

## Hongos asociados a la pudrición del tronco en cítricos

### Fungi associated with trunk rot in citrus

Julio César González Cárdenas<sup>1</sup>, Blanca Esther Raya Cruz<sup>1</sup>, Francisco Javier Piña Ramírez<sup>2</sup>, Fabián Enríquez García<sup>3</sup>, Esperanza Patricia Velázquez García<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Facultad de Ciencias Biológico Agropecuarias. Universidad Veracruzana. <sup>2</sup>Facultad de Ciencias Agro tecnológicas. Universidad Autónoma de Chihuahua. <sup>3</sup>Facultad de Ciencias agrícolas y Pecuarias. Universidad Autónoma de Puebla

#### NOTA SOBRE LOS AUTORES

Julio César González Cárdenas: [juliogonzalez@uv.mx](mailto:juliogonzalez@uv.mx)  <https://orcid.org/0000-0002-2095-9257>

Blanca Esther Raya Cruz: [braya@uv.mx](mailto:braya@uv.mx)  <https://orcid.org/0000-0002-9556-7477>

Francisco Javier Piña Ramírez: [fpinar615@hotmail.com](mailto:fpinar615@hotmail.com)  <https://orcid.org/0000-0002-8537-2414>

Fabián Enríquez García: [enriquezfabian484@gmail.com](mailto:enriquezfabian484@gmail.com)  <https://orcid.org/0000-0001-9849-9636>

Esperanza Patricia Velázquez García: [esvelazquez@uv.mx](mailto:esvelazquez@uv.mx)  <https://orcid.org/0000-0003-0435-6875>

Esta investigación fue financiada con recursos de los autores.

Los autores no tienen ningún conflicto de interés al haber hecho esta investigación.

Remita cualquier duda sobre este artículo a Blanca Esther Raya Cruz.

#### RESUMEN

Existen diferentes especies de *Trichoderma* con diferentes características. *Trichoderma* es un hongo que ha desarrollado mecanismos para atacar y parasitar a otros hongos y así aprovecharlos como una fuente nutricional adicional. Este hongo es muy común del suelo por lo regular las colonias al principio son blancas y algodonosas, pero cuando se reproducen bajo condiciones de luz continua las colonias son uniformemente de color verde oscuro. Se realizó una colecta de material vegetativo en Tierra Blanca del municipio de Tepetzintla, Veracruz, donde se encontró el hongo *Trichoderma* creciendo en troncos de árboles de naranja; por consiguiente, el objetivo de este estudio fue identificar la especie de *Trichoderma* asociada a troncos de árboles de naranjo. Se realizó el

aislamiento del hongo, en el cual se utilizó medio de cultivo de Papa Dextrosa Agar (PDA), después de observar el crecimiento de se procedió a la purificación del patógeno, cuando el hongo lleno por completo la caja Petri con el medio del cultivo de PDA, se procedió a la identificación del género del microorganismo. La identificación de la especie se obtuvo al enviar una muestra del hongo a un laboratorio especializado en identificación de hongos mediante técnicas moleculares. De acuerdo con las características morfológicas y el análisis con técnicas moleculares se identificó al hongo asociado a troncos de naranja como *Trichoderma longibrachiatum*.

**Palabras Clave:** Parasitar, naranja, suelo.

### ABSTRACT

There are different species of *Trichoderma* with different characteristics. *Trichoderma* is a fungus that has developed mechanisms to attack and parasitize other fungi and thus take advantage of them as an additional nutritional source. This fungus is very common in the soil. Colonies are usually white and cottony at first, but when they reproduce under continuous light conditions, colonies are uniformly dark green. A collection of vegetative material was carried out in Tierra Blanca in the municipality of Tepetzintla, Veracruz, where the *Trichoderma* fungus was found growing on trunks of orange trees; therefore the objective of this study was to identify the *Trichoderma* species associated with orange tree trunks. The isolation of the fungus was carried out, in which the culture medium of Potato Dextrose Agar (PDA) was used, after observing the growth of the pathogen, the purification of the pathogen was carried out, when the fungus completely filled the Petri dish with the medium of the PDA culture, we proceeded to identify the genus of the microorganism. The identification of the species was obtained by sending a sample of the fungus to a laboratory specialized in fungal identification using molecular techniques. According to the morphological characteristics and the analysis with molecular techniques, the fungus associated with orange trunks was identified as *Trichoderma longibrachiatum*.

