenicity and Methods of Control. *Front. Plant Sci.* 12: 634397, doi: 10.3389/fpls.2021.634397

14. Pan-Liang, L., Yan-Xia, S., Meng-Yan, G., Xue-Wen, X., A-Li, C. & Bao-Ju, L. 2017. *Fusarium* wilt of cauliflower caused by *Fusarium equiseti* in China. *Can. J. Plant Pathol.* 39(1): 77-82, doi: 10.1080/07060661.2017.1301998
15. Punja, Z.K. & Parker, M. 2000. Development of *Fusarium* root and stem rot, a new disease on greenhouse cucumber in British Columbia, caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-cucumerinum*. *Can. J. Plant. Pathol.* 22: 349–363.
16. Rafique, K., Rauf, C.A. & Kang, S. 2020. First report of *Fusarium equiseti* causing wilt on lentils (*Lens culinaris* Medik.) in Pakistan. *J. Plant Pathol.* 102(2): 571.
17. Rojo, F.G., Reynoso, M.M., Ferez, M., Chulze, S.N. & Torres, A.M. 2007. Biological control by *Trichoderma* species of *Fusarium solani* causing peanut brown root rot under field conditions. *Crop Protec.* 26(4): 549–555, doi:10.1016/j.cropro.2006.05.006
18. Sánchez-López, D.B., Luna-Castellanos, L.L., Díaz-Cabadiaz, A.T., Pérez-Pazos, J.V. & Cadena-Torres, J. 2020. Identificación de hongos asociados a la pudrición seca del ñame bajo condiciones de almacenamiento. *Rev. investig. Altoandin.* 22(3): 199-214. <https://dx.doi.org/10.18271/ria.2020.655>
19. Sanogo, S. & Etarock, B. F. 2009. First Report of *Phomopsis longicolla* Causing Stem Blight of Valencia Peanut in New Mexico. *Plant Dis.* 93(9): 965, doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-9-0965A>
20. Savary, S., Ficke, A., Aubertot, J.-N. & Hollier, C. 2012. Crop losses due to diseases and their implications for global food production losses and food security. *Food Secur.* 4(4): 519–537, doi:10.1007/s12571-012-0200-5
21. Thambugala, K.M., Daranagama, D.A., Phillips, A.J.L., Kannangara, S.D. & Promptuttha, I. 2020. Fungi vs Fungi in Biocontrol: An Overview of Fungal Antagonists Applied Against Fungal Plant Pathogens. *Microbiol.* 10: 604923, doi: 10.3389 / fcimb.2020.604923

CAPÍTULO II. EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTAGÓNICA DE LAS ESPECIES DE *Trichoderma*

I. INTRODUCCIÓN

Las especies del género *Trichoderma* son de los hongos más frecuentemente encontrados en el suelo y las raíces de las plantas (Harman, 2006). Siendo de gran interés sus características biológicas como; promoción de crecimiento y desarrollo de plantas (Samuels, 2006), inducción de resistencia sistémica (Thambugala *et al.*, 2020) y antagonistas de hongos fitopatógenos de importancia agrícola y hortícola (Jyoti and Singh, 2016). Diversas especies del género han sido efectivas para el control de una gran diversidad de hongos fitopatógenos; Illa *et al.* (2020) evaluaron el biocontrol y promoción del crecimiento de *T. harzianum* frente a patógenos del cacahuete entre ellos *Sclerotinia minor* y *Fusarium* sp., así mismo ha sido efectivo en el control de la podredumbre de corona y de vainas causadas principalmente por *Aspergillus niger* y *F. solani* (Rojo *et al.*, 2006) por su parte Rajeswari (2014) evaluó a la especie *T. viridie* en el manejo de la marchitez del cacahuete causado por *F. oxysporum* en India, así como estos estudios hay otros, los que muestran la capacidad de *Trichoderma* para desarrollarse en distintas áreas geográficas y el amplio rango de fitopatógenos que puede controlar. Los hongos patógenos del cacahuete transmitidos por semilla y suelo más comunes son *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Fusarium* sp, *Macrophomina phaseolina*, *Aspergillus niger*, *A. flavus*, *Sclerotium rolfsii*, *S. sclerotiorum*, *Sclerotinia minor*, *Rhizopus stolonifer*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium myriotylum* y *Diplodia gossypina* (Subrahmanyam *et al.*, 1990; Anjaiah *et al.*, 2006; Rojo *et al.*, 2007; Kumar *et al.*, 2017). El presente trabajo tiene como objetivo evaluar la capacidad antagonica de cinco cepas de *Trichoderma* frente a *Fusarium equiseti*, *F. oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* hongos fitopatógenos del cacahuete aislados en plantas colectadas en Buenavista de Benito Juárez, Chietla, Puebla; en condiciones *in vitro* y de campo.

II. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Evaluación de la capacidad antagonica de *Trichoderma* spp. *in vitro*

Las cepas de hongos aislados de las plantas de cacahuete colectadas en la comunidad Buenavista de Benito Juárez, fueron evaluados frente a cinco cepas antagonistas de *Trichoderma* (Cuadro 1). Para ello se utilizó la técnica de Dennis y Webster (1971). Para cada tratamiento se usaron cajas Petri de 90 x 15 mm con medio PDA (Bioxon®) en las que se colocó en un extremo de la caja un disco de 5 mm de diámetro con micelio activo de cada uno de los hongos fitopatógenos aislados; y en el otro extremo de la caja discos de 5 mm de cada una de las cinco cepas de *Trichoderma*. Para el grupo testigo se colocaron únicamente los discos con hongos fitopatógenos. Finalmente fueron incubados a 28°C, 12 h luz/oscuridad y 40% de humedad relativa. Cada tratamiento se llevó a cabo por triplicado en un diseño experimental completamente al azar.

El crecimiento se tomó a partir del diámetro promedio de la colonia sobre la base del crecimiento horizontal en dos diagonales perpendiculares (expresado en milímetros por día), con una regla graduada (Gaddeyya *et al.*, 2012).

Cuadro 1. Cepas de *Trichoderma* para la evaluación del antagonismo.

<i>Trichoderma</i> spp.	Número de accesión
<i>T. koningiopsis</i> T-K11	MK791648
<i>T. asperellum</i> T-AS1	MK778890
<i>T. hamatum</i> T-A12	MK791650
<i>T. harzianum</i> T-H3	MK780094
<i>T. harzianum</i> . Th-Ah	MW227646

Para la evaluación del porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR), se tomaron medidas del diámetro de las colonias cada 24 horas durante los 10 días de incubación, utilizando la fórmula descrita por Elías y Arcos (1984):

$$PICR = \frac{R_1 - R_2}{R_1} \times 100,$$

Dónde: R1: Diámetro del testigo, R2: Diámetro del organismo ensayado.

Asimismo, se clasificó el tipo de antagonismo según Bell *et al.* (1982) (Cuadro 2).

Cuadro 2. Escala de evaluación para el antagonismo de *Trichoderma* spp. frente a patógenos de cacahuete (Bell *et al.* 1982).

Clase	Característica
Clase I	Sobrecrecimiento de <i>Trichoderma</i> spp., que colonizó toda la superficie del medio y redujo la colonia del patógeno
Clase II	Sobrecrecimiento de <i>Trichoderma</i> spp., que colonizó al menos 2/3 de la superficie del medio
Clase III	<i>Trichoderma</i> spp., y patógeno colonizaron la mitad del medio (más que 1/3 y menor que 2/3). Uno no se sobrepuso al otro
Clase IV	Hongo patógeno colonizó al menos 2/3 de la superficie del medio y resistió la invasión por <i>Trichoderma</i> spp.
Clase V	Sobrecrecimiento del hongo patógeno que colonizó toda la superficie del medio

2.2. Análisis de datos

Los resultados de porcentaje de inhibición del crecimiento radial se sometieron a análisis de varianza (ANDEVA) y para identificar las diferencias estadísticas significativas se usó una prueba de Tukey ($p < 0.05$), mediante el paquete estadístico SPSS Statistics versión 25.

2.3. Control biológico *Trichoderma* spp. frente a hongos fitopatógenos en campo

La evaluación del control biológico de las especies de *Trichoderma* en campo se realizó en el periodo verano-otoño 2020, en el mes de julio. La parcela de estudio se ubicó en las coordenadas 18°27'9.428" latitud norte y 98°37'33.765" longitud oeste. Pertenece a la comunidad Buenavista de Benito Juárez y son tierras de cultivo de temporal. Las dimensiones de la parcela donde se llevó a cabo el estudio fueron 70 m de ancho x 200 m de longitud.

Los tratamientos evaluados fueron 34 (Cuadro 3). La inoculación de las plantas con cada uno de los tratamientos se realizó 30 días después de la emergencia de las plántulas de cacahuete. Como

control químico se usó el fungicida comercial marca cercobin® con Tiofanato metílico como principio activo.

Se utilizó un diseño experimental de bloques al azar con 8 repeticiones para cada tratamiento. Esto debido a las diferencias edafológicas del suelo, la permeabilidad del agua a través de la parcela, así como de árboles circundantes y la pendiente. Cada tratamiento constó de 15 plantas inoculadas. Las variables evaluadas fueron: peso fresco de plantas, peso fresco de vainas y peso seco de vainas, datos recabados durante el mes de octubre (de la cosecha manual) en los 34 tratamientos (Cuadro 3).

Tamaño de la unidad experimental: 200 m de longitud x 70 m de ancho.

Distancia entre plantas: dos plantas por golpe distanciadas a 35 cm.

Densidad de plantas: 41, 500 plantas distribuidas en 26 surcos.

Cuadro 3. Tratamientos para evaluar el control biológico de *Trichoderma* spp. frente a hongos patógenos de cacahuete.

