



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO INTERDISCIPLINARIO DE INVESTIGACIÓN PARA EL
DESARROLLO INTEGRAL REGIONAL



UNIDAD SINALOA

Fertilización y microorganismos antagonistas en el control de *Alternaria* spp. en el cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO DE
MAESTRIA EN
RECURSOS NATURALES Y MEDIO AMBIENTE

PRESENTA

ANNEL VALDEZ ANGULO

GUASAVE, SINALOA; MEXICO DICIEMBRE DE 2022



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

CARTA DE AUTORIZACIÓN DE USO DE OBRA PARA DIFUSIÓN

En la Ciudad de México el día 16 del mes de Noviembre del año 2022, la que suscribe Annel Valdez Angulo alumna del programa de Maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente con número de registro B200389, adscrita al CIIDIR Unidad Sinaloa manifiesta que es autora intelectual del presente trabajo de tesis bajo la dirección del Dr. Adolfo Dagoberto Armenta Bojórquez y el Dr. Miguel Ángel Apodaca Sánchez y cede los derechos del trabajo intitulado "Fertilización y microorganismos antagonistas en el control de *Alternaria* spp. en el cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi", al Instituto Politécnico Nacional, para su difusión con fines académicos y de investigación.

Los usuarios de la información no deben reproducir el contenido textual, gráficas o datos del trabajo sin el permiso expresado del autor y/o directores. Este puede ser obtenido escribiendo a las siguientes direcciones de correo annelvaldez.05@gmail.com; aarmenta@ipn.mx; apodacasma@yahoo.com.mx. Si el permiso se otorga, al usuario deberá dar agradecimiento correspondiente y citar la fuente de este.

Annel Valdez Angulo

Annel Valdez Angulo



**INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO**

SIP-14
REP 2017

ACTA DE REVISIÓN DE TESIS

En la Ciudad de Guasave, Sinaloa siendo las 3:21 horas del día 18 del mes de noviembre del 2022 se reunieron los miembros de la Comisión Revisora de la Tesis, designada por el Colegio de Profesores de Posgrado de: CIIDIR, UNIDAD SINALOA para examinar la tesis titulada:

Fertilización y microorganismos antagonistas en el control de *Alternaria* spp. en el cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi del (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	Valdez	Apellido Materno:	Angulo	Nombre (s):	Annel
-------------------	--------	-------------------	--------	-------------	-------

Número de registro: B 2 0 0 3 8 9

Aspirante del Programa Académico de Posgrado: Maestría en Recursos Naturales y Medio Ambiente

Una vez que se realizó un análisis de similitud de texto, utilizando el software antiplagio, se encontró que el trabajo de tesis tiene 17 % de similitud. **Se adjunta reporte de software utilizado.**

Después que esta Comisión revisó exhaustivamente el contenido, estructura, intención y ubicación de los textos de la tesis identificados como coincidentes con otros documentos, concluyó que en el presente trabajo SI NO **SE CONSTITUYE UN POSIBLE PLAGIO.**

JUSTIFICACIÓN DE LA CONCLUSIÓN:

El porcentaje de similitud es alto (17%), las similitudes se encuentran en el apartado de metodología y materiales.

****Es responsabilidad del alumno como autor de la tesis la verificación antiplagio, y del Director o Directores de tesis el análisis del % de similitud para establecer el riesgo o la existencia de un posible plagio.**

Finalmente, y posterior a la lectura, revisión individual, así como el análisis e intercambio de opiniones, los miembros de la Comisión manifestaron APROBAR SUSPENDER NO APROBAR la tesis por UNANIMIDAD o MAYORÍA en virtud de los motivos siguientes:

Cumple con los requisitos establecidos en el Reglamento de Posgrado del IPN y el trabajo de investigación cumplió con los objetivos establecidos y a los cuales se les dio seguimiento durante las evaluaciones tutoriales.

Director de Tesis
Dr. Adolfo Dagoberto Armenta Rodríguez

2º Director de Tesis (en su caso)
Dr. Miguel Ángel Apodaca Sánchez

COMISIÓN REVISORA DE TESIS

Dr. José Luis Acosta Rodríguez

MA ANTONIA QUINTERO VAZQUEZ

M.C. María Antonia Quintero Vázquez

Dr. Cipriano García Gutiérrez

Dr. Juan Carlos Sainz Hernández
PRESIDENTE DEL COLEGIO DE PROFESORES



INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL SECRETARÍA DE INVESTIGACIÓN Y POSGRADO

SIP-13
REP 2017

ACTA DE REGISTRO DE TEMA DE TESIS Y DESIGNACIÓN DE DIRECTOR DE TESIS

Guasave, Sinaloa, de del

El Colegio de Profesores de Posgrado de en su Sesión

(Unidad Académica)

No. celebrada el día del mes de conoció la solicitud presentada por el (la) alumno (a):

Apellido Paterno:	Valdez	Apellido Materno:	Angulo	Nombre (s):	Annel
-------------------	--------	-------------------	--------	-------------	-------

Número de registro:

del Programa Académico de Posgrado:

Referente al registro de su tema de tesis; acordando lo siguiente:

1.- Se designa al aspirante el tema de tesis titulado:

Fertilización y microorganismos antagonistas en el control de *Alternaria* spp. en el cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi

Objetivo general del trabajo de tesis:

Evaluar la fertilización nitrogenada y cepas nativas de *Trichoderma* y *Bacillus* para el control biológico de *Alternaria* spp. en arándano en condiciones de invernadero.

2.- Se designa como Directores de Tesis a los profesores:

Director: 2° Director:

No aplica:

3.- El Trabajo de Investigación base para el desarrollo de la tesis será elaborado por el alumno en:

que cuenta con los recursos e infraestructura necesarios.

4.- El interesado deberá asistir a los seminarios desarrollados en el área de adscripción del trabajo desde la fecha en que se suscribe la presente, hasta la aprobación de la versión completa de la tesis por parte de la Comisión Revisora correspondiente.

Director(a) de Tesis

Dr. Adolfo Dagoberto Armenta Bojórquez

Aspirante

Annel Valdez Angulo
IB. Annel Valdez Angulo

2° Director de Tesis

Dr. Miguel Ángel Apodaca Sánchez

Presidente del Colegio

Dr. Juan Carlos Saliz Hernández

CIIDIR IPN
UNIDAD SINALOA
DIRECCIÓN

Este trabajo fue realizado en el laboratorio de Nutrición Vegetal perteneciente al Departamento de Biotecnología Agrícola del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Sinaloa del Instituto Politécnico Nacional bajo la dirección del Dr. Adolfo Dagoberto Armenta Bojórquez y el Dr. Miguel Ángel Apodaca Sánchez. El presente trabajo fue apoyado económicamente a través del proyecto SIP-IPN con los números de registro 20221858 y 20211166, del cual el Dr. Adolfo Dagoberto Armenta Bojórquez es responsable técnico. La alumna Annel Valdez Angulo agradece el apoyo económico brindado por el Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por la beca otorgada durante la realización de este trabajo con clave 1088140, así como al IPN por la beca BEIFI (Becas de Estímulos Institucional de Formación de Investigadores).

DEDICATORIA

A mi ángel, comenzaste este trayecto conmigo, pero partiste en el camino, gracias por enseñarme a ser una mejor persona. Te amo Mama Mary, espero y sigas orgullosa de mí... tu reina. Contigo y con Dios siempre cuidándome no me hace falta nada, es para ustedes este éxito.

A mis pilares de vida, dos personas que tienen mi respeto y mi admiración, ser su orgullo siempre es uno de mis primeros propósitos y espero seguirlo siendo siempre, agradecer es poco por todo lo que me han dado, pero sé que todo mi esfuerzo y dedicación vale la pena al verlos apoyarme. Ana Elena Angulo y Martin Alberto Valdez. Los Amo.

Martin y Alison por ser mi compañía siempre mi apoyo en esta vida, los amo gracias por todas las risas y apoyo que nos damos entre nosotros, ser su hermana es uno de los mejores regalos y la mejor compañía que tengo junto con el Hashi.

A mi mamá Chela por su amor y apoyo y siempre darme esa sonrisa y abrazo que necesito. Mi compañera en varias de mis etapas de vida, nina Chayito este esfuerzo logrado fue también gracias a usted las amo.

Familia Valdez y Fam. Angulo son un apoyo fundamental y un ejemplo a seguir para mí, es hermoso ser parte de un grupo de personas que siempre estamos apoyándonos. Los quiero demasiado.

AGRADECIMIENTOS

Agradezco en primera instancia al Instituto y a mi director de tesis de Dr. Adolfo Dagoberto Armenta Bojórquez, por llegar a confiar sin conocerme y aceptarme en su equipo de trabajo, agradezco sus enseñanzas, consejos y mucha paciencia, además del apoyo que me brindo en mi estancia de maestría, todos los días fue aprender algo nuevo.

A mi comité tutorial integrado por el Dr. Miguel Ángel Apodaca Sánchez, Dr. José Luis Acosta Rodríguez, Dr. Cipriano García Gutiérrez, MC. María Antonia Quintero Vázquez, gracias por su apoyo en estos años de estudio y por sus conocimientos compartidos.

A la M.C. María Antonia Quintero Vázquez, brindándome sus conocimientos en su ámbito profesional y siempre sus experiencias, maestra es uno de mis ejemplos a seguir, gracias por todo su apoyo.

Al M.C. Julián Galaviz por su apoyo técnico en el laboratorio, además de sus conocimientos y apoyo en la realización de los análisis en este proyecto.

A mis profesores, durante estos cinco semestres otorgaron su conocimiento a mi desarrollo profesional, aprender con ustedes siempre fue un gusto.

A mis compañeros y amigos del CIIDIR una pieza clave en esta trayectoria; Madeline, Mary Carmen, Jesús Ramón, Fernando, Lilia, Alejandra Carrasco, Luis, Christopher, Dalia, Juan Luis gracias por su apoyo fuimos el soporte mutuo, gracias por las risas y por escucharme.

A mis amigos Sonia, Edith Astrid, Roxiny, Víctor, Edith ustedes siempre están y estuvieron en el proceso, apoyándome y aconsejándome y cuando no podía mas siempre me motivaban, decirles que los quiero es poco, son mi familia, gracias por su amistad.

Alumnos de prácticas profesionales y servicio social Eduardo, Irin Raúl, gracias por su apoyo en el laboratorio y por siempre interesarse en el proyecto, gracias amigo y primo.

Personas que están presentes en mi vida y que fueron de gran apoyo para animarme a continuar con este trabajo, gracias son pieza clave.

ÍNDICE

GLOSARIO	X
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE CUADROS	XII
RESUMEN.....	XIII
ABSTRACT.....	XIV
1. INTRODUCCIÓN	1
2. ANTECEDENTES.....	3
2.1 Generalidades del arándano	3
2.1.1 Origen del arándano	3
2.1.2 Descripción taxonómica	3
2.2 Importancia económica.....	3
2.2.1 Producción en México.....	3
2.2.2 Producción en Sinaloa	3
2.3 Requerimientos agroclimáticos	4
2.3.1 Suelo	4
2.3.2. Clima.....	4
2.4. Hidroponía como sistema de producción	4
2.5 Solución nutritiva.....	5
2.5.1 Relación mutua entre aniones y cationes.....	5
2.5.2. Relación $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ en las plantas.....	5
2.6. Problemática fitopatológica en el cultivo de arándano.....	6
2.6.1. <i>Alternaria</i> spp. en el cultivo de arándano	6
2.6.2. Generalidades de <i>Alternaria</i> spp.....	7
2.7. Métodos de control de enfermedades	8
2.7.1 Control químico.....	8
2.7.2. Control biológico	8
2.7.3. Nutrición vegetal y resistencia a enfermedades de las plantas	9
2.8. <i>Trichoderma</i> spp. como agente biocontrol.	9
2.8.1. Mecanismos de acción <i>Trichoderma</i>	9
2.8.2. Competencia por nutrientes	10
2.8.3. Promoción del crecimiento vegetal.....	10
2.8.4. Inducción de resistencia.....	10
2.8.5. Cepas de <i>Trichoderma</i> spp como biocontrol de enfermedades..	11

2.9.	<i>Bacillus</i> spp.	11
2.9.1	<i>Bacillus</i> spp. como biocontrol.....	11
2.9.2.	Producción de auxinas	12
3.	JUSTIFICACIÓN	13
4.	HIPÓTESIS	14
5.	OBJETIVOS	15
5.1.	OBJETIVOS ESPECIFICOS	15
6.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	16
6.1.	Material vegetal.....	16
6.2.	Aislamiento de <i>Bacillus</i> spp.	16
6.3.	Aislamiento <i>Trichoderma</i> spp.....	16
6.4.	Muestreo fitopatológico en plantas de arándano	17
6.4.1.	Aislamiento de hongos patógenos	17
6.4.2.	Cultivos puros de patógenos	17
6.5.	Prueba de patogenicidad de <i>Alternaria</i> spp en el cultivo de arándano	17
6.6.	Selección de <i>Trichoderma</i> spp. para el control de <i>Alternaria</i> spp. <i>in vitro</i> . .	18
6.7.	Determinación de Ácido Indol Acético para <i>Trichoderma</i> spp.	18
6.8.	Selección <i>Bacillus</i> spp contra <i>Alternaria</i> spp. <i>in vitro</i>	19
6.9.	Producción de ácido indol acético de <i>Bacillus</i> spp.	19
	Tratamientos y diseño experimental	19
6.10.	Relación de nitratos y amonio en la solución nutritiva en condiciones de hidroponía para arándanos.....	20
6.10.1.	Variables fisiológicas de evaluación:.....	21
6.10.2.	Análisis nutrimental del follaje.....	21
6.11.	Fertilización con <i>Trichoderma</i> spp., <i>Bacillus</i> spp., en el control de <i>Alternaria</i> spp. en el cultivo de arándano.....	23
6.11.1.	Suspensión de microorganismos	23
6.11.2.	Experimento de la interacción de la mejor fertilización con <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Bacillus cereus</i> en el control de <i>Alternaria alternata</i> en plantas de arándano.....	24
6.11.3.	Parámetros de evaluación:.....	25
7.	RESULTADOS.....	25
7.1.	Aislamiento de cepas de <i>Trichoderma</i> spp. nativos de Sinaloa.....	25
7.2.	Aislamiento de <i>Bacillus</i> spp. de la región de Sinaloa.	27
7.3.	Aislamiento e identificación morfológica de <i>Alternaria</i> spp.....	27

7.4. Análisis de patogenicidad de aislados de <i>Alternaria</i> spp. en plantas de Arándano (<i>Vaccinium corymbosum</i> L.)	29
7.5. Confrontación <i>in vitro</i> <i>Trichoderma</i> spp. contra el patógeno <i>Alternaria</i> spp.	32
7.6. Confrontación <i>in vitro</i> <i>Bacillus</i> spp. contra el patógeno <i>Alternaria</i> spp.	34
7.7. Cuantificación de ácido indol 3-acético (AIA) en <i>Trichoderma</i> spp y <i>Bacillus</i> spp.....	35
7.8. Efecto de la relación de NO ₃ ⁻ / NH ₄ ⁺ en plantas de arándano cv. Biloxi.	36
7.8.1. Variables fisiológicas en plantas de arándano cv. Biloxi.....	36
7.9. Concentración nutrimental foliar en la etapa vegetativa	37
7.10. Evaluación de fertilización con <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Bacillus cereus</i> en el control de <i>Alternaria alternata</i> en condiciones de hidroponía en invernadero.....	38
7.11. Experimento de evaluación nitrogenada, <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Bacillus cereus</i> en el control de <i>Alternaria alternata</i> en plantas de arándano en hidroponía.....	39
8. DISCUSIÓN	42
9. CONCLUSIONES.....	48
10. BIBLIOGRAFÍA	49

GLOSARIO

Virulencia: Grado de patogenicidad determinada por el microorganismo en un huésped susceptible.