**Keywords:** Parasitize, orange, soil.

### INTRODUCCIÓN

De acuerdo a lo que señala Pénelo (2018), las frutas más consumidas del mundo son las naranjas, estas pertenecen al género de Citrus y es de la familia de las rutáceas. Estas son una de las frutas que retiene una elevada cantidad de vitaminas. Algunas de las variedades más destacadas de la naranja es la persa, la de ombligo, la valenciana y la sanguina. La mayoría de las variedades son

híbridos producidos a partir las especies *Citrus maxima*, *Citrus reticulada* y *Citrus medica*. El país con mayor producción de naranjas es Brasil, seguido de Estados Unidos y México. Algunos de los beneficios que podemos para la salud, los cítricos son una gran fuente de vitaminas y minerales, que protegen el sistema digestivo, así controla los niveles de colesterol y ácidos úrico, ayudando a tener una piel limpia, bella y saludable, previenen la diabetes activan el sistema inmunológico, desintoxican el organismo, ayudan a de curar los órganos, por eso son recomendable en épocas donde el clima no favorece la salud de las personas. Dentro de las enfermedades de los cítricos encontramos: A) Enverdecimiento de los cítricos, es una de las enfermedades más graves de las plantas cítricas en el mundo. También es conocido como huanglongbing (HLB) o enfermedad del dragón amarillo. Una vez que esta que árbol está infectado este ya no tendrá cura. Aunque la enfermedad no representa una amenaza para los humanos o los animales, esta enfermedad ya ha destruido millones de hectáreas de cultivos de cítricos en EE. UU. Y el extranjero (USDA, 2020). B) Cancrosis o cancro es una causada por una bacteria patógena, esta enfermedad causa lesiones necróticas en las hojas, en el tallo y en la fruta. Esta enfermedad es muy dañina que una lesión muy severa puede causar la defoliación del árbol, la muerte regresiva de las ramas, decadencia general del árbol, la caída prematura de la fruta y la mancha de esta, esto ocasiona que los árboles severamente infectados se vuelvan débiles, improductivos y esto genera que dejen de ser rentables (Mongi Zekri et al., 2005). C) Mancha negra en los cítricos *Guignardia citricarpa* o conocida comúnmente como mancha negra de los cítricos es una enfermedad fúngica caracterizada por mancha grasienta y lesiones oscuras y moteadas sobre las cáscara de la fruta de cítricos. Esta es una enfermedad cítrica, que a lo largo del tiempo ha sido una de las más devastadoras del mundo de las cuales son causadas por hongos, esto hace que se provoque la caída permanente de las frutas, malogradas por las intensas manchas, sean inadecuadas para la venta. La naranja Valencia es la más vulnerable y aunque todos los cítricos comerciales enfrentan el riesgo de contraer mancha negra el limón y las variedades de los cítricos de maduración tardía. Esta enfermedad se transmite a través de esporas liberadas por hojas de cítricos caídas y en fase de descomposición (USDA, 2020). D) La Sarna de la naranja. Es una enfermedad que afecta el valor comercial y la producción de cítricos, la sarna en cítricos ha sido recientemente destacado en Texas, Louisiana, Mississippi, Arizona y Florida estas zonas son las más destacadas por esta enfermedad, los principales síntomas que se presentan son las lesiones esponjosas y corchosas, pústulas, en la superficie del fruto, la sarna produce postulas que también se desarrollan en las hojas, las hojas afectadas aparecen deformadas, las partiduras de frutos suceden cuando la enfermedad es muy severa y por esto el

fruto se cubre por lesiones. Los principales causantes de la sarna en cítricos es *Elsinoe fawcetti* y *Elsinoe australis*. Estos hongos producen esporas en las pústulas presentes en hojas y frutos las lesiones que están expuestas a un periodo mojado de menos de dos horas, esto ocasiona que produzcan esporas que sean capaces de su dispersión por salpicadura. Las células de tejidos jóvenes son las del tejido susceptible y es donde inicia la infección, por lo general esto sucede de tres a cuatro horas y la infección ocurre, en cítricos, es más fácil o más susceptible cuando los frutos están en desarrollo (Ryback et al., 2013). E) Pudrición de troncos en naranja por *Fusarium*. El agente *Fusarium oxysporum* es el causante de esta enfermedad conocida como *Fusarium* o marchitamiento por *Fusarium*. *F. oxysporum* es un organismo que deteriora el sistema vascular de las plantas, esto ocasiona el marchitamiento y por último la muerte del árbol. *Fusarium* es un hongo capaz de entrar en la planta por medio de sus raíces, y este ataca o invade algunos vasos del xilema y por último invade el sistema vascular.