No.	Tratamientos	No.	Tratamientos
T1	<i>F. oxysporum</i> vs <i>T. harzianum</i> (T-H3)	T18	<i>F. equiseti</i> vs <i>T. asperellum</i> (T-AS1)
T2	<i>F. oxysporum</i> vs <i>T. asperellum</i> (T-AS1)	T19	<i>F. equiseti</i> vs <i>T. hamatum</i> (T-A12)
T3	<i>F. oxysporum</i> vs <i>T. hamatum</i> (T-A12)	T20	<i>F. equiseti</i> vs <i>T. koningiopsis</i> (T-K11)
T4	<i>F. oxysporum</i> vs <i>T. koningiopsis</i> (T-K11)	T21	<i>F. equiseti</i> vs <i>T. harzianum</i> (Th-Ah)
T5	<i>F. oxysporum</i> vs <i>T. harzianum</i> (Th-Ah)	T22	<i>F. equiseti</i> vs Cercobin ®
T6	<i>F. oxysporum</i> vs Cercobin ®	T23	<i>F. equiseti</i>
T7	<i>F. oxysporum</i>	T24	Testigo
T8	Testigo	T25	<i>Diaporthe</i> sp. vs <i>T. harzianum</i> (T-H3)
T9	<i>M. phaseolina</i> vs <i>T. harzianum</i> (T-H3)	T26	<i>Diaporthe</i> sp. vs <i>T. asperellum</i> (T-AS1)
T10	<i>M. phaseolina</i> vs <i>T. asperellum</i> (T-AS1)	T27	<i>Diaporthe</i> sp. vs <i>T. hamatum</i> (T-A12)
T11	<i>M. phaseolina</i> vs <i>T. hamatum</i> (T-A12)	T28	<i>Diaporthe</i> sp. vs <i>T. koningiopsis</i> (T-K11)
T12	<i>M. phaseolina</i> vs <i>T. koningiopsis</i> (T-K11)	T29	<i>Diaporthe</i> sp. vs <i>T. harzianum</i> (Th-Ah)
T13	<i>M. phaseolina</i> vs <i>T. harzianum</i> (Th-Ah)	T30	<i>Diaporthe</i> sp. vs Cercobin ®
T14	<i>M. phaseolina</i> vs Cercobin ®	T31	<i>Diaporthe</i> sp.
T15	<i>M. phaseolina</i>	T32	Testigo
T16	Testigo	T33	Patógenos vs <i>Trichoderma</i> spp.
T17	<i>F. equiseti</i> vs <i>T. harzianum</i> (T-H3)	T34	Patógenos vs cercobin ®

III. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Evaluación de la capacidad antagonica de *Trichoderma* spp. *in vitro*

El porcentaje de inhibición del crecimiento radial más alto obtenido para el hongo fitopatógeno *M. phaseolina* fue de 71.55% cuando se confrontó con *T. hamatum* durante 10 días de evaluación (Figura 1). Por otro lado, el porcentaje más bajo obtenido fue frente a *T. harzianum* 51.55%, sin embargo, se puede observar en la escala de Bell que pasados los 10 días de confrontación las cinco especies esporularon sobre *M. phaseolina*, obteniendo al menos clase 3, lo que indica que hay una inhibición adecuada de este hongo (Figura 2). Estos datos obtenidos para *T. koningiopsis* son similares a los obtenidos por Khaledi y Taheri (2017) para la especie *T. harzianum* con 58.7% de inhibición, mientras que la especie *T. viride* fue la menos efectiva en el control *in vitro* de *M. phaseolina* con un 20.2%. Este efecto antagonico de *T. harzianum* pudo deberse a la producción de antibióticos por parte del antagonista, competición por nutrientes y espacio y/o enzimas degradadoras de la pared celular del fitopatógeno (Kumar, 2013).

El antagonismo ejercido sobre *M. phaseolina* fue menor al 65% a diferencia del obtenido para *F. oxysporum* y *F. equiseti* que sobrepasaron el 70%. Siendo la cepa T-A12 la que mayor PICR obtuvo frente a *F. oxysporum* (94%), seguido de la cepa T-H3 frente a *F. equiseti* (92%) no presentaron diferencias estadísticas significativas (Cuadro 4). En la confrontación presentada en la Figura 4 se observa como las especies de *Trichoderma* inhiben el desarrollo del micelio de *F. equiseti* en el medio de cultivo, sin embargo, la especie *T. koningiopsis* crece y forma conidias sobre el fitopatógeno y lo micoparásita, por su parte *T. hamatum* solo restringe su crecimiento (Figura 4E). Resultados similares fueron obtenidos por Martínez-Salgado *et al.* (2019) al confrontar a *Fusarium* sp., aislado del cultivo de cebolla con la especie antagonica *T. harzianum* (T-H4), donde obtuvieron un PICR de 76.24% y una clase II en la escala de Bell.

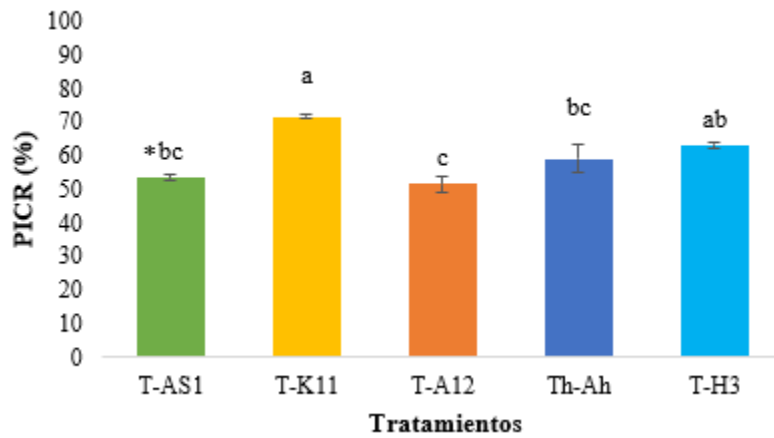


Figura 1. Porcentaje de inhibición de las cinco especies de *Trichoderma* frente a *Macrophomina phaseolina*. *Barras con la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey HDS, $p < 0.05$).

T-AS1: *T. asperellum*, T-K11: *T. koningopsis*, T-A12: *T. hamatum*, Th-Ah: *T. harzianum*, T-H3: *T. harzianum*.

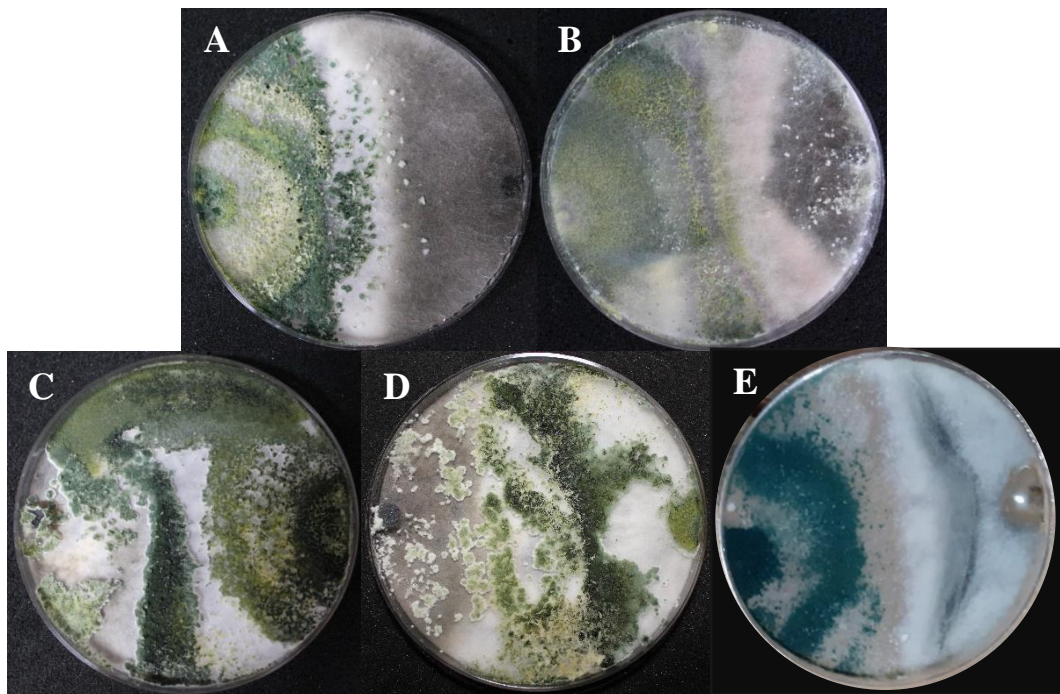


Figura 2. Confrontación dual del fitopatógeno *M. phaseolina* aislado de cacahuete. (A) frente a la especie *T. asperellum* (T-AS1), (B) *T. harzianum* (Th-Ah), (C) *T. koningiopsis* (T-K11), (D) *T. hamatum* (T-A12), (E) *T. harzianum* (T-H3) durante 10 días a 28°C.

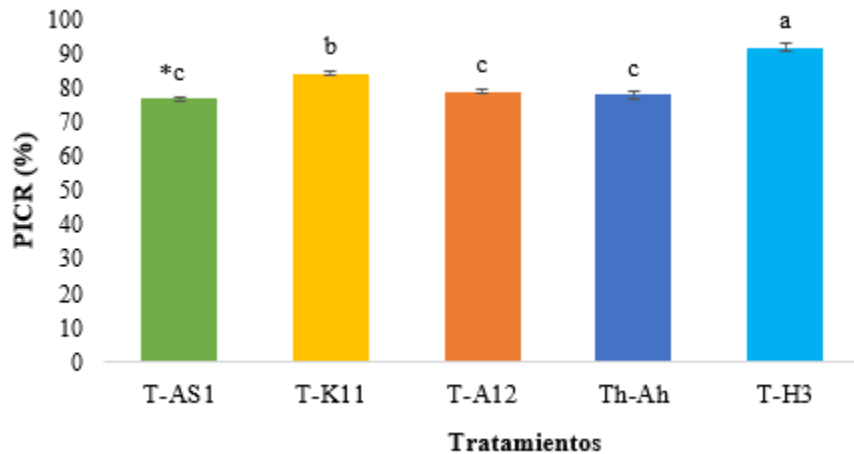


Figura 3. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial (PICR) de las cinco especies de *Trichoderma* frente a *Fusarium equiseti*. *Barras con la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey HDS, $p < 0.05$).

T-AS1: *T. asperellum*, T-K11: *T. koningiopsis*, T-A12: *T. hamatum*, Th-Ah: *T. harzianum*, T-H3: *T. harzianum*.