Severidad: Medición de daños causadas por alguna enfermedad ocasionada por microorganismo.

Hidroponía: Técnica de producción cuando el suelo no es apto para los cultivos o hay una escasez donde se suministra la nutrición por medio de soluciones nutritivas y se establece en un sustrato inerte.

Sustrato: Material sólido distinto del suelo, inerte, dándole capacidad a las plantas de establecerse y desarrollar su sistema radicular.

Hospedero. Organismo al cual se le aloja algún parásito o patógeno.

Nitrógeno: Elemento principal en la nutrición de los cultivos suministrado en dos formas iónicas. Elemento esencial para el crecimiento de las plantas.

pH: potencial de Hidrogeno.

Fialides: Se presenta en ciertos hongos, proyectándose desde el micelio siendo una célula conidiogena que produce conidios blasticos de forma basipeta.

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Crecimiento macroscópico y microscópicos de aislados <i>Trichoderma</i> spp	26
Figura 2. Crecimiento de micelio de aislados de <i>Trichoderma</i> spp.....	27
Figura 3. Frutos y hojas de cultivos de arándano de la región de Sinaloa.	28
Figura 6. Eruebas de patogenicidad de las cepas encontradas de <i>Alternaria</i> spp.....	30
Figura 7. Planta de arándano con cepa más virulenta de <i>Alternaria</i> spp., comparada con la planta sin inoculación del patógeno.	31
Figura 10. Porcentaje de producción de auxinas (AIA) de <i>Bacillus</i> spp	36
Figura 12. Experimento de la evaluación de la altura de planta interacción nitrogenada, <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Bacillus cereus</i> en el control de <i>Alternaria alternata</i> en plantas de arándano.....	38
Figura 13. Experimento de evaluación de peso seco interacción nitrogenada, <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Bacillus cereus</i> en el control de <i>Alternaria alternata</i>	39
Figura 14. Efecto del porcentaje de infección del patógeno <i>A.alternata</i> en la evaluación nitrogenada, <i>T.harzianum</i> y <i>B. cereus</i> en plantas de arándano.	41
Figura 15. Sintomatología del patógeno <i>A. alternata</i> en el cultivo de arándano tratamiento con fertilización en NO ₃	41

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Relación aniones y cationes para tratamientos en base a la solución nutritiva universal de Steiner (1984).	20
Cuadro 2. Tratamientos del Experimento de fertilización, <i>Trichoderma</i> y <i>Bacillus</i> en el control de <i>Alternaria alternata</i> en arándano.	24
Cuadro 3. Grado de severidad en la prueba de patogenicidad utilizando hojas dañadas de plantas del cultivo de arándano cv. Biloxi.	31
Cuadro 4. Porcentaje de incidencia de enfermedad causada por las cepas de <i>Alternaria</i> spp. en planta de arándano.....	31
Cuadro 5. Capacidad antagónica de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Alternaria</i> spp. <i>in vitro</i>	32
Cuadro 6. Medias de crecimiento de hongo patógeno por inhibición de aislado de bacterias <i>Bacillus</i> spp. vs <i>Alternaria</i> spp.	34
Cuadro 6. Variables fisiológicas en el efecto de la relación de $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ en plantas de arándano cv. Biloxi.	37
Cuadro 7. Concentración nutrimental foliaren arándano cv. Biloxi en etapa vegetativa por efecto de relación nitratos y amonio en la solución universal Steiner.....	37
Cuadro 8. Concentración nutrimental la interacción de fertilización, <i>Trichoderma harzianum</i> y <i>Bacillus cereus</i> en el control de <i>Alternaria</i> spp en plantas de arándano.	41

RESUMEN

El arándano es originario de América del Norte, perteneciente al género *Vaccinium* destacando *V. corymbosum* L. Sinaloa es uno de los estados líderes en la producción de arándano. Se establece en condiciones de hidroponía con sustratos inertes en macetas, con riego localizado y soluciones nutritivas para darle los requerimientos nutricionales adecuados a la planta. Es un cultivo susceptible a enfermedades fungosas que alteran el desarrollo de la planta, acortando su vida productiva, y afectando su producción. Esta situación conduce a realizar el presente trabajo de investigación que tiene como objetivo conocer la interacción de diferentes relaciones de nitratos y amonio con especies de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. nativas de Sinaloa aplicadas de manera preventiva para el control de la enfermedad causada por *Alternaria* spp. en el cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en condiciones de laboratorio e invernadero. Los resultados mostraron que la cepa de *Trichoderma harzianum* T0 destacó por su capacidad antagonista *in vitro* contra el patógeno *Alternaria alternata* y su capacidad de sintetizar AIA ($25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). La cepa de *Bacillus cereus* B18 presentó mayor halo de inhibición como antagonista *in vitro* contra el patógeno *Alternaria alternata*. y sintetizar AIA ($15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). En el experimento de nutrición en plantas se evaluaron diferentes relaciones de nitratos y amonio, seleccionándose el tratamiento de 0:100 $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$. En la evaluación de parámetros fisiológicos, el tratamiento combinado de *B. cereus* y *T. harzianum* y fertilización nitrogenada en forma de NH_4^+ contra *A. alternata* incrementó significativamente la altura de la planta (75.75 cm), peso seco de biomasa (17.5 g), respecto al tratamiento de nutrición en forma de NO_3^- sin microorganismos se obtuvo en peso seco (5.48 g). El uso combinado de *T. harzianum* y *B. cereus* potencian el efecto antagonista contra el patógeno obteniendo un control de 100% de la enfermedad.

ABSTRACT

The blueberry is native to North America, belonging to the *Vaccinium* genus, highlighting *V. corymbosum* L. Sinaloa is one of the leader states in blueberry production. Its production is under hydroponic conditions with inert substrates in pots, with localized irrigation and nutritive solutions to give the plant the adequate nutritional requirements. The blueberry is a crop susceptible to fungal diseases that will alter its development, shorten its productive life, and affect the plant and its production. This situation leads to carry out the present research work whose objective is to know the interaction of different relations of nitrates and ammonium with species of *Trichoderma* spp. and *Bacillus* spp. natives of Sinaloa applied preventively to control the disease caused by *Alternaria* spp. in blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.) cultivation under laboratory and greenhouse conditions. The results showed that the *Trichoderma* strain (T0) stood out for its in vitro antagonistic capacity against the pathogenic *Alternaria* spp. and its ability to synthesize AIA ($25 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). The strain of *Bacillus* spp. B18 has a greater inhibition zone as an in vitro antagonist against the pathogenic *Alternaria* spp. and synthesize AIA ($15 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$). In the evaluation of physiological parameters, the combined treatment of *B. cereus* and *T. harzianum* and nitrogen fertilization in the form of NH_4^+ against *A. alternata* significantly increased plant height (75.75 cm), biomass dry weight (17.5 g), regarding the nutrition treatment in the form of NO_3^- without microorganisms, it was obtained in dry weight (5.48 g). The combined use of *T. harzianum* and *B. cereus* enhance the antagonistic effect against the pathogen, obtaining 100% control of the disease.

1. INTRODUCCIÓN

El cultivo de arándano en la actualidad ha adquirido una gran importancia por su valor nutricional y demanda de producción a nivel mundial. El arándano, es un fruto de un arbusto perenne, nativo del hemisferio norte, perteneciente a la familia Ericáceas y al género *Vaccinium* (Retamales y Hancock, 2011). México es uno de los principales países productores y exportadores a nivel mundial, a nivel nacional, destacan los estados Jalisco, Michoacán y Sinaloa, en el año 2021 se logró un máximo histórico de 50 mil toneladas exportadas ocupando el sexto lugar a nivel mundial, exportando principalmente la fruta al país de Estados Unidos (SIAP, 2021).

Se han reportado enfermedades causadas por fitopatógenos en México causantes de daños en el cultivo, alterando su desarrollo, acortando su vida productiva en planta y afectando la calidad y cantidad de fruta en producción. Mondragón *et al.*, (2012) reportaron hongos que afectan a la parte aérea de la planta de arándano en la región de Michoacán, destacando el fitopatógeno *Alternaria* spp. presente en la sintomatología de pudrición de fruto, manchas foliares y atizonamiento de tallo.

El control de dicho patógeno actualmente se lleva a cabo por el control químico, teniendo impactos negativos al ambiente. El uso de microorganismos se ha considerado como alternativa para el control de plagas y enfermedades causadas por fitopatógenos utilizando como preventivos. El control biológico es reconocido por ser un mejor método para optimizar las actividades de las especies benéficas y conseguir una reducción de daños de ciertas plagas y enfermedades; ya que se utilizan hongos y bacterias que presentan efectos antagónicos contra otros microorganismos (Cañedo *et al.*, 2011).

Los hongos del género *Trichoderma* son utilizados por su actividad antagónica para el control de fitopatógenos. (Verma *et al.*, 2007, Woo *et al.*, 2006). Las bacterias del género *Bacillus*, cuentan con una alta actividad antagonista en las que destacan los mecanismos de competencia por espacio y nutrientes y producción de compuestos antibióticos inhibidores (Cawoy *et al.*, 2011). Ambos microorganismos en conjunto y por separado han sido reportados como capaces de

controlar el patógeno *Alternaria alternata* en el cultivo de tomate hasta un 80% *in vitro* y en planta, además de inducir resistencia sistemática a las plantas mediante la inducción de hormonas de crecimiento y enzimas de defensa contra agentes fitopatógenos (Ramírez, 2018).

Además del uso de microorganismos, la nutrición del cultivo mediante soluciones nutritivas que permitan plantas vigorosas y hacer que esta exprese su máximo potencial productivo, hace menos susceptibles al ataque de enfermedades. La cantidad y forma de nitrógeno utilizada en la nutrición puede favorecer o no a la presencia de las mismas. La mayor superficie establecida en el mundo y en México de este cultivo es en suelo, sin embargo, en Sinaloa se produce arándanos principalmente en condiciones de hidroponía con sustratos inertes en macetas, con riego localizado (Retamales, 2011).

Con base a lo anterior, y a la falta de información en el cultivo de arándano y sus enfermedades que afectan al fruto y a la planta, se realizará el presente trabajo de investigación que tiene como objetivo generar conocer el efecto de la fertilización nitrogenada y cepas nativas de *Trichoderma* y *Bacillus* para el control de *Alternaria* spp. en arándano en condiciones de invernadero.

2. ANTECEDENTES

2.1 Generalidades del arándano

2.1.1 Origen del arándano

El arándano se encuentra ubicado en un grupo de especies ampliamente distribuidas por el Hemisferio norte, *V. corymbosum* L. originario de la costa este de América del Norte. Es una de las especies con mayor superficie cultivada en el mundo por presentar calidad en el fruto. Las plantas del cultivo pueden llegar a alcanzar una altura de 2,5 m (García Rubio *et al.*, 2007).

2.1.2 Descripción taxonómica

El arándano es clasificado taxonómicamente de acuerdo con Retamales y Hancock, (2011) de la siguiente manera:

Reino: Vegetal

Clase: Dicotiledónea

Orden: Ericales

Familia: Ericáceas

Género: *Vaccinium*

Especie: *Vaccinium corymbosum* L.

2.2 Importancia económica

2.2.1 Producción en México

La producción del arándano en México se ha convertido en un producto frutícola con mayor interés para el productor por la aceptación del consumidor por su valor nutritivo y actividad antioxidante de la fruta (Hernández, 2014). México es posicionado en el sexto lugar a nivel mundial por ser productor y exportador, su principal comprador es Estados Unidos, además de exportarse a 37 naciones (SIAP, 2021).

2.2.2 Producción en Sinaloa

En la región de Sinaloa la producción de la frutilla ha incrementado en los últimos 10 años, la producción es en hidroponía, situándose en el tercer lugar en producción a nivel nacional produciéndose más de 8,000 toneladas en el año 2021 (SIAP, 2021).