El género *Trichoderma* es un hongo que es muy caracterizado por ser un predominante de los ecosistemas terrestres (suelos agrícolas, pastizales, bosques y desiertos). En el suelo podemos encontrar algunas especies que son de vida libre pueden llegar a ser, oportunistas, simbioses de plantas, y otras son micoparásitas, algunas pueden llegar a colonizar los distintos tipos de ambientes, debido a su alta capacidad reproductiva. Cabe mencionar que los hongos de *Trichoderma* se pueden enfocar en la rizósfera, donde son capaces de competir por nutrientes y espacio con otros microorganismos. Este grupo fúngico es importante para las plantas, al cubrir en el control de hongos fitopatógenos ya que poseen propiedades micoparasíticas y antibióticas por lo que algunas especies han sido catalogadas como excelentes agentes de control biológico de hongos causantes de enfermedades para diferentes plantas hortícolas (Argumedo-Delira et al., 2009). La mayoría de las especies del género *Trichoderma* está representada en un grupo de hongos filamentosos estas son pertenecientes a las siguientes características taxonómicas: • Reino Mycetae (fungi) • División Eumycota • Subdivisión Deuteromycotina • Clase Hyphomycetes • Orden Hyphales (Moniliales) • Familia Moniliaceae (Argumedo-Delira et al., 2009). El género *Trichoderma* es un hongo que es muy caracterizado por ser un predominante de los ecosistemas terrestres (suelos agrícolas, pastizales, bosques y desiertos). En el suelo podemos encontrar algunas especies que son de vida libre pueden llegar a ser, oportunistas, simbioses de plantas, y otras son micoparásitas, algunas pueden llegar a colonizar los distintos tipos de ambientes, debido a su alta capacidad reproductiva. Cabe mencionar que los hongos de *Trichoderma* se pueden enfocar en la rizósfera, donde son capaces de competir por nutrientes y espacio con otros microorganismos.

Este grupo fúngico es importante para las plantas, al cubrir en el control de hongos fitopatógenos ya que poseen propiedades micoparasíticas y antibióticas por lo que algunas especies han sido catalogadas como excelentes agentes de control biológico de hongos causantes de enfermedades para diferentes plantas hortícolas (Argumedo-Delira et al., 2009).

Por esto es por lo que los estudios que se han realizado de la diversidad de especies de *Trichoderma* en diversos hábitats naturales, permiten ampliar el conocimiento sobre su aporte biotecnológico y su gran importancia ecológica y agrícola (Jaklitsch y Volqmayr, 2015). Las diferentes especies de este género están asociadas con la rizosfera de plantas o pueden relacionarse de manera endofítica, esto promueve el crecimiento y desarrollo de las plantas, mediante la producción de auxinas y giberelinas; estas pueden producir ácidos orgánicos (glucónico, fumárico y cítrico). Estos compuestos pueden disminuir el PH de los suelos y proporcionar la solubilidad de fósforo, magnesio, hierro y manganeso, los cuales son vitales para el metabolismo vegetal (Torres-De la Cruz et al., 2015). Este género es importante para las plantas, al producir antibióticos, por lo que algunas especies han sido catalogadas como excelentes agentes de control biológico de hongos causantes de enfermedades en diferentes plantas (Argumedo-Delira et al., 2009). Las características antagonistas de *Trichoderma* hacia hongos patógenos se basan en la activación de múltiples mecanismos que incluyen la competencia por los nutrientes y espacio, el micoparasitismo, la antibiosis, la promoción del crecimiento vegetativo, e inducción de respuesta de defensa vegetal (De Aguiar et al., 2014; Sandle 2014; VarqasHoyos y Gilchrist-Ramelli, 2015).