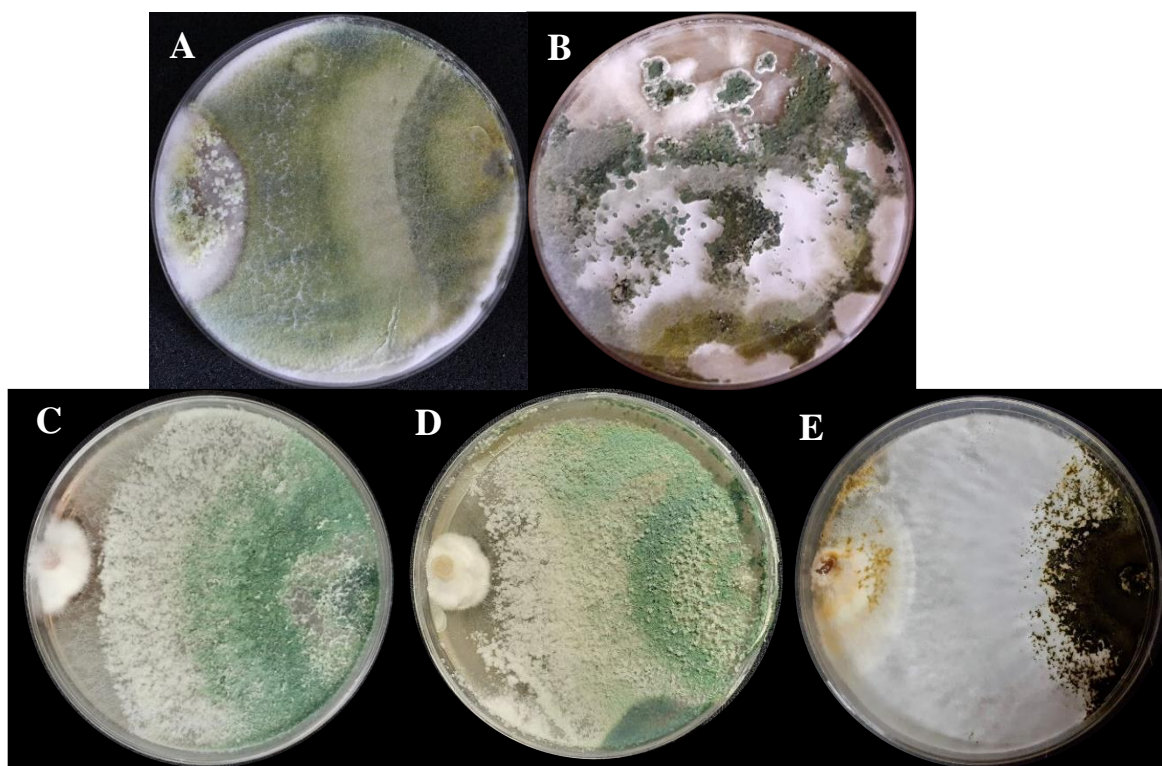


Figura 4. Ensayo dual del fitopatógeno *F. equiseti* aislado de cacahuete. (A) frente a *T. harzianum* (Th-Ah), (B) *T. koningiopsis*, (C) *T. harzianum* (T-H3), (D) *T. asperellum* (E) *T. hamatum* después de 10 días.

Por otro lado, la especie *F. oxysporum* fue exitosamente inhibida por las cuatro especies de *Trichoderma* (Figura 6), sin embargo la más eficiente fue *T. hamatum* (T-A12), mostrando una colonización completa después de 10 días de confrontación (Figura 6D), clasificándose en clase I de la escala de Bell. Se encontró diferencia estadística significativa para el PICR de las cinco especies de *Trichoderma*, siendo *T. hamatum* (T-A12) con 94.22% la más efectiva, mientras que *T. asperellum* (T-AS1), *T. koningiopsis* (T-K11) y *T. harzianum* (Th-Ah) no mostraron diferencias estadísticas significativas entre sí, con valores de PICR de 86-89% (Figura 5). Diversas investigaciones han evaluado la capacidad de inhibición de diferentes especies del género *Trichoderma*, sin embargo las más reportadas son *T. harzianum*, *T. asperellum*, *T. viride*, *T. koningiosis*; Chen *et al.* (2021) reportaron un porcentaje de inhibición de 47.91% para *F. oxysporum* patógeno de *Radix pseudostellariae* por la especie *T. harzianum* este valor se encuentra por debajo del obtenido en este estudio, sin embargo reportan que esta es capaz de inducir la expresión de genes de defensa, lo cual hace que la resistencia de la planta aumente cuando estas especies se encuentran en la rizosfera. En la Figura 8, se observa el confrontamiento de las cinco especies de *Trichoderma* frente al hongo *Diaporthe* sp., donde *T. asperellum* (T-AS1) fue el antagonista más eficiente con un PICR de 88.87 %, y *T. harzianum* (Th-Ah) el menos eficiente con 75.67%, estos resultados presentaron diferencias estadísticas significativas entre sí (Figura 7).

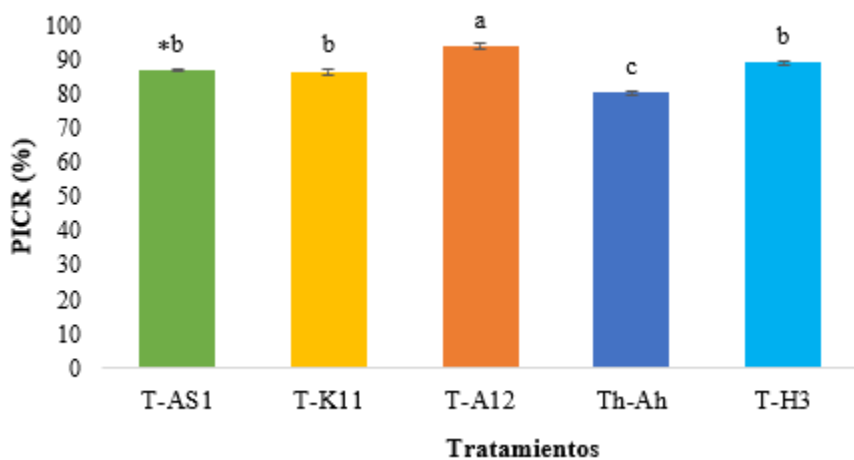


Figura 5. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de las cinco especies de *Trichoderma* frente al hongo fitopatógeno *Fusarium oxysporum*. *Barras con la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey HDS, $p < 0.05$).

T-AS1: *T. asperellum*, T-K11: *T. koningiopsis*, T-A12: *T. hamatum*, Th-Ah: *T. harzianum*, T-H3: *T. harzianum*.

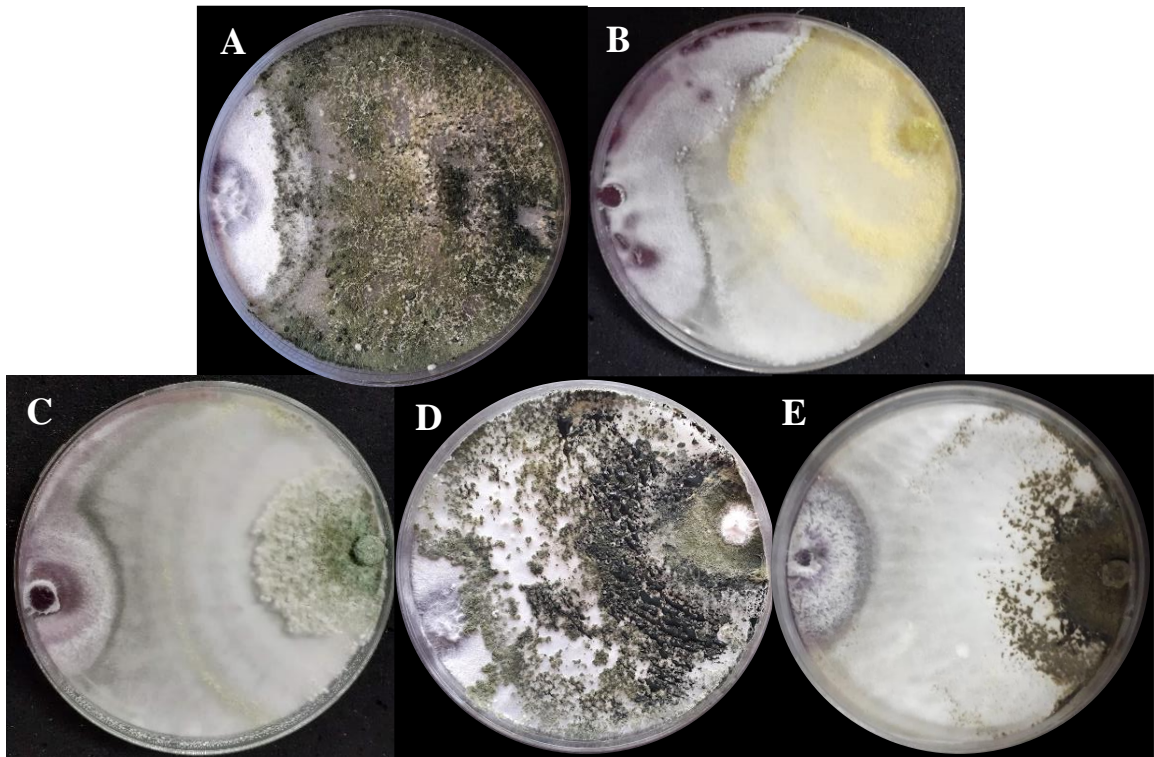


Figura 6. Ensayos duales del fitopatógeno *F. oxysporum* aislado de cacahuete. (A) Frente a *T. asperellum*. (B) *T. harzianum* (Th-Ah), (C) *T. koningiopsis*, (D) *T. hamatum* y (E) *T. harzianum* (Th-Ah).