2.3 Requerimientos agroclimáticos

2.3.1 Suelo

El cultivo requiere suelos franco-arenosos, con un buen sistema de drenado con capacidad de retención de materia orgánica dado a que favorece el desplazamiento de agua hacia las raíces. El pH del mismo debe de ser ácido en un rango de 4.5-5.5. Su humedad relativa es alta, pero sin llegar a saturación ya que es un cultivo muy frágil con una sofocación radicular (Carrera, 2019).

2.3.2. Clima

El cultivo requiere horas frías para su óptimo desarrollo y crecimiento sus temperaturas óptimas son menores a 7 °C, para cumplir su receso invernal y romper la dormancia, cuando se rompe la latencia se vuelven sensibles a las temperaturas bajas, cuando las temperaturas son altas las yemas trascienden a demostrar daño vascular produciendo necrosis en el área afectada (Undurraga *et al.*, 2018).

2.4. Hidroponía como sistema de producción

Un sistema hidropónico cuenta con la técnica para producir plantas en un medio artificial inerte el cual se agrega una solución nutritiva; agua o fertilizante para proveer los requerimientos necesarios de nutrición al cultivo. El medio sólido es para fijar las raíces y dar un soporte adecuado para el crecimiento necesario de la planta (Sánchez, 2009).

La hidroponía es utilizada con un sustrato cercano a las condiciones “ideales” (inerte, durable y con buena porosidad), obteniéndose un equilibrio de agua, aire y nutrientes para que las raíces tengan la capacidad de crecer, este sistema es controlado por el productor agregando la cantidad necesaria de nutrientes a los cultivos, a diferencia de lo que puede esperarse cuando se cultiva en suelo (Sánchez y Escalante, 1988).

2.5 Solución nutritiva

En necesidad de los cultivos por elementos esenciales para el óptimo crecimiento y desarrollo en una disolución en agua, se originó lo que se conoce como solución nutritiva. La composición química de una solución nutritiva, de acuerdo con Steiner (1961), está determinada por a) relación mutua de aniones, b) relación mutua de cationes, c) concentración iónica total y d) pH.

El crecimiento de las plantas y el desarrollo depende de varios factores, siendo el más importante la relación adecuada de la concentración total de iones (Steiner, 1966), expresada por presión osmótica de la solución nutritiva, una propiedad fisicoquímica que depende de la cantidad de partículas o solutos disueltos. Un aumento de la presión osmótica debido al incremento en el contenido de nutrientes o de otros iones en la solución nutritiva provoca que la planta realice un esfuerzo mayor para absorber agua y algunos nutrientes y por consiguiente un desgaste de energía metabólica (Gastelum-Osorio, 2013).

2.5.1 Relación mutua entre aniones y cationes

El balance de aniones consiste no sólo en la cantidad absoluta de cada uno de ellos, sino, una relación cuantitativa que se encuentra entre los cationes y aniones. Respecto a la concentración de un ion, uno de los problemas es la relación que se encuentra a los otros dos iones de su misma carga eléctrica; una relación inadecuada entre los iones pudiera presentar una disminución en el rendimiento (Steiner, 1968). La planta demanda nutrimentos en una relación mutua entre aniones y entre cationes dependiendo de la etapa fenológica. El cambio de una etapa fenológica a otra es por cambios en la actividad bioquímica y en la reestructuración del metabolismo primario de la planta (Valenzuela *et al.*, 1993).

2.5.2. Relación $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ en las plantas

El nitrógeno es el elemento mayor demandado en la mayoría de los cultivos una deficiencia o un incremento en la cantidad suministrada a la planta puede llegar a causar desbalances nutrimentales a los cultivos, la mayoría de los cultivos prefieren tomar el nitrógeno en forma de NO_3^- para su crecimiento, mientras que al

NH_4^+ es una forma más fácil de asimilar para las plantas, aunque puede ser perjudicial para el crecimiento de muchas especies si se absorbe como única fuente de nitrógeno (Zhou *et al.*, 2011).

Especies vegetales crecen de mejor manera cuando se suministra el nitrógeno en forma de nitratos NO_3^- , ya que es la fuente más común de nitrógeno utilizada en las soluciones nutritivas para sistemas hidropónico, sin embargo, la asimilación del mismo, en comparación del amonio la planta sufre un gasto mayor de energía, debido a una serie compleja de reacciones metabólicas las cuales implica un gasto de energía más alto, llegando hasta representar el 15% de la energía total de la planta (Chapin *et al.*, 1987).

2.6. Problemática fitopatológica en el cultivo de arándano

La susceptibilidad a las enfermedades causadas por patógenos es común en el cultivo de arándano, alterando el desarrollo de la planta, acortando la vida productiva y afectando la calidad y cantidad de producción por planta (García, 2007). En México el patógeno *Alternaria* (*Alternaria* spp.) es una de las enfermedades más reportadas como principal patógeno presente en el fruto y afectando el sistema foliar de las plantas. En el mundo, principalmente en Argentina y Chile, *Alternaria* es presente caracterizando molecularmente las especies *Alternaria alternata* y *Alternaria tenuissima*. Los hongos del género *Alternaria* aparecen en las plantas con manchas foliares y tamaño variable, iniciando por el ápice y siguiendo a los bordes hasta alcanzar una necrosis y pérdida de la hoja totalmente, continuando la infección a los tallos y aparecer en los frutos pudriéndolos y afectando la producción total (Rivera *et al.*, 2009).

2.6.1. *Alternaria* spp. en el cultivo de arándano

Wright *et al.*, (2004) citan que de los numerosos patógenos que afectan al cultivo de arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) en Argentina, *Alternaria tenuissima* es el principal causante de las patologías con mayor incidencia y prevalencia.

Luan *et al.*, (2007) observaron por primera vez síntomas en el cultivo de arándanos maduros (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Bluecrop y Covoville en Dalian, China. Se realizó un aislamiento de órganos de la planta que presentaban sintomatología, se realizaron los postulados de Koch para tener más seguridad en el patógeno encontrado llegando a la conclusión que los cultivos aislados de plantas inoculadas tenían los mismos rasgos morfológicos que los que se aislaron previamente de las plantas de campo. Las descripciones morfológicas y medidas fueron similares a *Alternaria tenuissima*.

Mondragón-Flores *et al.*, (2012) realizaron la identificación morfológica de hongos asociados a la sintomatología presente en hojas, tallos y frutos del arándano y determinaron su incidencia en el estado de Michoacán. Siendo *Colletotrichum* y *Alternaria* los que presentaron mayor frecuencia apareciendo en la pudrición de fruto, manchas foliares y causante de atizonamiento.

Alternaria tenuissima se caracteriza por aparecer en el campo causando pérdida total de la planta, afectando tanto hoja y tallo y frutos maduros. Su principal vía de entrada de *Alternaria* al fruto es a través de la cicatriz peduncular que se produce durante la recolección de la fruta en la cosecha. El principal signo de esta enfermedad es la aparición de micelio blanco en alguna de las heridas, que entre 2 o 3 días aumenta el micelio llegando a cubrir y pudrir de forma total el fruto. La fruta infectada se vuelve blanda y arrugada (Ramallo *et al.*, 2009).

2.6.2. Generalidades de *Alternaria* spp.

El género *Alternaria* está presente en el ambiente desempeñando un número de funciones en su interacción con otros microorganismos. Se ha estudiado por ser uno de los principales parásitos en plantas, logrando la pérdida total de la planta y por ende la producción (Mamgain *et al.*, 2013).

Alternaria spp. se caracteriza por la producción de conidióforos simples y erectos, en cuyo extremo se forman cadenas simples o ramificadas de conidios. Los conidios o dictiosporas son multicelulares, de color pardo y con septos tanto transversales como longitudinales (Pavón *et al.*, 2015) Se han encontrado varias especies en el género *Alternaria*, clasificándose en seis grupos *A. alternata*, *A. tenuissima*, *A.*

arborescens, *A. rossae*, *A. porri*, *A. infectoria* de acuerdo a las claves taxonómicas y sus características de crecimiento (Simmons, 2007).

Es un fitopatógeno que afecta a cultivos agrícolas principalmente en su desarrollo fisiológico hasta el fruto en pos-cosecha, por ser un hongo que afecta la biomasa aérea, es capaz de llegar a una pérdida de follaje total afectando la producción cuando se encuentra las condiciones adecuadas con una humedad relativa mayor del 75%, una temperatura de 21-27°C, aparecen conidios que se pueden trasladar por el viento, agua, contacto etc. Cuando *Alternaria* es observada en la planta es porque la planta llegó a presentar condiciones de estrés y carecimiento de nutrición y así da lugar a la reproducción del hongo (Alcedo *et al.*, 2018).

2.7. Métodos de control de enfermedades

Las enfermedades pueden ser controlados por diferentes métodos dependiendo de la enfermedad, el patógeno y la planta siendo hospedero, la interacción establecida entre este triángulo y los síntomas que se presenten, se toma en cuenta el método adecuado para el control de la enfermedad antes de que se encuentre una pérdida total y no se logre el control. Los métodos de control más utilizados son: biológico, químico y cultural (Agrios, 2005; Cañedo, 2011).

2.7.1 Control químico

En la agricultura moderna el uso de fungicidas son la principal herramienta utilizada para el control de enfermedades de fitopatógenos, utilizados de manera preventiva y cuando se presenta los primeros síntomas, el uso continuo de estos ha creado que el microorganismo a controlar presente resistencia a los fungicidas utilizados (Agrios, 2005).

2.7.2. Control biológico

Con la finalidad de reducir el uso de fertilizantes y fungicidas en sistemas agrícolas integrales, existe una gran variedad de microorganismos usados como elementos biológicos de control de enfermedades por interferir en la biología de los microorganismos patógenos de plantas denominados agentes de biocontrol. Los

cuales han sido reportados por ser capaces de reducir daños provocados por agentes patógenos y promover respuestas de defensas a la planta, las interacciones que se llevan a cabo entre la planta y la comunidad microbiana es utilizada como medio de control para suprimir el desarrollo de patógenos (Dukare *et al.*, 2011).

2.7.3. Nutrición vegetal y resistencia a enfermedades de las plantas

El manejo de nutrición a través de la fertilización es un control que afecta en las enfermedades de las plantas ya que una nutrición deficiente puede llegar a estresar a la planta y provocar que sea apta para el crecimiento de un patógeno, la nutrición balanceada es ideal para el soporte de estrés y ser más tolerantes a enfermedades; es decir, tienen mayor capacidad para protegerse de nuevas enfermedades y de poder controlar las ya existentes, que cuando uno o más nutrimentos son abastecidos en cantidades excesivas o deficientes (Martínez *et al.*, 2010).

2.8. *Trichoderma* spp. como agente biocontrol.

Trichoderma spp. es caracterizado por su capacidad antagónica, al encontrarse en la rizosfera se utiliza en la agricultura de plantas, tanto para el control de enfermedades como promotor de crecimiento, se caracterizan por ser saprofitos encontrándose en suelos con pH ligeramente ácido, género caracterizado por ser promotor de crecimiento de plantas, la interacción de la planta con el hongo se relaciona con una mejor disponibilidad de nutrientes disponibles, además de metabolitos incluyendo auxinas que mejoran el crecimiento de plantas (Martínez-Medina *et al.*, 2011)

2.8.1. Mecanismos de acción *Trichoderma*

El mecanismo de control biológico por las diferentes especies de *Trichoderma* se basa en el organismo regulador en el que se presente, el patógeno y el medio donde se tenga las condiciones adecuadas para el establecerse, el microorganismo es capaz de intervenir mediante mecanismos directos e indirectos,

el mecanismo de acción depende de la especie de *Trichoderma* y la capacidad de especificidad que tiene en el organismo regulador (Chaparro *et al.*, 2011).

2.8.2. Competencia por nutrientes

Trichoderma tiene la capacidad de adaptación a sustratos y colonizar en condiciones adversas con la finalidad de sobrevivir, en forma de clamidosporas, se caracteriza por ser resistente a compuestos químicos utilizados en el sector agrícola como: herbicidas, pesticidas y fungicidas, la velocidad de crecimiento abundante y rápida esporulación y su adaptación a la amplia gama de sustratos sobre los cuales es capaz de crecer, ya que posee una cantidad de enzimas que lo hacen un excelente agente de control biológico. Es por esto que la competencia por el espacio y/o nutrientes con otro organismo en el suelo ha sido notoria el impacto positivo de *Trichoderma* spp. como control de patógenos que se encuentren en los cultivos. (Infante, 2009).

2.8.3. Promoción del crecimiento vegetal

Trichoderma spp. coloniza la raíz de la planta, desintegrando metabolitos para la descomposición de materia orgánica, produciendo ácidos orgánicos reduciendo el pH, solubilizando el fósforo del medio, sintetizando reguladores de crecimiento (Garrido, 2016).

La capacidad que tiene las especies del género *Trichoderma* es la habilidad de producir factores de crecimiento, como auxinas, citoquininas y etileno. Los metabolitos secundarios como auxinas juegan un papel importante para la producción de crecimiento de las plantas en la interacción planta-*Trichoderma*. La producción de fitohormonas se ha evidenciado que se involucran en desarrollar a las plantas por la estimulación provocada (Castro y Rivillas, 2013).

2.8.4. Inducción de resistencia

La resistencia que se refleja en las plantas es por la presencia de microorganismos en la rizosfera respondiendo como defensa ante patógenos que se encuentren en el cultivo, las plantas ejercen una protección a la presencia de fitopatógenos y protegerse mediante la activación del sistema inmune de la planta. El aumento de la concentración de metabolitos y enzimas son relacionados con los mecanismos de defensa (Mukherjee, 2013).