## MATERIALES Y MÉTODOS

La investigación se llevó a cabo en la Facultad de Ciencias Biológicas y Agropecuarias de la Universidad Veracruzana. Se muestreó en una superficie de 4 hectáreas de cítricos. El muestreo se realizó de manera dirigida sobre los árboles que presentaban sintomatología de la enfermedad. En donde se encontró el hongo con características físicas del género *Trichoderma* como lo es la coloración verde sobre el tronco en donde se encontraba la lesión. Se procedió a cortar con una motosierra marca Still una rodaja que contuviera el hongo *Trichoderma* y el hongo que causaba la enfermedad en el tronco. Esta muestra fue transportada en una bolsa de papel y en una hielera con la finalidad de conservar el microorganismo. La muestra fue trasladada al Laboratorio de Parasitología Agrícola. Para el aislamiento del hongo, se utilizó el medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA). Este medio primeramente fue esterilizado en una autoclave a calor húmedo a una

temperatura de 120°C por 15 minutos. Después de este tiempo fue vertido en cajas Petri esterilizadas, una vez que el medio de cultivo se enfrió, con la ayuda de aguja de disección se tomó una porción del hongo de color verde para su siembra en el centro de la caja Petri con medio de cultivo. Una vez que se observó el crecimiento micelial en el medio de cultivo, se procedió a purificarlo con la intención de tener al hongo en estudio puro, para ello con un sacabocado de 2.5 cm de diámetro se obtuvo una porción del micelio puro y se transfirió a una caja con medio PDA. Las cajas Petri fueron etiquetadas y se dejaron en incubación a temperatura ambiente (25°C) para el crecimiento del hongo.

Después de que el hongo llenará por completo la caja Petri con el medio de cultivo PDA, se procedió a identificar al microorganismo; para ello se realizaron observaciones directas con la finalidad de identificar las estructuras morfológicas, con la ayuda de un microscopio óptico, con los objetivos 10x y 40x, con el uso de las claves taxonómicas descritas por Barnett y Hunter (1998). Para identificar la especie del hongo aislado, se seleccionó una cepa, la cual fue purificada y enviada para su identificación al Laboratorio. La cepa seleccionada para identificación mediante técnicas moleculares fue identificada con el código ITT22. Entre las condiciones para tratamiento de la cepa seleccionada se consideró una condición de refrigeración de 4°C. Para la realización de la amplificación por PCR se utilizó el Taq PCR kit (New England Biolabs, Inc. Ipswich, MA, USA), con el siguiente programa de amplificación: 1 ciclo de 95 °C durante 5 min, seguido por 30 ciclos de 30 s a 94 °C, 30 s a 45 °C, 1 min a 72 °C, y un ciclo de 10 min a 72 °C (Sánchez et al., 2007). Los Primers utilizados fueron los siguientes: FWD ITS-1 (5'TCCGTAGGTGAACCTGCGG-3') (White et al., 1990), REV ITS-4 (5'TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White et al., 1990). Al final de la amplificación del fragmento del gen se realizó el proceso de secuenciación. La secuenciación del ADN amplificado se realizó en la empresa MacroGen Inc. España.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

En la identificación morfológica el micelio en el medio de cultivo al inicio fue de color blanco y al final de llenar la caja se tornó de una coloración verdosa, color característico del género *Trichoderma*. Las características presentadas por este hongo en el microscopio coinciden con las mencionadas por Barnett y Hunter (1998). Papavizas (1985) menciona que una de las características propias de *Trichoderma* coincide con las características morfológicas observadas en nuestra cepa, pero además atribuye una característica más relacionada al crecimiento rápido de este hongo y la coloración verde de las esporas. Se obtuvieron secuencias en dirección hacia adelante, reversa y consenso. Estas

secuencias son útiles para identificar la especie de *Trichoderma* ya que al final la secuencia consenso se comparó con las secuencias de otras especies de *Trichoderma* para observar el micelio en el medio de cultivo al inicio fue de color blanco con cual especie la secuencia de ADN compartía mayor similitud. Estos análisis mostraron que la cepa seleccionada y analizada se identificó como *Trichoderma longibrachiatum*.

## CONCLUSION

La identificación y caracterización morfológica del hongo en estudio y basado en las claves taxonómicas ubica al género *Trichoderma* como el hongo asociado a las pudriciones del tallo en naranja Valencia. Basado en las características fenotípicas presentes en el medio de cultivo y en los resultados de los análisis moleculares la especie de *Trichoderma* asociada a la pudrición del tronco en naranja Valencia corresponde a *Trichoderma longibrachiatum*