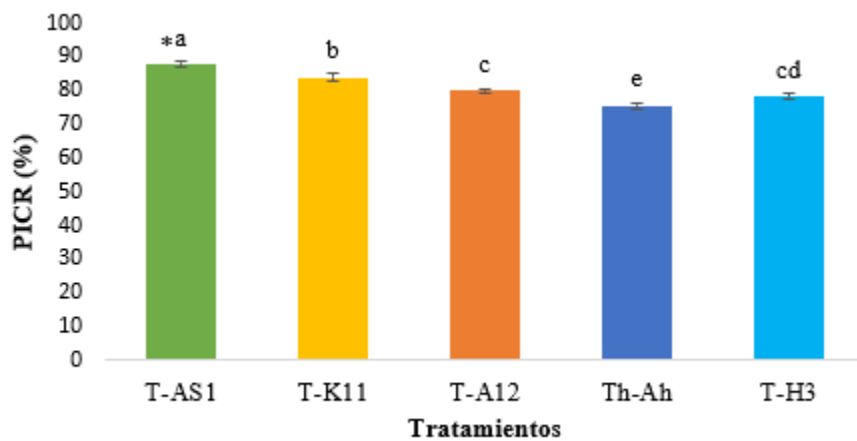


Figura 7. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial de las cinco especies de *Trichoderma* spp., frente al fitopatógeno *Diaporthe* sp. *Barras con la misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey HDS, $p < 0.05$).

T-AS1: *T. asperellum*, T-K11: *T. koningiopsis*, T-A12: *T. hamatum*, Th-Ah: *T. harzianum*, T-H3: *T. harzianum*

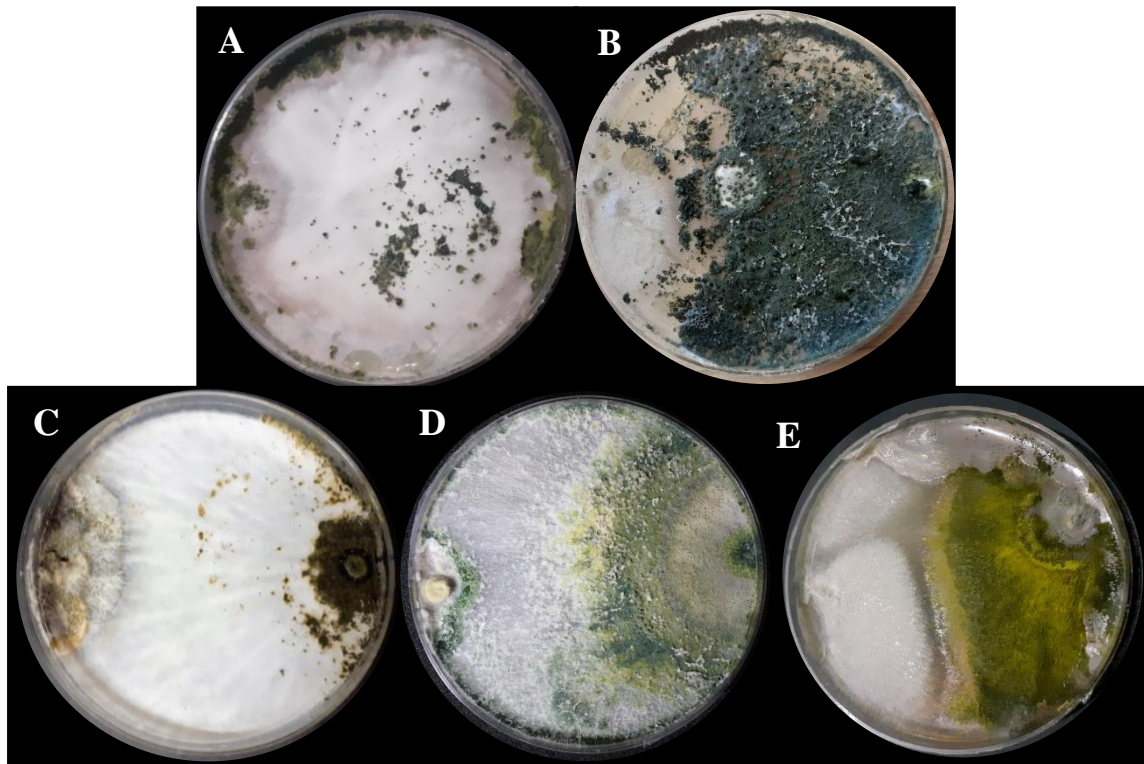


Figura 8. Ensayos duales del fitopatógeno *Diaporthe* sp., aislado de cacahuete frente (A) *T. koningiopsis*, (B) *T. harzianum* (T-H3), (C) *T. hamatum*, (D) *T. asperellum*, (E) *T. harzianum* (Th-Ah).

Cuadro 4. Porcentaje de inhibición del crecimiento radial y escala de Bell de *Trichoderma* spp., frente a fitopatógenos de cacahuete.

Tratamientos	*Media PICR (%)	Escala de Bell
<i>M. phaseolina</i> vs <i>T. asperellum</i> (T-AS1)	53.33 ± 0.77076 ij	3
<i>M. phaseolina</i> vs <i>T. koningiopsis</i> (T-K11)	71.55 ± 0.88889 g	2
<i>M. phaseolina</i> vs <i>T. harzianum</i> (Th-Ah)	59.11 ± 4.23909 hi	2
<i>M. phaseolina</i> vs <i>T. hamatum</i> (T-A12)	51.55 ± 2.47376 j	3
<i>M. phaseolina</i> vs <i>T. harzianum</i> (T-H3)	63.11 ± 0.44444 h	2
<i>F. equiseti</i> vs <i>T. asperellum</i> (T-AS1)	76.88 ± 0.44444 fg	2
<i>F. equiseti</i> vs <i>T. koningiopsis</i> (T-K11)	84.44 ± 0.44444 bcde	1
<i>F. equiseti</i> vs <i>T. harzianum</i> (Th-Ah)	78.22 ± 1.17589 efg	1
<i>F. equiseti</i> vs <i>T. hamatum</i> (T-A12)	74.11 ± 0.44444 fg	2
<i>F. equiseti</i> vs <i>T. harzianum</i> (T-H3)	92.00 ± 0.76980 ab	1
<i>F. oxysporum</i> vs <i>T. asperellum</i> (T-AS1)	87.11 ± 0.44444 abcd	1

<i>F. oxysporum</i> vs <i>T. koningiopsis</i> (T-K11)	86.66 ± 0.76980 bcd	1
<i>F. oxysporum</i> vs <i>T. hamatum</i> (T-A12)	94.22 ± 0.88889 a	1
<i>F. oxysporum</i> vs <i>T. harzianum</i> (Th-Ah)	80.44 ± 0.44444 def	1
<i>F. oxysporum</i> vs <i>T. harzianum</i> (T-H3)	89.25 ± 0.43645 abc	1
<i>Diaporthe</i> sp. vs <i>T. asperellum</i> (T-AS1)	88.87 ± 0.76980 abc	1
<i>Diaporthe</i> sp. vs <i>T. koningiopsis</i> (T-K11)	84.26 ± 1.33333 cde	1
<i>Diaporthe</i> sp. vs <i>T. hamatum</i> (T-A12)	80.20 ± 0.76980 def	2
<i>Diaporthe</i> sp. vs <i>T. harzianum</i> (Th-Ah)	75.67 ± 0.89074 fg	3
<i>Diaporthe</i> sp. vs <i>T. harzianum</i> (T-H3)	78.22 ± 0.94444 efg	2

*Valores con misma letra no presentan diferencias estadísticas significativas (Tukey HDS, $p < 0.05$).

Los datos obtenidos de los ensayos duales muestran la capacidad que tienen las cinco especies de *Trichoderma* frente a distintos fitopatógenos que afectan raíces y semillas del cultivo de cacahuete. De forma general, considerando todos los tratamientos de confrontación se obtuvo que *T. hamatum* frente a *F. oxysporum* en el PICR fue más alto con 94.22%, sin embargo, fue el más bajo con un PICR de 51.55% frente a *M. phaseolina*. Esto se debe a que el hongo *F. oxysporum* tiene una tasa de desarrollo lenta de 5.43 mm/día comparado con la del hongo *M. phaseolina* 14.90 mm/día, por lo tanto, al antagonista le fue más fácil colonizar el medio de cultivo, acaparar los nutrientes y bloquear el camino a los fitopatógenos (Martínez *et al.*, 2013).

3.2. Control biológico *Trichoderma* spp. frente a hongos fitopatógenos en campo

Los datos obtenidos de la evaluación en campo fueron peso fresco de planta, peso fresco de vainas y peso seco vainas. Para cada variable se realizó un análisis de varianza (ANDEVA) mediante el paquete estadístico SPSS Statistics 22 para verificar si existían diferencias entre los tratamientos sobre el rendimiento, se realizó además una prueba de comparación de medias de Tukey HDS con un valor de significancia de ($p=0.05$).

El análisis indicó que, existe por lo menos un tratamiento que tuvo efecto sobre el peso fresco de la planta, peso fresco de vainas y peso seco de vainas.

Los resultados de los promedios para la variable peso fresco de planta mostraron al tratamiento T1: *T. harzianum* cepa T-H3 vs *F. oxysporum* con un valor de 736.8 ± 85.1 g siendo el más alto, en

contraste el valor más bajo fue de 545.8 ± 49.1 g obtenido con el tratamiento T7: *F. oxysporum* (Figura 9). *T. harzianum* es una especie antagonista capaz de inhibir el crecimiento y germinación de esclerocios de una gran variedad de hongos reportados como patógenos en el cultivo de cacahuete entre los cuales están; *Rhizoctonia solani*, *R. baticola*, *Sclerotium sclerotiorum*, *S. rolfsii*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium solani* y *F. oxysporum* (Krishna y Podile, 2002).

En el caso de la variable peso fresco de vainas el valor de media más alto no coincide con el obtenido para la variable peso de planta, siendo T26: *Diaporthe* sp vs *T. asperellum* el tratamiento con el valor promedio más alto 674 g, en el caso del promedio más bajo si coincide con el tratamiento T7 con un valor de 478.2 g (Figura 10). Los resultados para la variable peso seco de vainas coincidieron que el mejor tratamiento fue T26 con un valor de 665.3 g y T7 el peor con un valor promedio de 484.9 g (Figura 11). Otro resultado positivo en este estudio es que el peso fresco de planta obtenido en el T1: *F. oxysporum* vs *T. harzianum* (T-H3), no mostró diferencias estadísticas significativas con el T6, tratamiento donde se usó el control químico frente a *F. oxysporum*, lo cual indica que ambos son efectivos para el control de *F. oxysporum*.