2.8.5. Cepas de *Trichoderma* spp como biocontrol de enfermedades

Linares (2018) realizó un enfrentamiento *in vitro* con cepas de *Trichoderma* nativos de la región de Michoacán frente al patógeno *Fusarium* spp. el cual provocó la marchitez de la raíz en el cultivo de arándano de la región, evaluando los mecanismos de acción de *Trichoderma*; competencia por espacio, el micoparasitismo y antibiosis logrando controlar la enfermedad hasta un 80% *in vitro*.

Ramírez-Cariño *et al.*, (2020) evaluó la efectividad de los agentes de biocontrol entre ellos *Trichoderma asperelloides* *in vitro* e *in vivo* para controlar dos de las enfermedades más importante de las plantas de tomate: marchitez vascular (*Fusarium oxysporum*) y tizón temprano (*Alternaria alternata*). Evaluándose en confrontaciones duales, evaluando la efectividad de los bio controladores logrando un control de dichos patógenos en el cultivo.

2.9. *Bacillus* spp.

2.9.1 *Bacillus* spp. como biocontrol

Las bacterias de este género cuentan con características especiales entre las que destaca la capacidad de formar endosporas capaces de sobrevivir en el suelo prefiriendo suelos ricos en sustratos orgánicos (Villareal *et al.*, 2018). Su capacidad de colonizar la rizosfera de las plantas ha demostrado la capacidad de ser eficaces en el control de patógenos, debido a la producción de sustancias como hormonas, antibióticos y otros metabolitos que le dan la capacidad de ser utilizadas además como promotores de crecimiento (PGPR).

En el caso de promoción de crecimiento, cepas de *Bacillus* aisladas de la región de Sinaloa se evaluaron contra diferentes patógenos causantes de la enfermedad de la rabia en el garbanzo encontrándose que son capaces de promover el crecimiento y controlar la enfermedad en el cultivo (Galaviz, 2020).

Ramírez-Cariño *et al.*, (2020) evaluó la bacteria de *Bacillus paralicheniformis* *in vitro* e *in vivo* para controlar dos de las enfermedades más importantes de las plantas de tomate: marchitez vascular (*Fusarium oxysporum*) y tizón temprano (*Alternaria alternata*). Concluyendo que *B. paralicheniformis* protegió a las plantas del ataque de *A. alternata* a través de la inducción de la resistencia sistémica de la planta.

2.9.2. Producción de auxinas

El sistema radicular del cultivo de arándano carece de pelos radiculares, por lo tanto, la estimulación de raíces jóvenes son las encargadas de absorber agua y nutrientes, entre los microorganismos ciertas bacterias y hongos son capaces de promover el crecimiento en la planta por su capacidad de segregar fitohormonas beneficiando a las plantas. Las fitohormonas promotoras de crecimiento vegetal como lo es la auxina; Acido Indol Acético (AIA) se ha reportado que induce la formación y la producción de raíces, logrando una mayor captación de nutrientes (Lara *et al.*, 2011).

En la actualidad, se utilizan auxinas sintéticas sin embargo las auxinas como AIA son sintetizadas por microorganismos como bacterias del género *Bacillus* spp. reportadas en diversos estudios como productores de AIA (Prado, 2013). Así mismo, el uso de los hongos del género *Trichoderma* spp., han sido reportados como capaces de promover el crecimiento de plantas. Dichos géneros han sido utilizados en conjunto y por separado en diversos cultivos como biofertilizantes además de controlar enfermedades causadas por fitopatógenos (Ramírez, 2018).

3. JUSTIFICACIÓN

El cultivo de arándano es susceptible a enfermedades causadas por patógenos como *Alternaria* spp., de las principales en la región causando pérdidas en la producción afectando al fruto y a la parte aérea de la planta. En la región de Sinaloa el hongo se presenta en la temporada de cosecha debido a las condiciones climáticas causando pérdida total del fruto y presencia en las hojas causando la pérdida de follaje y por ende biomasa aérea, no se ha logrado el control del patógeno debido a que se utiliza el control químico, sin embargo, ha generado resistencia hacia estos productos, que tienen un impacto negativo al ambiente.

Estudios recientes han demostrado que el uso de microorganismos antagonistas ha sido una alternativa para el control de enfermedades utilizándose como preventivos, además de una nutrición adecuada a la planta se mantiene vigorosa y con capacidad de resistencia a patógenos. El uso de microorganismos aislados de la región donde se presenta el problema podría ser una alternativa por la capacidad de adaptarse a las condiciones climáticas y tener un impacto positivo al controlar la enfermedad.

La introducción del cultivo de arándano al norte del estado conlleva a conocer sus condiciones ideales de adaptación a la tasa de transpiración y evaporación, además de las condiciones de fertilización en hidroponía para agregar una nutrición más adecuada que mantenga vigorosa las plantas y con ello menos susceptibles a enfermedades.

4. HIPÓTESIS

Una relación adecuada de nitratos y amonio con cepas nativas de *Trichoderma* y *Bacillus* controlan el patógeno de *Alternaria* spp. y mejoran la nutrición de la planta

5. OBJETIVOS

Evaluar la fertilización nitrogenada y cepas nativas de *Trichoderma* y *Bacillus* para el control de *Alternaria* spp. en arándano en condiciones de invernadero.

5.1. OBJETIVOS ESPECIFICOS

1. Seleccionar cepas de *Bacillus* y *Trichoderma* nativas de Sinaloa como antagonistas al patógeno *Alternaria* spp. y productores de auxinas en arándano en condiciones *in vitro*.
2. Encontrar la mejor relación de nitratos y amonio en la solución nutritiva en condiciones de hidroponía para arándanos.
3. Conocer la mejor interacción de fertilización con *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. en el control de *Alternaria* spp. en condiciones de hidroponía en invernadero.

6. MATERIALES Y MÉTODOS

Localización y descripción del área experimental.

Para llevar a cabo los experimentos se utilizaron los invernaderos del Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Regional Unidad Sinaloa (CIIDIR- IPN Unidad Sinaloa).

6.1. Material vegetal

Para pruebas en el invernadero se utilizaron plantas de arándano cv. Biloxi, etapa vegetativa. Se estableció un sistema hidropónico con fibra de coco como sustrato en bolsas de plástico usadas como macetas con capacidad de 25 L.

Muestreo de suelo y raíces de cultivos en el norte de Sinaloa para el aislamiento de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp.

Se realizaron muestreos de suelo de la rizosfera de cultivos de los valles de Guasave y Ahome. Para la toma de muestras, se tomó la porción de suelo con raíces de cultivos. Las muestras fueron transportadas al laboratorio de Nutrición Vegetal del CIIDIR- Sinaloa.

El secado fue a temperatura ambiente para realizar aislamiento de *Bacillus* spp y *Trichoderma* spp.

6.2. Aislamiento de *Bacillus* spp.

El aislamiento de cepas bacterianas se realizó mediante el método utilizado por Ohba y Aizawa 1986; descritas y modificadas de acuerdo Galaviz, 2020. Las cepas aisladas fueron sometidas a pruebas de tinción de Gram y observadas en un microscopio biológico para comprobar la pureza y determinar las características morfológicas de los mismos, los aislados fueron preservados en tubos con medio agar nutritivo para ser utilizados.

6.3. Aislamiento *Trichoderma* spp.

Los aislados de *Trichoderma* spp. se obtuvieron mediante la técnica reportada por Papavizas y Davey (1959). Se utilizó medio de cultivo PDA para mantenerse e identificarse morfológicamente mediante el reconocimiento de las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1972); Bisset (1991) y Von Arx (1981). Los

aislados se mantuvieron Los aislados (monoconidiales) puros se crio conservaron a -20 °C en tubos con PDA más CaCO₃ y glicerol al 15% para su posterior análisis de identificación molecular a nivel género y especie.

6.4. Muestreo fitopatológico en plantas de arándano

Para la determinación de la importancia de la enfermedad causada por el hongo fitopatógeno *Alternaria* spp., se realizaron muestreos de campos del cultivo de arándano de la región del noroeste de Sinaloa. Se tomaron muestras de hojas con lesiones irregulares de 1 a 5 mm de diámetro color grisáceo y rodeado por un marrón rojizo. Frutos maduros cortados fueron seleccionados con un daño característico al patógeno de acuerdo bibliografía, con un ablandamiento y con micelio verde grisáceo en el extremo de la cicatriz del tallo o del cáliz. Las muestras se colocaron en bolsas de papel Kraft y se identificaron con el nombre del campo y fecha del muestreo, para posteriormente ser trasladadas al laboratorio de Nutrición Vegetal del CIIDIR-Unidad Sinaloa.

6.4.1. Aislamiento de hongos patógenos

Los tejidos sintomáticos de hojas, tallos y frutos se cortaron en trozos pequeños (5 × 5 mm) y se realizó un proceso de desinfección para sembrarse en medio PZA. (Liu *et al.* 2017). Se incubó durante 7 días (18-25°C) al ambiente laboratorio.

6.4.2. Cultivos puros de patógenos

Las colonias de los hongos aislados fueron seleccionadas y purificadas en caja Petri con medio PDA. Posteriormente se tomó una hifa, se transfirió a medio de cultivo agua-agar, por medio de la técnica de punta de hifa se dejó crecer por 24 h y se sembró en medio PZA (Papá-Zanahoria-Agar) específico para el patógeno de interés.

Las colonias obtenidas se identificaron morfológicamente y microscópicamente mediante literatura especializada.

6.5. Prueba de patogenicidad de *Alternaria* spp en el cultivo de arándano

Estas pruebas de inoculación y re-aislamiento del fitopatógeno es importante para confirmar que efectivamente *Alternaria* spp está asociado con la enfermedad presente en la región de Sinaloa en plantas de arándano. Las plantas fueron elegidas aleatoriamente.

Las plantas fueron colocadas en bolsas con sustrato. Se hizo una aspersión del patógeno con una suspensión de conidios a una concentración de 1×10^6 conidios/ml. Finalmente, las plantas fueron cubiertas con una bolsa de plástico transparentes durante 15 días para mantener una humedad del 70% aproximado (Pane *et al.*, 2015). La temperatura promedio en el invernadero fue de 30-37 °C.

Se evaluó la severidad del patógeno en plantas de arándano basándose en la escala realizada por Edquen *et al.*, (2019).

6.6. Selección de *Trichoderma* spp. para el control de *Alternaria* spp. *in vitro*.

Se realizó una prueba de antagonismo mediante confrontaciones duales de ambos microorganismos (Cherif y Benhamou, 1990). Se realizó el procedimiento de confrontación de extremo a extremo colocándose el patógeno siete días antes que los microorganismos benéficos, los discos fueron de 0.6 cm de diámetro. Para evaluar el crecimiento de cada organismo durante 7 días se midió el crecimiento con un calibrador Vernier. Todos los hongos se incubaron a $28 \pm 4^\circ\text{C}$ en constante obscuridad. La evaluación se realizó midiendo el crecimiento de cada microorganismo durante 7 días con un Vernier (TRUPER).

La clasificación antagónica de las cepas se realizó a los siete días de crecimiento en las placas de Petri, según la escala de capacidad antagónica *in vitro* para *Trichoderma* spp. de Baker y Cook, utilizada por Bell *et al.* (1982).

Se evaluaron siete tratamientos (dos aislados y cinco cepas identificadas de *Trichoderma* de la colección del laboratorio de Nutrición vegetal CIIDIR Unidad Sinaloa), con tres repeticiones en un diseño completamente al azar. Cada repetición consistió en una caja Petri.

6.7. Determinación de Ácido Indol Acético para *Trichoderma* spp.

La capacidad de síntesis del ácido indol acético (AIA) de las 7 cepas de *Trichoderma* spp. se evaluó mediante la prueba de Gordon & Weber 1951. Adicionando la solución Salkowski que detecta derivados del indol. Los tubos eppendorf se llevaron a oscuridad durante 30 minutos, esperando una coloración de amarillo a rosado.

6.8. Selección *Bacillus* spp contra *Alternaria* spp. *in vitro*

El efecto antagonista de los aislados de bacterias del género *Bacillus* spp., fue por medio de confrontación dual. Las cepas de los aislados de *Bacillus* spp., fueron inoculados en los extremos de la caja Petri la cepa del fitopatógeno *Alternaria* spp. fue colocado en el centro de la caja usando un disco de agar. El experimento se mantuvo en observación hasta que el patógeno creciera en toda la caja del control.

6.9. Producción de ácido indol acético de *Bacillus* spp.

Los aislados de bacterias obtenidos fueron evaluados para determinar el potencial de la biosíntesis de ácido indolacético (IAA) en presencia de triptófano (precursor de la biosíntesis del AIA) por el método de Salkowski de acuerdo a Gordon & Weber (1951) y modificado por (Glickmann y Dessaux, 1995). La reacción de Salkowski con los sobrenadantes se cuantificó espectrofotométricamente a 540 nm.

Se seleccionaron las cepas de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp. que tenga más PICR (Porcentaje de Inhibición del Crecimiento Radial) y AIA para su posterior evaluación en plantas de arándanos.

Tratamientos y diseño experimental

Los bioensayos *in vitro* se utilizaron los tratamientos de las cepas disponibles, pero con cuatro repeticiones cada una, se realizaron 3 veces para tener más confiabilidad de los resultados, evaluándose en un diseño completamente al azar. El experimento en invernadero de selección de la mejor fertilización se utilizaron 5 tratamientos de diferentes relaciones de **NO₃⁻ y NH₄ (%)** con 4 repeticiones cada uno, evaluándose en un periodo de 50 días evaluándose en un diseño

completamente al azar. El experimento de inoculación del patógeno se utilizaron 8 tratamientos con cuatro repeticiones cada uno en plantas de arándanos.

6.10. Relación de nitratos y amonio en la solución nutritiva en condiciones de hidroponía para arándanos.

Establecimiento del experimento

En el invernadero se establecieron macetas blancas como recipientes hidropónicos con capacidad de 30 L, con resistencia a rayos UV. Las macetas se rellenaron con sustrato inerte fibra de coco. Las plantas se establecieron a una distancia entre hileras de 1.0 m y 0.3 m entre planta, sobre bloques de cemento.