## LITERATURA CITADA

- Argumedo-Delira R., Alarcón A., Ferrera-Cerrato R. y Peña-Cabriaes Juan J., (2009) El género fúngico *Trichoderma* y su relación con contaminantes orgánicos e inorgánicos., control de investigación estudios avanzados de Guanajuato. <https://doi.org/10.1016/j.jenvman.2010.08.011>
- Barnett H. y Hunter B. (1998). Illustrated Genera of Imperfect. La Sociedad Americana de Fitopatología. Minnesota 4 Ed. 217p. Bergasa, A. M. L. (2002). Colesterol, triglicéridos y su control (Vol. 199). Edaf.
- Cardero Reyes, Y., Sarmiento González, R., & Selva Capdesuñer, A. (2009). Importancia del consumo de hierro y vitamina C para la prevención de anemia ferropénica. *Medisan*, 13(6), 0-0.
- García-Núñez H.G. y Martínez Campos A.R. (2017). Caracterización morfológica y molecular de cepas nativas de *Trichoderma* y su potencial de biocontrol sobre *Phytophthora infestans*. *Revista Mexicana de Fitopatología*. Pp.58-79. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1605-4>
- Harman G, Howell C, Viterbo A, Chet I, and Lorito M. (2004). *Trichoderma* species – opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 2:43-56. <https://doi.org/10.1038/nrmicro797>
- Hernández, D. C, Vazquez B. J. A., Vazquez M. F., Berdeja, A. R., Morales F. S. D., Reyes L. D. (2019). Abundancia y diversidad genética de *Fusarium oxysporum* y *Trichoderma* s pen Musa AAB. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10(8): nov/dic 2019. <https://doi.org/10.29312/remexca.v10i8.1831>

- Castro, Rodríguez, J.M. Toledo, Díaz. A.M., Rodríguez, Galón. B., Perdomo, Molina. A., Rodríguez, E.M y Díaz, Romero. C. (2015). Caracterización morfológica y composición química de chayotas (*Sechium edule*). Cultivadas en las islas Canarias. (España). Caracas. ISSN. <https://doi.org/10.14198/inturi2011.1.01>
- Marcello, C.M., A.S. Steindorff, S.P. Silva, R.N. Silva, L.A.M. Bataus, and C.J. Ulhoa. (2010). Expression analysis of the exo-p-1,3-glucanase from the mycoparasitic fungus *Trichoderma asperellum*. Microbiological Research 165:75-81. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2008.08.002>
- Martínez S. C. (2010). Etiología e incidencia de hongos asociados al manchado de cálices de Jamaica (*Hibiscus sabdariffa* L.) en Guerrero, México.
- Martínez Silva, K.L., Allende-Molar R., Vázquez Luna D., Gonzalez-Cárdenas, J.C y Murguía Gonzalez. (2016). Antagonistas in vitro de *Trichoderma asperellum* contra *Fusarium sp.* agente causal de gomosis en cítricos, Agroproductividad 9 (6): 20-25 Marques
- Torres-De la Cruz, M., C.F. Ortiz-García, C. Bautista-Muñoz, J.A. Ramírez-Pool, N. Ávalos-Contreras, S. Cappello-García (2015). Diversidad de *Trichoderma* en el agroecosistema cacao del estado de Tabasco, México. Revista Mexicana de Biodiversidad 86:947-961. <https://doi.org/10.1016/j.rmb.2015.07.012>
- Vargas-Hoyos, H.A, y E. Gilchrist-Ramelli. (2015). Producción de enzimas hidrolíticas y actividad antagónica de *Trichoderma asperellum* sobre dos cepas de *Fusarium* aisladas de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*). Revista Mexicana de Micología 42:9-16. <https://doi.org/10.17533/udea.acbi.14245>

Copyright © 2022 Julio César González Cárdenas, Blanca Esther Raya Cruz, Francisco Javier Piña Ramírez, Fabián Enríquez García y Esperanza Patricia Velázquez García.



Este texto está protegido por una licencia [Creative Commons 4.0](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/).

Usted es libre para Compartir —copiar y redistribuir el material en cualquier medio o formato— y Adaptar el documento —remezclar, transformar y crear a partir del material— para cualquier propósito, incluso para fines comerciales, siempre que cumpla la condición de:

Atribución: Usted debe dar crédito a la obra original de manera adecuada, proporcionar un enlace a la licencia, e indicar si se han realizado cambios. Puede hacerlo en cualquier forma razonable, pero no de forma tal que sugiera que tiene el apoyo del licenciante o lo recibe por el uso que hace de la obra.

[Resumen de licencia](#) - [Textocompletodelalicensia](#)