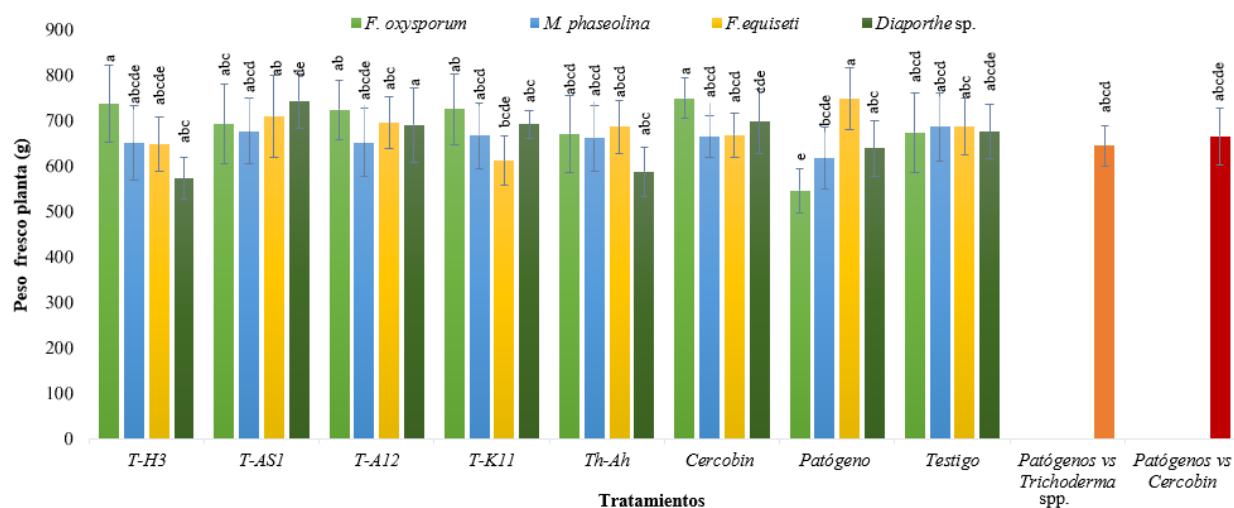


Figura 9. Efecto de tratamientos sobre el peso fresco de planta (raíz y follaje) de cacahuete.

T-AS1: *T. asperellum*, T-K11: *T. koningopsis*, T-A12: *T. hamatum*, Th-Ah: *T. harzianum*, T-H3: *T. harzianum*.

*Barras con diferente letra muestran diferencias estadísticas significativas (Tukey HDS, $p < 0.05$).

En las tres variables evaluadas los valores más bajos fueron para el tratamiento donde únicamente se inoculó *F. oxysporum* esto puede estar relacionado con la incidencia y con su capacidad para establecerse en nuevos ambientes. Por otro lado, en las variables peso de vainas, el tratamiento que

corresponde a *Diaporthe* sp. vs *T. asperellum* obtuvo el peso más alto, posiblemente se deba a que la especie *T. asperellum* es una de las especies del género con mayor efectividad al colonizar sustratos, gracias a su diversidad enzimática. Infante *et al.* (2011) demostraron en su investigación que diversos aislados de *T. asperellum* fueron eficaces (> 50%) en el control de *F. oxysporum* f. sp. cubense, *C. lunata* y *B. oryzae*, lo que indica el amplio rango de especies que controla. La eficiencia de las especies de *Trichoderma* depende del fitopatógeno al que se enfrente, en esta investigación los resultados arrojan que la misma especie de *Trichoderma* presenta valores diferentes frente a cada uno de los fitopatógenos. Sin embargo *T. hamatum* fue la especie que presentó alta eficiencia frente a tres de los cuatro fitopatógenos; *F. oxysporum*, *F. equiseti* y *M. phaseolina*.

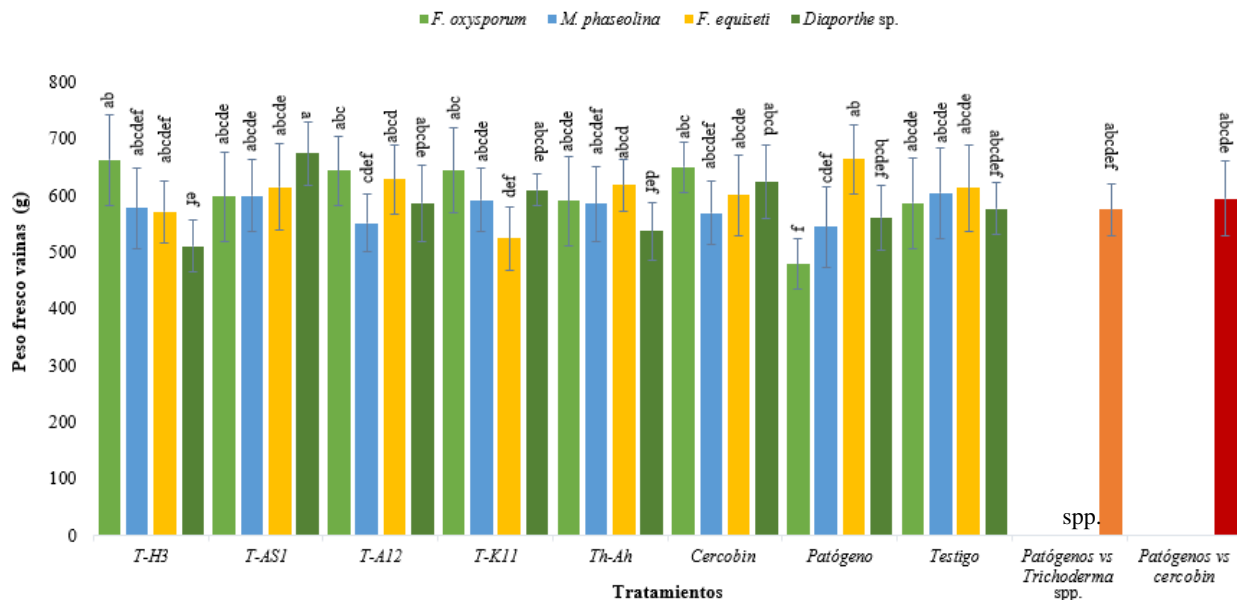


Figura 10. Efecto de tratamientos sobre la variable peso fresco de vainas de cacahuate.

*Barras con diferente letra muestran diferencias estadísticas significativas (Tukey HDS, $p < 0.05$).

T-AS1: *T. asperellum*, T-K11: *T. koningopsis*, T-A12: *T. hamatum*, Th-Ah: *T. harzianum*, T-H3: *T. harzianum*

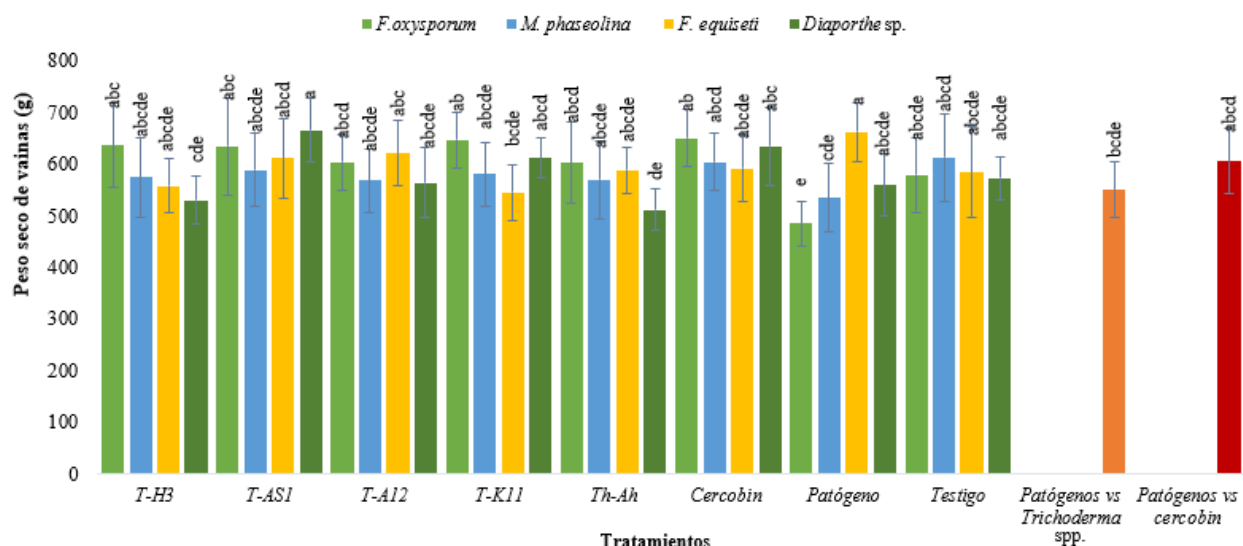


Figura 11. Efecto de los 34 tratamientos sobre la variable peso seco de vainas de cacahuete.

*Barras con diferente letra muestran diferencia significativa en sus medias (Tukey HDS, $p < 0.05$).

T-AS1: *T. asperellum*, T-K11: *T. koningopsis*, T-A12: *T. hamatum*, Th-Ah: *T. harzianum*, T-H3: *T. harzianum*

IV. CONCLUSIONES

Las cinco cepas de *Trichoderma* evaluadas *in vitro* fueron eficientes en el control de *Fusarium equiseti*, *F. oxysporum* y *Macrophomina phaseolina* mostrando un porcentaje de inhibición del crecimiento radial mayor a 50% y hasta 94%. El hongo *M. phaseolina* fue el más difícil de controlar por las especies de *Trichoderma* al mostrar PICR más bajos en comparación con los obtenidos sobre *F. oxysporum* en el cual fue el más susceptible.

La competencia por espacio y nutrientes de las diferentes especies de *Trichoderma* está relacionado con su alta tasa de desarrollo; los hongos fitopatógenos con una tasa de desarrollo similar a la de las especies de *Trichoderma* son menos susceptibles a este mecanismo.