Tratamientos

Durante quince días de establecido el cultivo, todas las plantas se regaron con solución nutritiva universal de Steiner (1961) con el propósito de homogeneizar el crecimiento vegetal.

Posteriormente se realizaron ajustes de la misma para diferentes tratamientos, modificándose la relación de aniones y cationes, los tratamientos aplicados fueron cinco soluciones nutritivas con diferente relación NO_3^- y NH_4^+ (%): 100:0, 75:25, 50:50, 25:75, 0:100, utilizando un pH de 5.0 - 5.5.

Cuadro 1. Relación aniones y cationes para tratamientos en base a la solución nutritiva universal de Steiner (1984).

NO_3	H_2PO_4	SO_4	K	Ca	Mg	NH_4	Tratamiento (solución nutritiva relación de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$)
mEq/l	mEq/l	mEq/l	mEq/l	mEq/l	mEq/l	mEq/l	
12	1	7	7	9	4	0	100:0
9	1.3	9	5.9	7	3	3	75:25
6	1.7	12	4.9	6.3	2	6	50:50
3	2.12	14	4.2	5.4	2.4	9	25:75
0	1.5	10.5	5.6	7.2	3.2	12	0:100

Se prepararon en garrafones de 20 L de capacidad, donde fueron agregados las cantidades de fertilizantes requeridos de acuerdo a cada tratamiento. Los fertilizantes utilizados fueron: fosfato monopotásico, sulfato de magnesio, nitrato de calcio, sulfato de potasio, sulfato de amonio. Los suministros en cada tratamiento fueron de 500 ml.

6.10.1. Variables fisiológicas de evaluación:

Las variables respuesta a evaluar fueron; altura de planta, ramificaciones y brotes, inflorescencia y frutos, peso seco de hojas y raíces.

Altura de la planta

Para evaluar la altura, se midió con una cinta de medir desde el inicio del tallo hasta la yema apical.

Peso seco follaje

El follaje fue secado al horno a 80 °C por 24 horas. Posteriormente se pesó y se trituro para realizar los análisis foliares.

Peso seco raíces

Las raíces fueron secado al horno a 80 °C por 24 horas. Posteriormente se pesó y se trituro para realizar los análisis foliares.

Brotes

Se realizó un conteo de brotes a partir del cuello del brote al ápice de la última hoja, se contaron los números de brotes nuevos.

6.10.2. Análisis nutrimental del follaje.

Los análisis de nutrición se realizaron en el Laboratorio de Nutrición Vegetal, perteneciente al CIIDIR-IPN Unidad Sinaloa. El material vegetal (hojas) se recolecto al finalizar el ensayo.

Determinación de macro y micro elementos presentes en plantas de arándano.

El método de digestión húmeda se realizó por el método de Piper (1942) y Johnson y Ulrich (1959) con las modificaciones de Graham, *et al.*, (1970), Harrison y André (1969) y Kalra (1988).

Digestión húmeda para determinar: N, P, K, Ca, Mg.

En la digestión húmeda para nitrógeno (N) se utilizó la metodología descrita para la digestión de los macronutrientes en matraces Kjeldahl (Galaviz, 2020).

Destilación de Nitrógeno total (NT).

La muestra se digirió en húmedo por el método Kjeldahl. El proceso de destilación se realizó de acuerdo a la metodología utilizada por Galaviz, 2020. Se utilizaron digestores de la marca Labconco®.

Finalmente se realizaron los cálculos de acuerdo a la fórmula:

$$\%N \text{ Total: mL H}_2\text{SO}_4 \times N \text{ del H}_2\text{SO}_4 \times 1.4 / 0.1 \text{g de muestra.}$$

$$\%N \text{ Total: mL H}_2\text{SO}_4 \times N \text{ del H}_2\text{SO}_4 \times 1.4 / 0.1 \text{g de muestra.}$$

Determinación de Fósforo (P).

El proceso de determinación de fósforo se llevó a cabo de acuerdo a la metodología utilizada por Galaviz, 2020. Utilizando un espectrofotómetro a 540 nm. Para leer las muestras.

Este elemento se expresa en porcentaje por lo tanto se empleó la siguiente fórmula para calcularlo: % P=

$$\% P = \frac{\text{Lectura de transmitancia} \times \text{Vol. Digestión} \times \text{Vol. Dilución} \times 100}{\text{Pendiente} \times \text{Peso de la muestra (g)} \times \text{Alícuota}}$$

$$\text{Pendiente} \times \text{Peso de la muestra (g)} \times \text{Alícuota}$$

Determinación de Potasio (K).

El proceso de determinación de fósforo se llevó a cabo de acuerdo a la metodología utilizada por Galaviz, 2020. Se utilizó el flamómetro para leer las

muestras en flamómetro Buck Scientific® (PFP-7) a una absorbancia de 766.5 nm y expresadas en porcentaje de acuerdo a la fórmula siguiente:

$$\% K = \frac{\text{Lectura de transmitancia} \times \text{Vol. Digestión} \times \text{Vol. Dilución} \times 100}{\text{Pendiente} \times \text{Peso de la muestra (g)} \times \text{Alícuota}}$$

Determinación de Calcio (Ca), Magnesio (Mg).

Para calcio y magnesio se utilizó la metodología utilizada por Galaviz, 2020, para ser leídas en el espectro de absorción atómica.

La lectura fue directamente de la digestión inicial fueron registradas mediante espectrómetro de absorción atómica Varian® (SpectrAA 50B) y calculadas en porcentaje de acuerdo a la siguiente formula:

$$\% Ca, Mg = \frac{\text{Absorbancia} \times \text{Vol. Digestión} \times \text{Vol. Dilución} \times 100}{\text{Pendiente} \times \text{Peso de la muestra (g)} \times \text{Alícuota}}$$

6.11. Fertilización con *Trichoderma* spp., *Bacillus* spp., en el control de *Alternaria* spp. en el cultivo de arándano.

6.11.1. Suspensión de microorganismos

Para el hongo de *Alternaria* spp., se creció en caja Petri con medio Papa-Zanahoria-Agar, de un cultivo monosporico propagándose en cajas realizando un barrido de micelio y obteniendo una suspensión con un ajuste de 1.3×10^8 esporas/ml.

El hongo *Trichoderma* spp., se reactivó en medio PDA inoculándose a paja de trigo previamente estéril dejándose de 7 a 10 días hasta obtener la coloración verde para hacer un lavado de esporas, ajustando la concentración a 1×10^9 esporas/ml.

En el caso de bacteria, para el crecimiento y mantenimiento de la cepa de la bacteria se usó el medio de cultivo LB, se realizó una suspensión de 1×10^6 UFC/ml.

6.11.2. Experimento de la interacción de la mejor fertilización con *Trichoderma harzianum* y *Bacillus cereus* en el control de *Alternaria alternata* en plantas de arándano.

La inoculación de los microorganismos antagonistas se colocó la suspensión en las raíces de las plantas primero la suspensión de *Bacillus cereus*, dando espacio para que tuviera la capacidad de adaptarse se inoculo la suspensión del hongo *Trichoderma harzianum* realizándose en un periodo de 30 días, cada semana se realizó la inoculación de los microorganismos utilizándose como preventivos. Se fertilizó con dos soluciones nutritivas diferentes con una relación NO_3^- y NH_4 (%): 100/0 y 0/100.

La inoculación del patógeno se realizó mediante una aspersión de la suspensión de esporas, Con el uso de un atomizador estéril de 500 mL estéril se asperjó la suspensión de micelio de *A. alternata* a razón de 15 ml por planta. Una vez cubierta toda la parte aérea de la planta se cubrieron con bolsas de plástico para crear el microclima ideal de infección para el patógeno con una temperatura de 30°C y una humedad de 70-80.

Cuadro 2. Tratamientos del Experimento de fertilización, *Trichoderma* y *Bacillus* en el control de *Alternaria alternata* en arándano.

# de tratamiento	Tratamiento	Descripción
1	B+T+NH₄	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> y solución nutritiva 100% con NH ₄ .
2	B+NH₄	<i>Bacillus cereus</i> con solución nutritiva 100% de NH ₄ .

3	T+NH ₄	<i>Trichoderma harzianum</i> con solución nutritiva 100% de NH ₄ .
4	NH ₄	Solución nutritiva 100% de NH ₄
5	B+T+NO ₃	<i>Bacillus cereus</i> , <i>Trichoderma harzianum</i> , y solución nutritiva 100% de NO ₃
6	B+NO ₃	<i>Bacillus cereus</i> , y solución nutritiva 100% de NO ₃
7	T+NO ₃	<i>Trichoderma harzianum</i> , y solución nutritiva 100% de NO ₃ .
8	NO ₃	Solución nutritiva 100% de NO ₃

6.11.3. Parámetros de evaluación:

Las variables de respuesta a evaluar fueron; altura de planta, ramificaciones, peso seco de hojas y raíces y severidad del patógeno en porcentaje de daño. Sus evaluaciones se realizaron como se explica en anteriores experimentos.

7. RESULTADOS

7.1. Aislamiento de cepas de *Trichoderma* spp. nativos de Sinaloa

Del muestreo de suelos y raíces de la región de Sinaloa, se obtuvieron dos aislados de *Trichoderma* spp. El crecimiento del micelio en la caja Petri, fue de un color amarillo cambiando a verde, su crecimiento fue en forma de anillos concéntricos, micelio característico al género *Trichoderma* (figura 1), para su confirmación fueron observados en el microscopio y se realizó una selección por

presentar características del género *Trichoderma* de acuerdo Barnett y Hunter (1978).

Los resultados observados en el microscopio de los aislados de *Trichoderma* presentaron conidios, esporas y micelio septado característico al género *Trichoderma* spp. se encontraron fialides con formas alargadas, encontrándose en grupos e individuales.

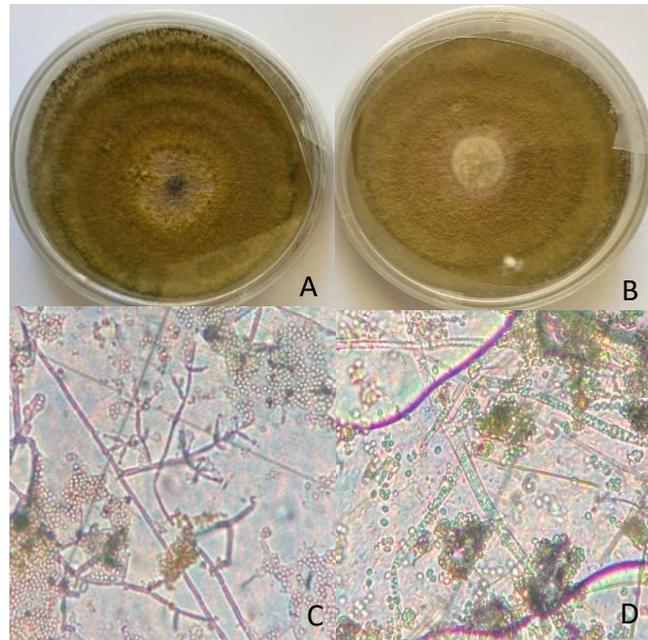


Figura 1. Crecimiento macroscópico y microscópicos de aislados *Trichoderma* spp
A) Crecimiento macroscópico de aislado 71 (*Trichoderma* de soya) B) 6 (*Trichoderma* de soya punto 2) C) Conidios en el microscopio de la cepa 7B se observa un conidióforo sosteniendo a las fialides, además de los conidios (esporas). D) Conidios en el microscopio de la cepa 6B.

Cepas de *Trichoderma* del laboratorio de nutrición vegetal del CIIDIR-IPN unidad Sinaloa se reactivaron para ser evaluadas en el presente trabajo (Figura 2).

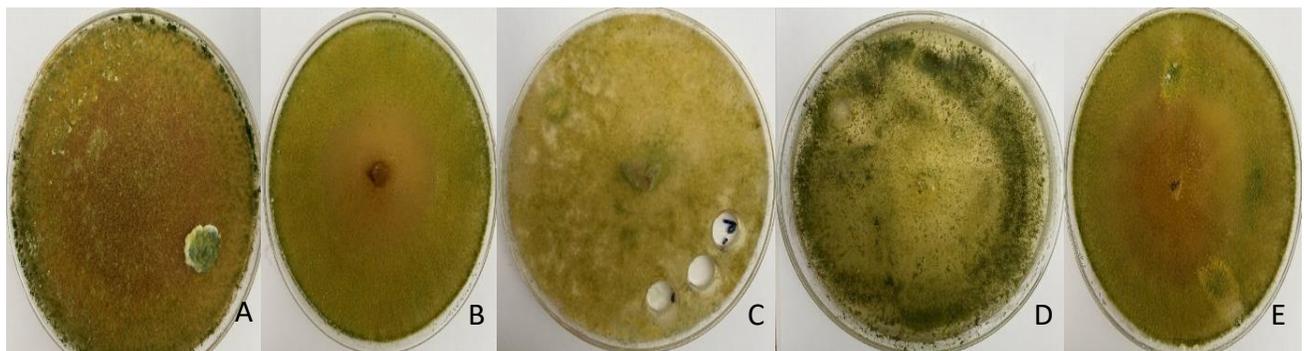


Figura 2. Crecimiento de micelio de aislados de *Trichoderma* spp. A) T1 (*Trichoderma* cepa 1) B) T20 (*Trichoderma* cepa 20) C) T7 (*Trichoderma* cepa 7) D) T21 (*Trichoderma* cepa 21) 5) T0 (*Trichoderma* cepa 0).

7.2. Aislamiento de *Bacillus* spp. de la región de Sinaloa.

Se obtuvieron 7 aislados de *Bacillus* más 3 del laboratorio, se sometieron a prueba de tinción Gram. Para confirmar que se pertenece al género *Bacillus*. En esta prueba se evaluaron los 10 aislados bacterianos mostrando resultados de tinción violeta indicando Gram positivas, se observaron en el microscopio para observar sus características microscópicas y corroborar la pertinencia al género *Bacillus*.