La especie nativa de *T. harzianum* mostró eficiencia moderada, pero no fue mejor antagonista que las especies pertenecientes a la colección del laboratorio de hongos y patología vegetal del Centro de Agroecología (CENAGRO), BUAP.

Algunas especies de *Trichoderma* evaluadas en campo no tuvieron diferencia estadística significativa con el control químico (cercobin®) sobre las variables evaluadas; peso fresco de planta, peso fresco de vainas y peso seco de vainas. Lo anterior hace posible el cambio de uso de

fungicidas para el control de las enfermedades de la raíz y semilla de cacahuate por una alternativa agroecológica como lo es el uso de especies del género *Trichoderma*.

V. REFERENCIAS

1. Akram, U.; Metson, G.S.; Quttineh, N.H.; Wennergren, U. 2018. Closing Pakistan's Yield Gaps Through Nutrient Recycling. *Front. Sustain. Food Syst.* 2 (24), doi: 10.3389/fsufs.2018.00024.
2. Ali, N.S.; Musa, H. 2019. A Review Report on the Mechanism of *Trichoderma* spp. as Biological Control Agent of the Basal Stem Rot (BSR) Disease of *Elaeis guineensis*. *Trichoderma - The Most Widely Used Fungicide*. doi:10.5772/intechopen.84469
3. Altieri, M.A. 2002. Agroecology: the science of natural resource management for poor farmers in marginal environments. *Agric. Ecosyst. Environ.* 93, 1-24.
4. Atanasova, L.; Knox, B. P.; Kubicek, C. P.; Druzhinina, I. S.; Baker, S. E. 2013. The polyketide synthase gene *pks4* of *Trichoderma reesei* provides pigmentation and stress resistance. *Eukaryot. cell*, 12 (11), 1499–1508, doi: <https://doi.org/10.1128/EC.00103-13>
5. Bale, J. S.; van Lenteren, J. C.; Bigler, F. 2008. Biological control and sustainable food production. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 363, 761–776.
6. Blackburn, D.; Shapiro-Ilan, D.I.; Adams, B.J. 2016. Biological control and nutrition: Food for thought. *Biol. Control.* 97, 131–138, doi: 10.1016/j.biocontrol.2016.03.007
7. Bosamia, T.C.; Dodia, S.M.; Mishra, G.P.; Ahmad, S.; Joshi, B.; Thirumalaisamy, P.P, et al. 2020. Unraveling the mechanisms of resistance to *Sclerotium rolfsii* in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using comparative RNA-Seq analysis of resistant and susceptible genotypes. *PLoS ONE* 15(8): e0236823. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0236823>
8. Cardoza, R.; Hermosa, R.; Vizcaino, J.; Sanz, L.; Monte, E.; Gutiérrez, S. 2005. Secondary metabolites produced by *Trichoderma* and their importance in the biocontrol process. *Microorganisms for Industrial Enzymes and Biocontrol*. 1-22.
9. Chandler, D.; Bailey, A. S.; Tatchell, G. M.; Davidson, G.; Greaves, J.; Grant, W. P. 2011. The development, regulation and use of biopesticides for integrated pest management. *Philos. Trans. R. Soc. Lond. B. Biol. Sci.* 366(1573), 1987-1998.

10. Chen, J., Zhou, L., Din, I. U., Arafat, Y., Li, Q., Wang, J., Wu, T., Wu, L., Wu, H., Qin, X., Pokhrel, G. R., Lin, S. & Lin, W. 2021. Antagonistic Activity of *Trichoderma* spp. Against *Fusarium oxysporum* in Rhizosphere of *Radix pseudostellariae* Triggers the Expression of Host Defense Genes and Improves Its Growth Under Long-Term Monoculture System. *Front. Microbiol.* 12:579920, doi: 10.3389/fmicb.2021.579920
11. Chet, I.; J. Inbar. 1994. Biological control of fungal pathogens. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 48, 37-43
12. Cock, M.J.W.; van Lenteren, J.C.; Brodeur, J.; Barratt, B.I.P.; Bigler, F.; Bolckmans, K.; Côté, F.L.; Haas, F.; Mason, P.G.; Parra. J.R.P. 2010. Do new access and benefit sharing procedures under the convention on biological diversity threaten the future of biological control? *BioControl* 55, 199–218
13. Colhoun, J. 1973. Efectos de los factores ambientales sobre las enfermedades de las plantas. *Rev. anual de Fitopatol.* 11: 343 – 364, doi: <https://doi.org/10.1002/ecs2.3074>
14. Dennis, L. & Webster, J. 1971. Antagonistic properties of species groups of *Trichoderma*. III Hyphal interaction. *Trans. Brit. Mycol. Soc.* 57, 363-369.
15. Duarte, L. Y. Echevarría, H. & A. Martínez, C. B. 2016. Identificación y caracterización de aislamientos de *Fusarium* spp. presentes en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en Cuba. *Rev. Prot. Veg.* 31(3): 173-183.
16. Dubey, S.C.; Suresh, M.; Singh, B. 2007. Evaluation of *Trichoderma* species against *Fusarium oxysporum* f.sp. ciceri for integrated management of chickpea wilt. *Biol. Control* 40(1), 118–127
17. Faiguenbaum, H. 1983 Cultivo del maní. *Rev. el Campesino* 11422-29.
18. Fernandez, E., Giayetto, O. & Cerioni, G. 2006. Fecha y modelos de siembra, In: Fernández, E., Giayetto, O. (eds.), *El cultivo de maní en Córdoba*. Universidad Nacional de Río Cuarto. Río Cuarto, Argentina, pp. 157-169.
19. Fernández, E.; Giayetto, O.; Cholaky, L. 2006. *El cultivo de maní en Córdoba*. Universidad Nacional de Río Cuarto, Río Cuarto, Argentina, pp. 73-88.
20. Gaddeyya, G.; Niharika, P.S.; Bharathi, P.; Kumar, P.K.R. 2012. Isolation and identification of soil mycoflora in different crop fields at Salur Mandal. *Adv. Appl. Sci. Res.* 3 (4), 2020-2026.

21. Gams, W. & Bissett, J. 1998. Morphology and identification of *Trichoderma*. Pages 1-34 in: *Trichoderma* and *Gliocladium*. Vol. 1. C. P. Kubicek and G. E. Harman, eds. Taylor & Francis, London
22. Gawai, D. U. 2018. Fungi and their Role in Sustainable Development: Current Perspectives. P. Gehlot, J. Singh (eds.), https://doi.org/10.1007/978-981-13-0393-7_16
23. Ghazanfar, M. U., Raza, M. Raza, W. & Qamar, M. I. 2018. *Trichoderma* as potential biocontrol agent, its exploitation in agriculture: a review. *Plant Prot.* 2: 109–135.
24. Gómez, C. I, Pérez, P. E., Escamilla, P. E., Martínez, B. M., Carrión, V. G. & Hernández, L. T. 2017. Selection *in vitro* of mycoparasites with potential for biological control on Coffee Leaf Rust (*Hemileia vastatrix*). *Rev. Mex. Fitopatol.* 36(1): 172-183. doi: 10.18781/R.MEX.FIT.1708-1
25. Harman, G. 2006. Overview of Mechanisms and Uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96(2): 190-194, <http://dx.doi.org/10.1094/phyto-96-0190>
26. Hermosa, R., Cardoza, R. E., Rubio, M. B., Gutiérrez, S. & Monte, E. 2014. Secondary Metabolism and Antimicrobial Metabolites of *Trichoderma*. *Biotechnology and Biology of Trichoderma*, 125–137. doi:10.1016/b978-0-444-59576-8.00010-2
27. Howell, C. R. & Stipanovic, R. D. 1983. Gliovirin, a new antibiotic from *Gliocladium virens*, and its role in the biological control of *Pythium ultimum*. *Can. J. Microbiol.* 29: 321- 324.
28. Howell, C.R. 2003. Mechanisms Employed by *Trichoderma* Species in the Biological Control of Plant Diseases: The History and Evolution of Current Concepts. *Plant Dis.* 87(1): 4–10. <https://doi.org/10.1094/PDIS.2003.87.1.4>
29. Ijaz, M., Perveen, S., Nawaz, A., Ul-Allah, S., Sattar, A., Sher, A., Ahmad, S., Nawaz, F. & Rasheed, I. 2020. Eco-friendly alternatives to synthetic fertilizers for maximizing peanut (*Arachis hypogea* L.) production under arid regions in Punjab, Pakistan. *J. Plant Nutr.* 43: 762-772, 10.1080/01904167.2019.1702203.
30. Illa, C., Pérez, A. A., Torassa, M. & Pérez, M. A. 2020. Effect of biocontrol and promotion of peanut growth by inoculating *Trichoderma harzianum* and *Bacillus subtilis* under controlled conditions and field. *Mex. J. Phytopat.* 38(1): 119-131, doi: 10.18781/R.MEX.FIT.1910-6

31. Infante, D., Martínez, B., González, N. & Reyes Y. 2009. Mecanismos de acción de *Trichoderma* frente a hongos fitopatógenos. *Rev. Prot. Veg.* 24(1):14-21.
32. Jadon, K. S., Polavakkalipalayam, P., Thirumalaisamy, K., Koradia, V.V.G. & Padavi, R. D. 2015. Management of soil borne diseases of groundnut through seed dressing fungicides. *Crop Prot.* 78: 198-203. 10.1016/j.cropro.2015.08.021.
33. Jyoti, S. & Singh, D. P. 2016. Fungi as Biocontrol Agents in Sustainable Agriculture. In: Satyanarayana T, Johri BN, Prakash A (eds) *Microbes and environmental management*. Springer Netherlands, Dordrecht, pp 172–194
34. Khan, A., Singh, P. & Srivastava, A. 2018. Synthesis, nature and utility of universal iron chelator – Siderophore: A review. *Microbiol. Res.* 212: 103–111. doi:10.1016/j.micres.2017.10.012
35. Kishore, G. & Podile, A. 2002. Biological Control of Peanut Diseases. *Biological Control of Crop Diseases.* 7 :1-30, doi: 10.1201/9780203910955.ch7.
36. Kochert, G., Thomas, H., Gimenes, M., Galgaro, I., Romero, C. & Moore, K. 1996. RFLP and cytogenetic evidence on the origin and evolution of allotetraploid domesticated peanut, *Arachis hypogaea* (leguminosae). *Am. J. Bot.* 83(10): 1282-1291.
37. Kumar, P., Gaur, V. K. & Meena, A. K. 2017. Screening of different *Macrophomina phaseolina* on 392 susceptible (RMG-62) variety of mungbean. *Indian J. Pure Appl. Biosci.* 5: 698-702.
38. Kumar, S. 2013. *Trichoderma*: a biological control weapon for managing plant diseases and promoting sustainability. *Int. J. Agric. Sci. Vet. Sci.* 1 (3): 106–121.
39. Lehner, S.M., Atanasova, L., Neumann, N.K., Krska, R., Lemmens, M., Druzhinina, I. S. & Schuhmacher, R. 2013. Isotope-assisted screening for iron-containing metabolites reveals a high degree of diversity among known and unknown siderophores produced by *Trichoderma* spp. *Appl. Environ. Microbiol.* 79(1): 18–31. <https://doi.org/10.1128/AEM.02339-12>
40. Leon, J. 2000. *Botánica de los cultivos tropicales*. IICA, San José, Costa Rica, 487 p.
41. Leong, J. 1986. Siderophores: their biochemistry and possible role in the biocontrol of plants pathogens. *Annu. Rev. Phytopathol.* 24: 1987-209

42. Leslie, J. F. & Summerell, B. A. 2006. The *Fusarium* Laboratory Manual. Ames, Iowa, USA: Blackwell Publishing; 387 p.
43. Link, H. F. 1809. Observations in ordines plantarum natural, dissertation. Magazin der Gesellschaft Naturforschenden Freunde Berlin.3:3-42
44. Lu, Z., Tombolini, R., Woo, S., Zeilinger, S., Lorito, M. & Jansson, J. K. 2004. In vivo study of *Trichoderma*-pathogen-plant interactions, using constitutive and inducible green fluorescent protein reporter system. Appl. Environ. Microbiol. 70(5): 3073-3081.
45. Martínez, B., Infante, D. & Reyes, Y. 2013. *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. Rev. Prot. Veg. 28(1):1-11.
46. Martínez-Salgado, S. J., Andrade-Hoyos, P., Romero-Arenas, O., Villa-Ruano, N., Landeta-Cortés, G. & Rivera-Tapia, J. A. 2021. Control *in vitro* de *Fusarium* sp. asociado al cultivo de cebolla mediante *Trichoderma harzianum*. Revista mexicana de fitopatología, 39(2): 314-328, doi: <https://doi.org/10.18781/r.mex.fit.2101-4>
47. McCravy, K.W. 2008. Conservation Biological Control. In: Capinera J.L. (eds) Encyclopedia of Entomology. Springer, Dordrecht. https://doi.org/10.1007/978-1-4020-6359-6_812
48. Milagres, A. M., Machuca, A. & Napoleao, D. 1999. Detection of siderophore production from several fungi and bacteria by a modification of chrome azurol S (CAS) agar plate assay. J. Microbiol. Methods, 37: 1-6.
49. Millennium Ecosystem Assessment. 2005. Ecosystems and human well-being: synthesis. Island Press, Washington, DC
50. Mondal, S. & Badigannavar, A. M. 2015. Peanut rust (*Puccinia arachidis* Speg.) disease: its background and recent accomplishments towards disease resistance breeding. Protoplasma 6: 1409-1420, doi: 10.1007/s00709-015-0783-8.
51. Moreno-Ruiz, D., Lichius, A., Turrà, D., Di Pietro, A. & Zeilinger, S. 2020. Chemotropism Assays for Plant Symbiosis and Mycoparasitism Related Compound Screening in *Trichoderma atroviride*. Front. Microbiol. 11: 601251, doi:10.3389/fmicb.2020.601251
52. Muimba-Kankolongo, A. 2018. Leguminous Crops. In Food Crop Production by Smallholder Farmers in Southern Africa, Academic Press. Pp. 173–203.

53. Mukherjee, P. K., Horwitz, B. A., Herrera-Estrella, A., Schmoll, M. & Kenerley, C. M. 2013. *Trichoderma* research in the genome era. Annu. Rev. Phytopathol. 51: 105–129, <https://doi.org/10.1146/annurev-phyto-082712-102353>
54. Nehra, S., Gothwal, R. K., Varshney, A. K., Solanki, P. S., Chandra, S., Meena, P. & Ghosh, P. 2021. Bio-management of *Fusarium* spp. associated with fruit crops. Fungi Bio-Prospects in Sustainable Agriculture. Environ. Nanotechnol. Monit. 475–505. doi:10.1016/b978-0-12-821394-0.00019-6
55. Norlia, M., Jinap, S., Nor-Khaizura, M., Radu, S., Samsudin, N. & Azri, F.A. (2019). *Aspergillus* section *Flavi* and Aflatoxins: Occurrence, Detection, and Identification in Raw Peanuts and Peanut-Based Products Along the Supply Chain. Front. Microbiol. 10: 2602, <https://doi.org/10.3389/fmicb.2019.02602>
56. Pal, K. K., Dey, R. & Tilak, K. V. B. R. 2014. Fungal Diseases of Groundnut: Control and Future Challenges. In Future Challenges in Crop Protection Against Fungal Pathogens. Pp. 1–29, doi:10.1007/978-1-4939-1188-2_1
57. Pandey, A. K., Burlakoti, R. R., Rathore, A. & Nair, R. M. 2019. Morphological and molecular characterization of *Macrophomina phaseolina* isolated from three legume crops and evaluation of mungbean genotypes for resistance to dry root rot. Crop Prot. 104962. doi:10.1016/j.cropro.2019.104962
58. Pildain, B., Frisvad, J. C., Vaamonde, G., Cabral, D., Varga J. & Samson, R. A. 2008. Two novel aflatoxin-producing *Aspergillus* species from Argentinean peanuts. Int. J. Syst. Evol. Microbiol. 58: 725–735, doi: 10.1099/ijs.0.65123-0
59. Purcell, A. H. 2009. Plant Diseases and Insects. In Encyclopedia of Insects, 802–806. doi:10.1016/b978-0-12-374144-8.00212-5
60. Ram, R. & Singh, H. B. 2018. *Trichoderma* spp.: An opportunistic pathogen. Biotech Today. Int. J. Biol. Sci. 8 (2): 16. 10.5958/2322-0996.2018.00013.3.
61. Rivera-Jiménez, M. N., Zavaleta-Mancera, H. A., Rebollar-Alviter, A., Aguilar-Rincón, V. H., García-de-los-Santos, G., Vaquera-Huerta, H. & Silva-Rojas, H. V. 2018. Phylogenetics and histology provide insight into damping-off infections of ‘Poblano’ pepper seedlings caused by *Fusarium* wilt in greenhouses. Mycol. Prog. 17: 1237–1249.
62. Samuels, G. J. 1996. *Trichoderma*: a review of biology and systematics of the genus. Mycol. Res. 100(8): 923–935, doi:10.1016/s0953-7562(96)80043-8

63. Samuels, G. J. 2006. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. *Phytopathology* 96: 195–206.
64. Samuels, G. J., Dodd, S. L., Gams, W., Castlebury, L. A. & Petrini, O. 2002. *Trichoderma* species associated with the green mold epidemic of commercially grown *Agaricus bisporus*. *Mycologia* 94: 146.
65. Sánchez-Espinosa, A. C., Villarruel-Ordaz, J. L. & Maldonado-Bonilla, L. D. 2020. The cause and potential solution to the *Fusarium* wilt disease in banana plants. *Terra Latinoam.* 38 (2): 435-442, doi: <https://doi.org/10.28940/terra.v38i2.617>
66. Sanders, T. H. 2003. PEANUTS. In *Encyclopedia of Food Sciences and Nutrition*. 4420–4427 pp., doi:10.1016/b0-12-227055-x/00897-x
67. Sandle, T. 2014. *Trichoderma*. *Encyclopedia of Food Microbiology*, pp. 644–646. doi:10.1016/b978-0-12-384730-0.00337-2
68. Sanogo, S. & Puppala, N. 2012. Microorganisms Associated with Valencia Peanut Affected by Pod Rot in New Mexico. *Peanut Sci.* 39: 95-104, doi: 10.3146/PS11-25.1.
69. Savage, G. P. & Keenan, J. I. 1994. The composition and nutritive value of groundnut kernels. In *The groundnut crop: Scientific basis for improvement*, ed. J. Smart, Chapman and Hall, London, 173–213 pp.
70. Schuster, A., Schmoll, M. 2010. Biology and biotechnology of *Trichoderma*. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 87(3): 787–799. doi:10.1007/s00253-010-2632-1
71. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Available online: <https://www.gob.mx/siap> (accessed on septiembre 2021).
72. Settaluri, V. S., Kandala, C. V. K., Puppala, N. & Sundaram, J. 2012. Peanuts and their nutritional aspects-a review. *Food and Nut. Sci.* 3: 1644–1650.
73. Shah, S., Nasreen, S. & Sheikh, P. A. 2012. Cultural and morphological characterization of *Trichoderma* sp. associated with green mold disease of *Pleutorus* sp. in Kashmir. *Res. J. Microbiol.* 7(2): 139–144.
74. Shapiro-Ilan, D. I. & Gaugler, R. 2002. Production technology for entomopathogenic nematodes and their bacterial symbionts. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 28, 137–146.