7.3. Aislamiento e identificación morfológica de *Alternaria* spp.

Del muestreo de material enfermo de los cultivos de arándano del norte del estado de Sinaloa, se obtuvieron morfotipos de fitopatógenos, obteniéndose aislados sospechosos de fitopatógenos que atacan al cultivo entre ellos *Alternaria* spp, *Cladosporium* spp, *Fusarium* spp. entre otros. En los frutos de los muestreos se encontró en mayor cantidad el patógeno de interés (Figura 3).

Una cepa monosporica por el método de punta de hifa de cada aislado se utilizó para la identificación y demás propósitos de esta investigación. El crecimiento en caja Petri con medio PCA (Papa-Zanahoria- Agar), de acuerdo con Da Cruz (2018), tras probar diferentes medios, se seleccionó el medio con mejores resultados de crecimiento de diferentes cepas de *Alternaria* spp. crece con la característica de 5-6 cm de diámetro, con un tiempo de 15 días a temperatura de incubadora de 28-30 °C para observar esporas maduras (figura 4).

Los conidios observados en el microscopio y se presentaron en forma alargada con segmentaciones horizontales como verticales. Se obtuvieron cuatro cepas con las características morfológicas y microscopias del género de *Alternaria*

spp., se probaron en pruebas de patogenicidad para encontrar la cepa más virulenta, capaz de causar lesiones en el cultivo de arándano cv. Biloxi.



Figura 3. Frutos y hojas de cultivos de arándano de la región de Sinaloa. Daño en hoja puntos rojos, puntos necrosados de 3 a 5 mm. Fruto con aparición de micelio verde y negro.

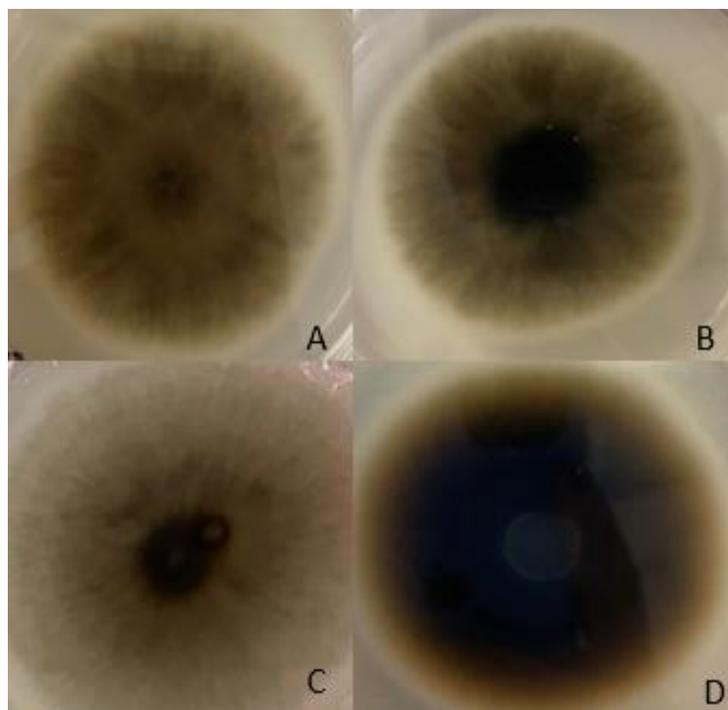


Figura 4. Morfología de micelio de *Alternaria* spp. aislado de cultivo de arándano de la región de Sinaloa (A-D), crecido en un medio PZA (Papa-Zanahoria-Agar).

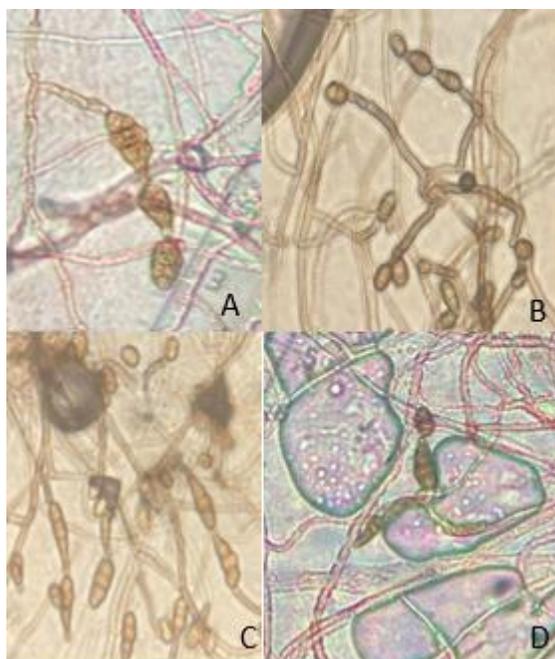


Figura 5. Conidios observados en el microscopio de *Alternaria* spp. A) Micelio típico de *A. alternata* grupo-especie en placa de PZA. B) Micelio de *A. tenuissima* grupo-especie en placa de PZA. C) conidios elipsoidales (*A. alternata*). D) Micelio típico *A. alternata* grupo-especie en placa de PZA.

7.4. Análisis de patogenicidad de aislados de *Alternaria* spp. en plantas de Arándano (*Vaccinium corymbosum* L.)

Se utilizaron plantas con una uniformidad de número de hojas entre 100-70, sin frutos y con una edad de 2 años. El necrosamiento del follaje de arándano se presentó a los 5 días de ser inoculadas con la aspersion de la suspensión de esporas de *Alternaria* spp., fue antecedida por un punto amarillo en los márgenes y en el ápice de las hojas. Al día 21, el necrosamiento una mayor área de daños en las hojas, observándose tejido muerto de color negro (figura 6). Las pruebas de patogenicidad para encontrar a la cepa más virulenta, se llevaron a cabo en la temporada de marzo 2021 con una temperatura de 35-38 °C.



Figura 6. Daño en pruebas de patogenicidad de las cepas encontradas de *Alternaria* spp. con necrosis en hojas principalmente. Temperatura de 35-38 °C. Humedad relativa de 70-80.

En los resultados obtenidos se encontró daños en la planta, ya que se mantuvo con una humedad de 50-55%, las bolsas no fueron retiradas hasta los 21 días de prueba. La cepa más virulenta tuvo distinción a las demás causando mayor daño por la aparición de necrosamiento en las hojas y pérdida de follaje de inicio a fin de la prueba (figura 7).



Figura 7. Planta de arándano con cepa más virulenta de *Alternaria* spp., comparada con la planta sin inoculación del patógeno.

La escala de severidad para seleccionar la cepa más patogénica fue el conteo de hojas totales de la planta y las hojas dañadas basándose en la escala realizada por Edquen *et al.*, (2019) en hojas del cultivo de arándano (tabla 4).

Cuadro 3. Grado de severidad en la prueba de patogenicidad utilizando hojas dañadas de plantas del cultivo de arándano cv. Biloxi.

Grado de severidad	Porcentaje de Infección	Control 1	Control 2	Control 3	Control 4	Planta sin patógeno
# de hojas						
0	0%	0	0	0	0	110
1	1-25%	9	16	7	5	0
2	26-50%	3	8	11	16	0
3	51-75%	1	4	2	13	0
4	76-100%	0	0	0	4	0

Para evaluar la incidencia del patógeno cada planta se seleccionaron 70 hojas siendo el 100% por ser la mínima cantidad de hojas encontradas en una de las plantas utilizadas, fueron elegidas completamente al azar y se realizó un conteo de aquellas hojas que presentaban síntomas de necrosamiento y daño característico por *Alternaria* spp.

Cuadro 4. Porcentaje de incidencia de enfermedad causada por las cepas de *Alternaria* spp. en planta de arándano.

	% de incidencia
Cepa 1	12.8%
Cepa 2	40%
Cepa 3	20%
Cepa 4	44%

Se seleccionó la cepa 4 por presentar mayor porcentaje de incidencia del patógeno.

7.5. Confrontación *in vitro* *Trichoderma* spp. contra el patógeno *Alternaria* spp.

De las muestras recolectadas de suelo para el aislamiento de *Trichoderma* spp. se encontraron dos cepas (6= *Trichoderma* aislado de soya, 71= *Trichoderma* aislado de soya). Se trabajó con aislados de *Trichoderma* spp. del banco de microorganismos del laboratorio de nutrición vegetal con antecedentes en el uso como antagonistas contra los patógenos que afectan al garbanzo (Galaviz, 2020), aislados de la región de Sinaloa, mismo sitio donde se realizaron los muestreos. Los enfrentamientos realizados según el protocolo, se dejó crecer el patógeno *Alternaria alternata* (Alt 1) 7 días antes de colocar las cepas de *Trichoderma* spp. en el medio. Los enfrentamientos presentaron un crecimiento de dos días máximo para el hongo benéfico y las demás cepas en confrontación al sexto día se observaron los halos de inhibición en las cajas Petri por parte de las cepas de *Trichoderma* al patógeno *Alternaria alternata*.

Cuadro 5. Capacidad antagónica de *Trichoderma* spp. contra *Alternaria* spp. *in vitro*

Aislado, escala Bell y Cook (1-5) ¹	Capacidad antagónica
<i>Trichoderma</i> cepa 20	1,3 bc
<i>Trichoderma</i> cepa 1	1,6 b
<i>Trichoderma</i> cepa 71	2,0 b
<i>Trichoderma</i> cepa 0	1,0 c
<i>Trichoderma</i> cepa 7	3,0 a

<i>Trichoderma</i> cepa 21	1,3 bc
<i>Trichoderma</i> cepa 6	2,0 b

¹Según Bell et al. (1982).
 Letras iguales no son diferentes (Tukey $P \leq 0,05$).

Los resultados muestran que hubo diferencia significativa entre los tratamientos evaluados en su capacidad antagónica contra *Alternaria alternata*. (ANOVA; $p \leq 0.05$). Al final de la evaluación (7 días) el 85% de las cepas aisladas se ubicaron en los grados 1 y 2 de la escala de Bell *et al.* (1982) (tabla 6), mostrando valores de efectividad de 1,0 a 3,0. La cepa 7 se ubicó en el grado 3 de la escala, ya que no controló el crecimiento del patógeno. El *Trichoderma* 0 cepa obtenida del laboratorio de Nutrición vegetal identificada molecular como *Trichoderma harzianum* (Galaviz, 2020) presentó una efectividad de 1,0 logrando la inhibición del patógeno *Alternaria alternata*.

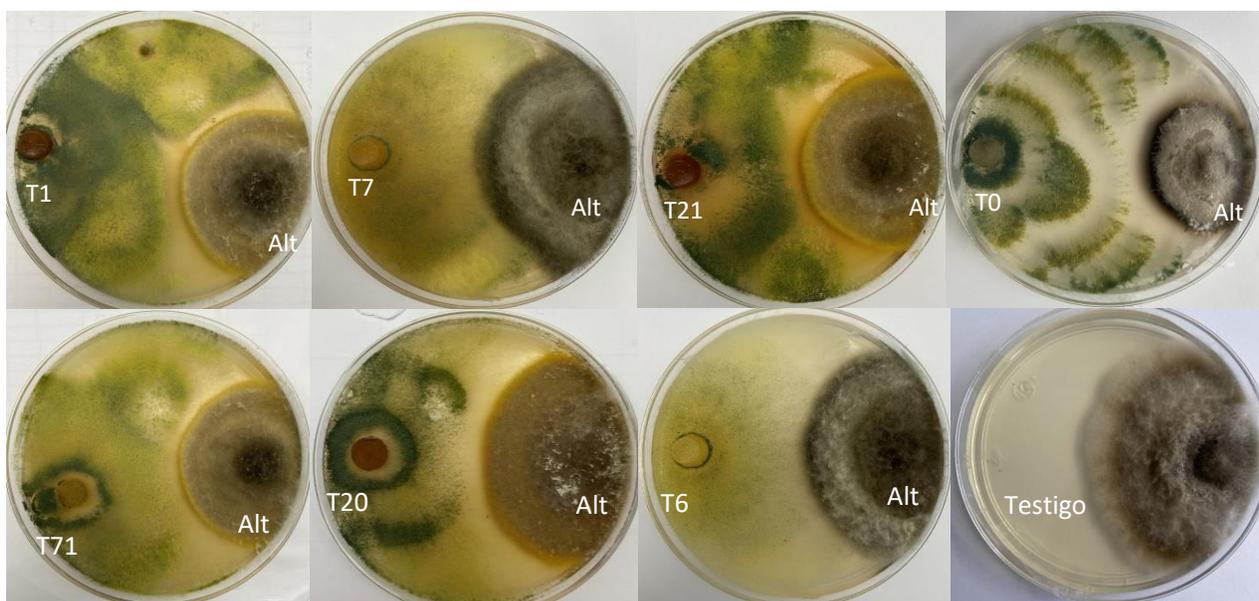


Figura 8. Crecimiento de confrontaciones duales *in vitro* *Trichoderma* spp. frente a *Alternaria* spp.

7.6. Confrontación *in vitro* *Bacillus* spp. contra el patógeno *Alternaria* spp.

Se obtuvieron un total de 7 aislados bacterianos. Se utilizaron tres aislados de bacterias del banco de microorganismos del laboratorio de Nutrición vegetal. En las pruebas de inhibición los aislados presentaron efectividad antagónica. El análisis de varianza mostro diferencias entre los 10 aislados (ANOVA; $p \leq 0.05$). Las medias de los cm de crecimiento del hongo patógeno, vario desde 0,86 cm (B18) hasta 1.86 cm (B07) (tabla 7). La cepa B18 presentó una inhibición del patógeno mayor que a las demás cepas evaluadas, sin embargo, no es diferente significativamente del tratamiento B03, B05, B02. Todos los tratamientos presentaron inhibición ya que el control logró crecer hasta un diámetro de 3.9 cm.