75. Shores, M., Harman, G. & Mastouri, F. 2010. Induced Systemic Resistance and Plant Responses to Fungal Biocontrol Agents. *Annu. Rev. Phytopathol.* 48:21-43.
76. Simpson, C.E., Krapovickas, A. & Valls, J. F. M. 2001. History of *Arachis*, including evidence of *A. hypogaea* L. progenitors. *Peanut Sci.* 28: 78-80.
77. Singh, B.N., Singh, A., Singh, S.P. & Singh, H.B. 2011. *Trichoderma harzianum*-mediated reprogramming of oxidative stress response in root apoplast of sunflower enhances defense against *Rhizoctonia solani*. *Eur. J. Plant Pathol.* 131:121–134
78. Singh, S.P. & Singh, H. 2012. Effect of consortium of *Trichoderma harzianum* isolates on growth attributes and *Sclerotinia sclerotiorum* rot of brinjal. *J. Veg. Sci.* 39: 144-148
79. Smith, H. S. 1919. On Some Phases of Insect Control by the Biological Method. *J. Econ. Entomol.* 12 (4): 288–292, <https://doi.org/10.1093/jee/12.4.288>
80. Sood, M., Kapoor, D., Kumar, V., Sheteiw, M. S., Ramakrishnan, M., Landi, M., Araniti, F. & Sharma, A. 2020. *Trichoderma*: The "Secrets" of a Multitalented Biocontrol Agent. *Plants (Basel, Switzerland)*, 9(6): 762, doi: <https://doi.org/10.3390/plants9060762>
81. Stenberg, J.A.; Sundh, I.; Becher, P.G. et al. When is it biological control? A framework of definitions, mechanisms, and classifications. *J. Pest Sci.* 94, 665–676 (2021). <https://doi.org/10.1007/s10340-021-01354-7>
82. Subrahmanyam, P., Reddy, D.V.R., Sharma, S. B., Mehan, V. K. & McDonald, D. 1990. A world list of groundnut diseases. *Legumes Pathology, Prog. Rep.* 12, ICRISAT, Patancheru, India.
83. Subrahmanyam, P., Wongkaew, S., Reddy, D. V. R., Demski, J. W., McDonald, D., Sharma, S. B., Smith, D. H., Nigam, S. N. & Sudini, H. 2012. Field diagnosis of groundnut diseases. *Information Bulletin* 36. (In. Fr. Summaries in En, Fr, Es.)
84. Suchoszek-Łukaniuk, K., Jaromin, A., Korycińska, M. & Kozubek, A. 2011. Health Benefits of Peanut (*Arachis hypogaea* L.) Seeds and Peanut Oil Consumption, *Nuts and Seeds in Health and Disease Prevention*, Academic Press, pp. 873-880.
85. Thiessen, L. & Woodward, J. 2012. Diseases of Peanut Caused by Soilborne Pathogens in the Southwestern United States. *ISRN Agronomy*, 12: 1-9, doi: 10.5402/2012/517905.
86. United States Department of Agriculture. Available online: <https://www.fas.usda.gov/data> (accessed on 8 October 2021).

87. Vega, F. & Kaya, H. 2012. In: Vega, F., Kaya, H.K., editors. *Insect Pathology*. 2nd edition. San Diego, CA: Academic Press. p. 1-12.
88. Vinale, F., Ghisalberti, E. L., Sivasithamparam, K., Marra, R., Ritieni, A., Ferracane, R., Woo, S. & Lorito, M. 2009. Factors affecting the production of *Trichoderma harzianum* secondary metabolites during the interaction with different plant pathogens. *Lett. Appl. Microbiol.* 48(6): 705–711. <https://doi.org/10.1111/j.1472-765X.2009.02599.x>
89. Vinale, F., Sivasithamparam, K., Ghisalberti, E., Marra, R., Woo, S. & Lorito, M. 2008. *Trichoderma*–plant–pathogen interactions. *Soil Biol. Biochem.* 40(1):1-10. <http://dx.doi.org/10.1016/j.soilbio.2007.07.002>
90. Wardle, D. A., Parkinson, D. & Waller, j. E. 1993. Interspecific competitive interactions between pairs of fungal species in natural substrates. *Oecologia.* 94: 165-172.
91. Weindling, R. 1934, Studies on a lethal principle effective in the parasitic action of *Trichoderma lingorum* on *Rhizoctonia solani* and other soil fungi, *Phytopathology* 24: 1153.
92. White, T. J. 1990. In: *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, CA. 315 p.
93. Zapata, N., Vargas, M., Finot, V. L. & Vallejos, B. 2012. Caracterización fenológica y morfológica de veinte accesiones de maní (*Arachis hypogaea* L.) establecidas en la Provincia de Ñuble, Chile. *Chilean J. Agric. Anim. Sci.* 28:127-137
94. Zhang, J. Q., Zhu, Z. D., Duan, C. X., Wang, X. M. & Li, H. J. 2011. First Report of Charcoal Rot Caused by *Macrophomina phaseolina* on Mungbean in China. *Plant Dis.* 95: 872, doi: <https://doi.org/10.1094/PDIS-01-11-0010>
95. Zin, N. A. & Badaluddin, N. A. 2020. Biological functions of *Trichoderma* spp. for agriculture applications. *Ann. Agric. Sci.* 65(2): 168–178, doi:10.1016/j.aos.2020.09.003

VI. ANEXOS

5.1. Aislamiento de hongos de la raíz de cacahuete (*Arachis hypogaea* L).

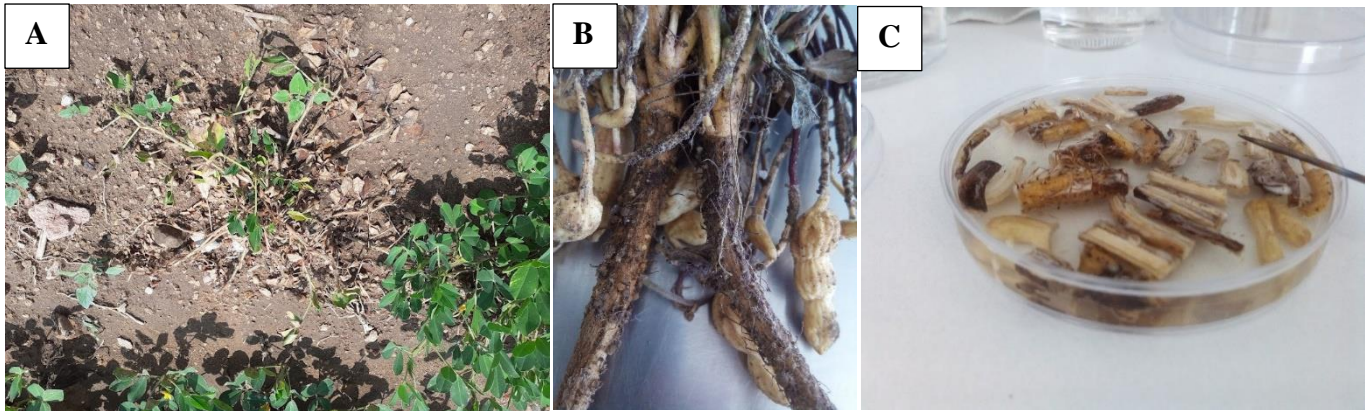


Figura 1. (A) Planta de cacahuete enferma observada en campo, (B, C) procesamiento de raíces para aislamiento de agente causal.

5.2. Pruebas de patogenicidad

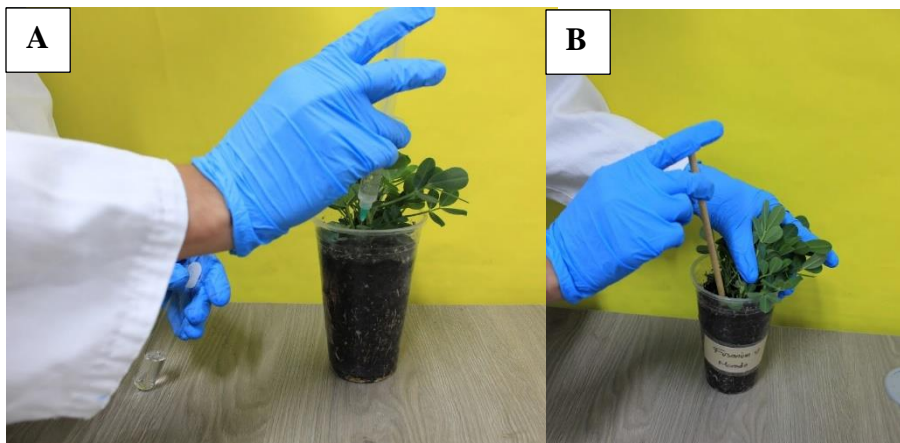


Figura 2. (A, B) Inoculación de plantas para pruebas de patogenicidad en plantas de *Arachis hypogaea* L.

5.3. Cosecha de cacahuates en parcela de estudio ubicada en Buenavista de Benito Juárez.



Figura 3. (A) Cosecha manual de plantas de cacahuete, (B) organización de plantas por cada tratamiento (manojos de 10 plantas).

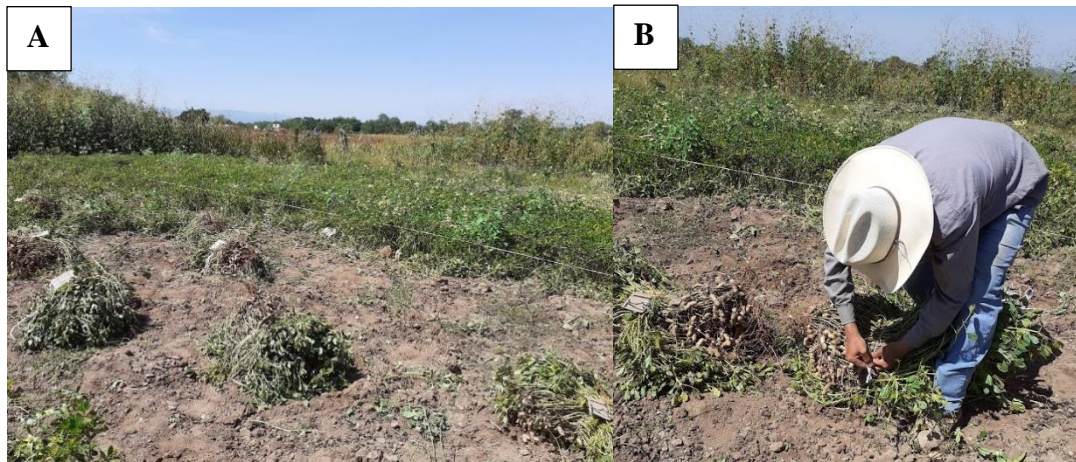


Figura 4. (A) Grupos de 10 plantas por tratamiento, (B) amarre de plantas por tratamiento para su traslado.



Figura 5. (A) Despegue manual de cacahuates por tratamiento, (B) pesaje de cacahuates producidos por planta.