Cuadro 6. Medias de crecimiento de hongo patógeno por inhibición de aislado de bacterias *Bacillus* spp. vs *Alternaria* spp.

Tratamiento	Crec. Patógeno (cm)
B18	0.86 f
B17	1.46 dc
B03	1.0 fe
B04	1.13 de
B05	1.13 fe
B06	1.7 bc
B07	1.86 bc

B23	1.63 bc
B02	1.06 fe
B08	1.5 c
Control	3.9 a

Letras iguales no son diferentes
(ANOVA; $p \leq 0.05$)

7.7. Cuantificación de ácido indol 3-acético (AIA) en *Trichoderma* spp y *Bacillus* spp.

Las cepas evaluadas fueron proporcionadas por el laboratorio de Nutrición Vegetal del CIIDIR-IPN unidad Sinaloa, se optó por utilizar las cepas que presentaron mayor potencial antagonista al patógeno *Alternaria alternata*, los resultados obtenidos mostraron habilidad para sintetizar AIA (Fig. 9). La cepa de *Trichoderma* spp., T0 presento la mayor capacidad de producción de AIA ($25.13 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$), con respecto a las otras cepas evaluadas (ANOVA; $p \leq 0.05$), seguidas de T7, T21, T1 y T71, donde no presentaron una diferencia significativa entre sí.

Se evaluaron cepas de *Bacillus* spp., anteriormente evaluadas como antagonistas contra el patógeno *Alternaria* spp., los aislados resultaron capaces de sintetizar AIA (Fig. 10). La cepa B18 fue la que presento una producción mayor AIA ($14.96 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) con respecto a las demás cepas evaluadas ($P \leq 0.05$). El aislado con menor capacidad de producción fue el aislado B23 ($11.80 \mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$) sin diferencia entre los otros aislados.

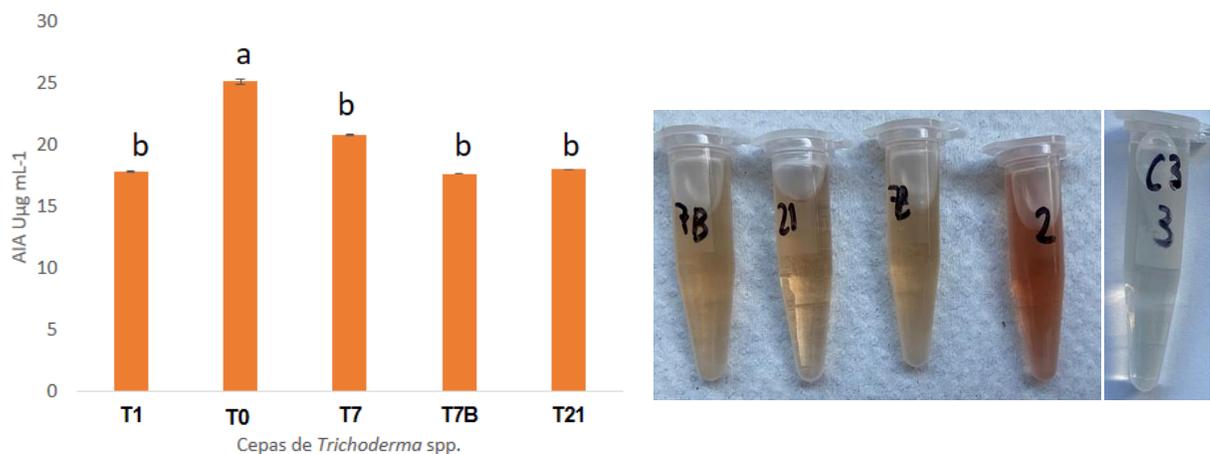


Figura 9. Porcentaje de producción de auxinas (AIA) de *Trichoderma* spp.

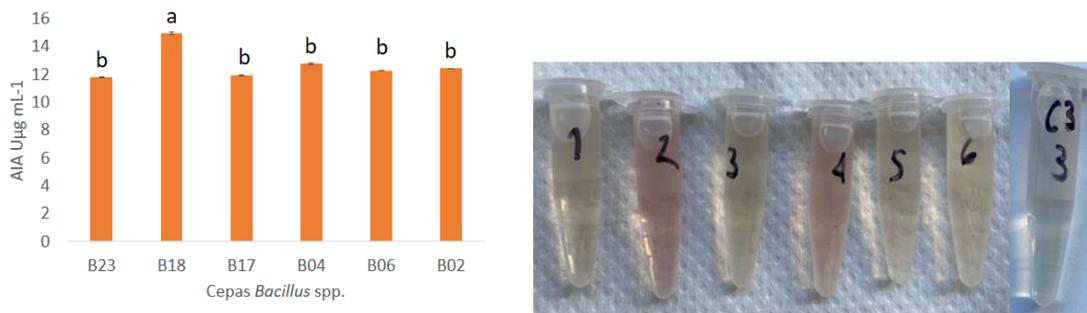


Figura 10. Porcentaje de producción de auxinas (AIA) de *Bacillus* spp

7.8. Efecto de la relación de $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ en plantas de arándano cv. Biloxi.

7.8.1. Variables fisiológicas en plantas de arándano cv. Biloxi.

La variable de respuesta altura de planta presento diferencias estadísticamente significativas al realizar una comparación de media (ANOVA; $p \leq 0.05$), se observaron dos grupos de significancia: el tratamiento 5, con una relación de $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ (0:100) fue estadísticamente superior en altura con una media de 44.75 cm, seguido de los tratamientos 3, 4, 1 y 2, siendo el tratamiento 2 el que presento la media más baja de 33 cm.



Figura 11. Aspecto de plantas de arándano Biloxi en la etapa vegetativa, 60 días después de la aplicación de tratamientos: 1) $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 100:0 2) $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 75:25 3) $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 50:50 4) $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 25:75 5) $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ 0:100.

La variable de ramificaciones presento diferencia significativa entre los tratamientos, el tratamiento 5; $\text{NO}_3^-/\text{NH}_4^+$ (0:100) presento un mayor número de ramificaciones con una media de 20. En la variable de peso seco del follaje se encontraron diferencias significativas entre los tratamientos, el tratamiento 4 y 5 no presentaron diferencias entre sí (cuadro 9), en donde se suministró el nitrógeno en mayor cantidad en forma de amonio.

Cuadro 6. Variables fisiológicas en el efecto de la relación de $\text{NO}_3^- / \text{NH}_4^+$ en plantas de arándano cv. Biloxi.

Tratamiento (solución nutritiva relación de NO_3^- / NH_4^+)	Altura de planta	Peso seco Hoja	Peso seco Raíz	Brotes
100:0	32.25 b	3.045 c	13.56 a	4.5 a
75:25	33.5 b	4.59 b	16.26 a	3 a
50:50	37.25 b	5.03 b	15.63 a	1.5 a
25:75	36 b	6.52 a	16.89 a	2.5 a
0:100	44.75 a	7.62 a	17.68 a	3.75 a

7.9. Concentración nutrimental foliar en la etapa vegetativa

El análisis de varianza indico que existe un efecto en los tratamientos en la concentración foliar de algunos nutrimentos; la concentración de fosforo y potasio no se presentó diferencias estadísticas, pero en el caso de N, Ca y Mg, las diferencias fueron significativas. Para la concentración de Nt foliar las concentraciones encontradas en esta investigación variaron de 1.4-3.1%. Los valores más altos se obtuvieron en la relación 0/100 (T5).

Cuadro 7. Concentración nutrimental foliaren arándano cv. Biloxi en etapa vegetativa por efecto de relación nitratos y amonio en la solución universal Steiner.

Tratamiento (solución nutritiva relación de NO_3^- / NH_4^+)	Nitrógeno Total N	Fosforo P	Potasio K	Calcio Ca	Magnesio Mg
%					
100:0	1.4 d	0.10 a	0.8 a	0.5 b	0.4 d
75:25	2.5 bc	0.10 a	0.8 a	0.4 b	0.5 dc
50:50	2.3 c	0.12 a	0.8 a	0.3 c	0.5 c

25:75	2.8 ab	0.12 a	0.8 a	0.6 b	0.7 b
0:100	3.1 a	0.13 a	0.9 a	0.7 a	0.8 a
Valores óptimos	1.7-2.1	0.08-0.4	0.4-0.65	0.3-0.8	0.4-0.8

7.10. Evaluación de fertilización con *Trichoderma harzianum* y *Bacillus cereus* en el control de *Alternaria alternata* en condiciones de hidroponía en invernadero.

Altura de planta. El tratamiento que mostro la media mayor de altura 75.5 cm, se fertilizó con nitrógeno en manera de NH_4 y agregando *Trichoderma harzianum* al sustrato, obteniendo diferencia significativa a los demás tratamientos, seguido del tratamiento fertilizado con amonio y agregando bacteria *Bacillus cereus* con una media de 59.5 cm. El tratamiento con la menor altura de planta fue el fertilizado con solo NO_3 con una media de 32.4 cm. (Figura 12).

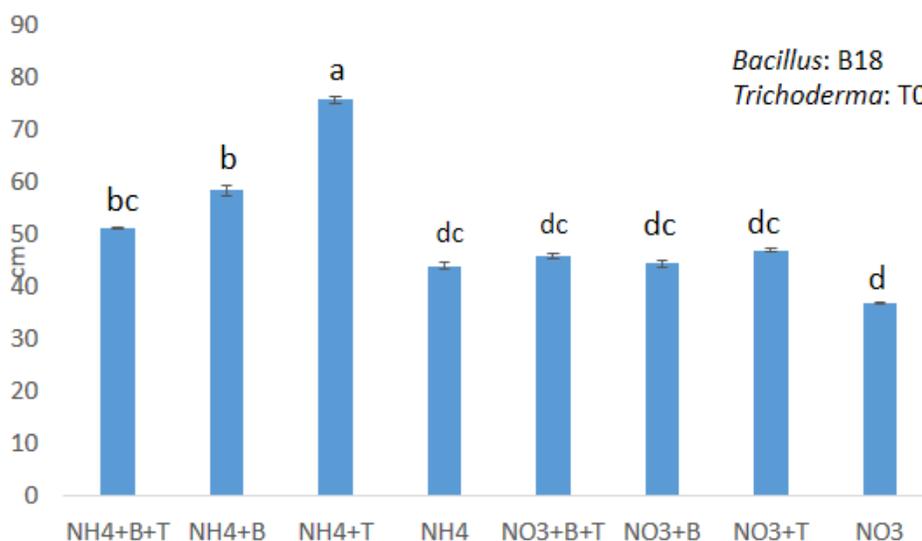


Figura 12. Experimento de la evaluación de la altura de planta interacción nitrogenada, *Trichoderma harzianum* y *Bacillus cereus* en el control de *Alternaria alternata* en plantas de arándano.

Peso seco follaje. Se encontraron diferencia significativa entre los tratamientos evaluados, el tratamiento con fertilización NH_4^+ con *Bacillus* y

Trichoderma presento diferencia significativa a los demás tratamientos con una media de 17.05 g seguido de los tratamientos 2 y 3 (figura 13). El tratamiento con fertilización NO_3^- sin microorganismos fue el que presento menor peso seco con una media de 5.48 g.

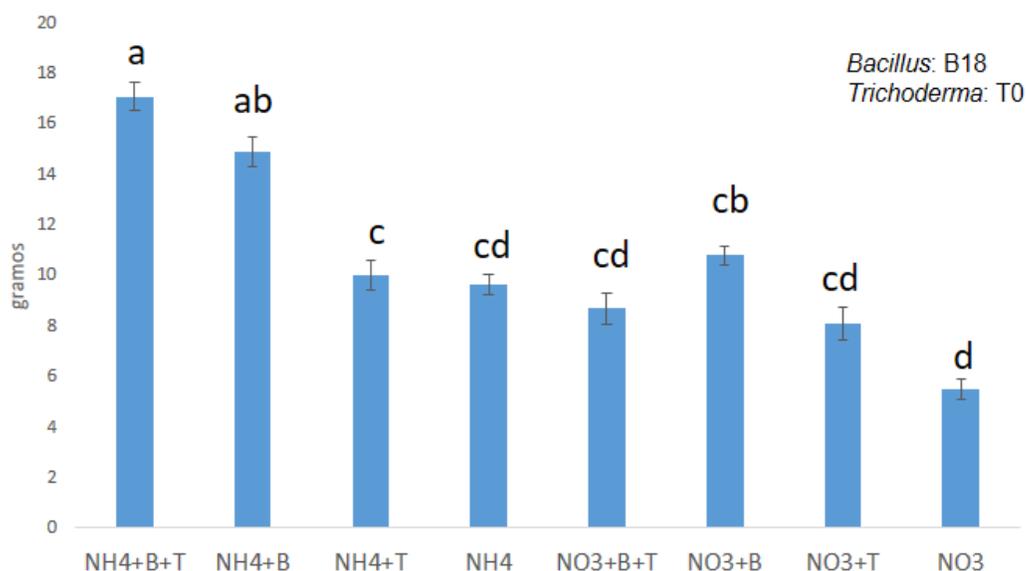


Figura 13. Experimento de evaluación de peso seco interacción nitrogenada, *Trichoderma harzianum* y *Bacillus cereus* en el control de *Alternaria alternata* en plantas de arándano.

7.11. Experimento de evaluación nitrogenada, *Trichoderma harzianum* y *Bacillus cereus* en el control de *Alternaria alternata* en plantas de arándano en hidroponía.

La evaluación del control del patógeno se llevó a cabo en hidroponía con plantas de arándano, los resultados obtenidos señalaron que se logró un control del patógeno ya que en los tratamientos con fertilización $\text{NH}_4+\text{B}+\text{T}$, NH_4+B y NH_4+T no presentaron síntomas del patógeno *Alternaria alternata* (figura 14). En los tratamientos con fertilización NO_3 hubo la presencia del patógeno en donde el tratamiento sin microorganismos presento mayor porcentaje de infección, con

lesiones características al patógeno presentando necrosis y pérdida del follaje (figura 15).

La nutrición adecuada suministrada en manera de NH_4 demostró dar la capacidad de la planta de tener una mejor absorción de nutrientes y presentarse de manera vigorosa ante cualquier condición ambiental que se presente. La evaluación de concentración de nutrientes en los análisis foliares de las plantas en evaluación demostró altas concentraciones de nitrógeno cuando es suministrado en NH_4 e incrementa cuando los microorganismos son suministrados de manera por separado y en combinación, además que no existe una deficiencia en ningún nutriente de acuerdo con los valores óptimos para arándano en la etapa vegetativa (Hanson y Hancock, 1996) (tabla 9).

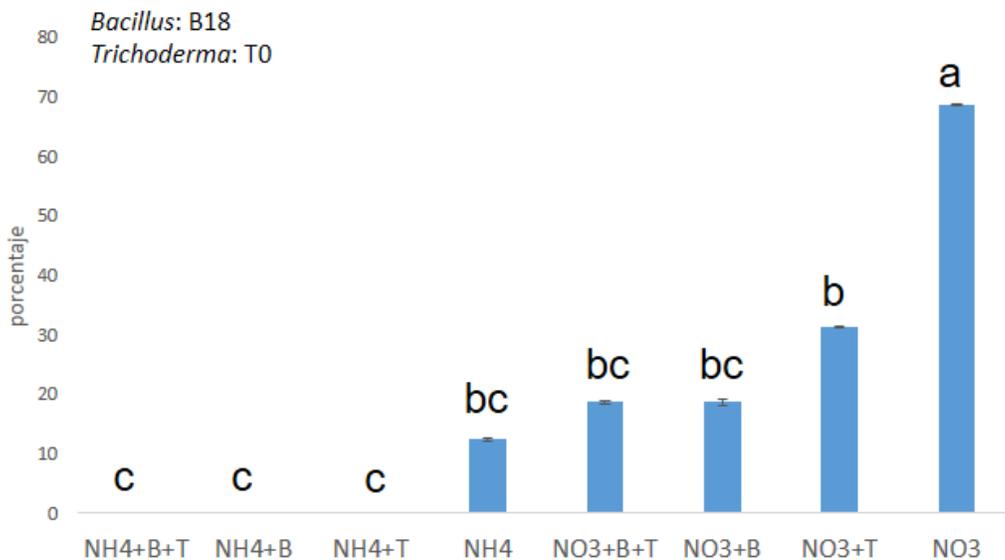


Figura 14. Efecto del porcentaje de infección del patógeno *Alternaria alternata* en la evaluación nitrogenada, *Trichoderma harzianum* y *Bacillus cereus* en plantas de arándano.



Figura 15. Sintomatología del patógeno *Alternaria alternata* en el cultivo de arándano tratamiento con fertilización en NO_3 .

Cuadro 8. Concentración nutrimental la interacción de fertilización, *Trichoderma harzianum* y *Bacillus cereus* en el control de *Alternaria* spp en plantas de arándano.

Tratamiento (solución nutritiva relación de NO ₃ ⁻ /NH ₄ ⁺)	Nitrógeno Total N	Fosforo P	Potasio K	Calcio Ca	Magnesio Mg
NH ₄ +B+T	3.26 e	0.2 a	1.4 b	1.4 cdb	0.8 b
NH ₄ +B	3 a	0.2 a	1.3 a	1.3 abcd	0.8 a
NH ₄ +T	2.73 b	0.2 a	1.3 a	1.3 a	0.7 b
NH ₄	2.64 c	0.1 a	1.2 bc	1.2 ab	0.7 bc
NO ₃ +B+T	2.46 c	0.1 a	1.2 bc	1.2 d	0.7 c
NO ₃ +B	2.39 d	0.1 a	1.2 bc	1.2 abc	0.7 c
NO ₃ + T	2.22 d	0.1 a	1.2 bc	1.2 cdb	0.6 bc
NO ₃	2.21 e	0.1 a	1.2 bc	1.2 cd	0.6 bc
Valores óptimos	1.7-2.1	0.08-0.4	0.4-0.65	0.3-0.8	0.4-0.8

8. DISCUSIÓN

Los aislados obtenidos del patógeno *Alternaria* spp., de la región de Sinaloa concuerdan con la descripción para el género *Alternaria* descrita en el estudio de Wounderberg *et al.*, (2013) cuerpos de conidios alargados hasta alcanzar forma de un pico. La forma de los conidios concuerda con las claves taxonómicas descritas por Simmons (1993), a nivel macroscópico, mostraron una pigmentación oliva oscuro en ambos lados de la placa y producían abundante color marrón claro, conidios septados naciendo en cadenas, las estructuras concuerdan con lo reportado por Fernández *et al.*, (2015) en Argentina. En este trabajo se encontraron dos especies apareciendo *Alternaria alternata* y *Alternaria tenuissima* reportadas afectando al cultivo de arándano en México y presentándose en el estado de Sinaloa.

En la evaluación de patogenicidad en plantas de arándano los resultados concuerdan con el trabajo de Edquen, (2019) donde se presentaron daños en el cultivo de arándano provocado por el patógeno *Alternaria* spp. con un necrosamiento de hoja hasta la pérdida de más del 50% de follaje, los síntomas

encontrados fue una necrosis iniciando de color rojizo hasta un color violeta en más del 70% de la hoja. Los resultados en las pruebas de patogenicidad demostraron que *Alternaria alternata* causo más defoliación en la planta, a pesar de no efectuarse la prueba en las condiciones climáticas adecuadas para el patógeno, sin embargo, se logró la presencia cuando se encontraba en temperaturas de 35°C y una humedad de 70%.

De acuerdo con Edquen (2019) el hongo necesita una humedad relativa de 70% para poder prosperar en la planta y causar sintomatologías más notorias, con una temperatura de 25-28 °C. En el trabajo de Edquen (2019) realizó la escala de severidad del patógeno en la cual se llegó a la conclusión que la cepa de *Alternaria* encontrada no era virulenta ya que ninguna de las plantas presento hojas con grado de severidad 4. Los resultados obtenidos en esta investigación difieren ya que la cepa elegida llegó a enfermar a la planta con el grado de severidad del 3 y 4. De acuerdo con las tablas taxonómicas pertenece a *Alternaria alternata* reportada en diferentes países y en la región de Michoacán, México.

Por otra parte, en la evaluación de confrontación *in vitro* de los microorganismos antagonistas contra el patógeno *Alternaria alternata*, en el enfrentamiento contra *Trichoderma* spp., los resultados coinciden con lo reportado por López-Valenzuela *et al.*, (2022) encontrando cepas de *Trichoderma* spp. con eficacia de 1-2 acuerdo a la escala de Bell *et al.* (1982) misma escala utilizada en este trabajo, siendo cepas nativas de la región de Sinaloa capaces de ser antagonistas a los patógenos *Fusarium oxysporum*, *Alternaria* spp. y *Helminthosporium* spp. *in vitro*.

En el caso contra las cepas de bacterias, López-Valenzuela (2015) obtuvo resultados con aislados de la región de Sinaloa para la enfermedad de la pudrición texana, encontrando que los aislados lograron inhibir el crecimiento del patógeno a nivel *in vitro*, por lo tanto, pueden ser utilizadas como control biológico contra el patógeno que provoca la enfermedad de la pudrición texana en evaluaciones posteriores a nivel invernadero o campo. Los resultados obtenidos en las pruebas de confrontación *in vitro* no han sido reportados anteriormente ya que no se habían

realizados confrontaciones con microorganismos de la región de Sinaloa, es por esto que se evaluaron en campo.

En las pruebas de cuantificación de ácido indolacético de los microorganismos antagonistas. En el caso de los hongos, los resultados obtenidos concuerdan con lo reportado por López-Valenzuela *et al.*, (2022) donde se estudió que las especies de *Trichoderma* tienen la capacidad de producir la fitohormona auxina ácido indol 3-acético (AIA) para promover el crecimiento de raíces, además de ser capaces de ser antagonistas para diversos fitopatógenos.

Las bacterias en las pruebas de cuantificación de ácido indolacético se encontraron resultados similares con Yadav (2010) con aislados de *P. putida*, *B. subtilis* con una producción de 146.12, 92.64 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ de AIA respectivamente empleando 100 mg/ml de triptófano. Estos resultados están muy por arriba de los resultados obtenidos, sin embargo, el género *Bacillus* spp se caracterizan por ser rizobacterias las que utilizan L-triptófano encontrados en la raíz para sintetizar el AIA principalmente a través de la vía del ácido indol-3-piruvico Kang *et al.*, (2017).

En las variables fisiológicas en el experimento donde se evalúa el uso de diferentes concentraciones de nitrato: amonio en invernadero con plantas de arándano, los resultados obtenidos coinciden con los reportados por Luna, (2015) donde evalúa la relación nitrato: amonio en el cultivo de arándano obteniendo que la mejor altura de planta fue el tratamiento que utiliza el nitrógeno de manera amoniacal siendo la altura máxima de plantas de 20 cm, a diferencia de los datos obtenidos en este trabajo llegan a ser mayores ya que se utiliza el sustrato fibra de coco que da permeabilidad y aireación al cultivo, además de agregar más tratamientos que nos mostraran más rango de datos para observar el comportamiento de los nutrientes en las plantas de arándano.

En la variable de peso seco los resultados obtenidos de acuerdo con Gurrola (2020) hay un incremento de la biomasa cuando el nitrógeno es aportado de manera de amonio y disminuye con la aplicación de solo nitrato. Debido a que se ha estudiado que el arándano por su origen es capaz de asimilar de mejor manera y

más rápido el amonio que el nitrato. Es importante destacar que el suministro bien proporcionado al cultivo da más capacidad de crecimiento y producción.

En la concentración nutrimental en la etapa vegetativa los resultados encontrados demuestran que están dentro del rango para el cultivo de arándano de acuerdo con Hanson y Hancock (1996), citan que los valores adecuados de nitrógeno foliar deben de estar en 1.7-2.1%. Es importante mencionar que cuando las plantas se encuentran en una edad más madura las concentraciones de N debe ser mayor a 2% para que se considere una concentración normal, cuando son menores de 1.7% es considerada deficiente (Hart *et al.*, 2006).

Frías (2018) reporto que el Nitrógeno fue el elemento encontrado de mayor cantidad en la etapa fenológica, ya que requiere una concentración de Nitrógeno más alta que con cada etapa va disminuyendo. Nuestros resultados muestran una variación más alta en el nutriente del Nitrógeno ya que se utilizaron diferentes concentraciones del mismo, sin embargo, no se observó ninguna deficiencia de algún otro elemento y tampoco antagonismo.

Rivaneira (2012), reporta datos similares a los encontrados donde el Nitrógeno fue el elemento de mayor porcentaje en etapa fenológica vegetativa seguido de K, Ca, Mg y P dichos resultados son óptimos para las variedades de arándano.

La concentración foliar depende de cada etapa vegetativa de la planta se debe de realizar estudios en cada etapa para determinar el porcentaje ideal, el K es un elemento que influye sobre el rendimiento y calidad del fruto (Santoyo *et al.*, 2011). Posee una gran importancia en funciones fisiológicas y metabólicas de las plantas, como son el transporte de agua, el K y Ca contribuyen a brindarle calidad al fruto, proporcionando firmeza, sanidad y vida pos cosecha (Pérez y Quintero, 2015). Una planta con nutrición bien suministrada tendrá la capacidad de presentarse vigorosa al ataque de microorganismos patógenos que se presenten en el ambiente.

Por otra parte, Crisóstomo *et al.*, (2014) realizó la evaluación de diferentes concentraciones de nitrato: amonio con diferentes niveles de pH, encontrándose que cuando es suministrado el nitrato al 100% hay una mejor altura de planta, diferente a nuestros resultados, esto se puede llegar a decir que el pH es una variable importante para determinar los niveles de aniones y cationes suministrados en la solución nutritiva, además de las condiciones climáticas que se utilizaron diferentes a las de este proyecto.

En la interacción de fertilización con *Trichoderma harzianum* y *Bacillus cereus* en el control de *Alternaria alternata* en condiciones de hidroponía en invernadero, la variable de altura de planta es una característica de gran importancia de crecimiento y desarrollo de la planta. Ramírez, (2018) plantea que el uso de microorganismos como *Trichoderma* y *Bacillus* en los cultivos dan una altura de la planta además de velocidad de crecimiento, evaluándose de manera separada y en combinación, llegando a encontrar que tienen la capacidad de lograr una interacción en el suelo y/o sustrato en beneficio a la planta, además de ser probados como antagonistas dando la capacidad a la planta de una resistencia sistemática inducida hacia los patógenos que se presenten, el tratamiento donde se observó menor altura donde no se aplicó microorganismos.

Debido a que *Trichoderma* spp. tiene la capacidad de secretar compuestos relacionados con la promoción de crecimiento como fitohormonas llamadas auxinas que incrementan el crecimiento del cultivo. *Bacillus* por su parte tiene efecto de promoción de crecimiento, el género es capaz de generar fitohormonas como auxinas y giberelinas.

En la variable de peso seco los resultados encontrados concuerdan con lo reportado por Mejía-Melo (2018) utilizó microorganismos del género *Trichoderma* en el cultivo de arándano para el control de *P. cinnamoni* en donde los tratamientos con microorganismos obtuvieron medias similares entre ellos sin diferencia significativas, en los tratamientos donde no se utilizaron microorganismos el peso seco fue mínimo ya que el patógeno logró infectar el cultivo teniendo una pérdida foliar. Los patógenos utilizados en dicha investigación y en el presente trabajo

afectan en mayor severidad órganos aéreos de la planta, logrando una necrosis total en las hojas perdiendo y afectando la biomasa aérea afectando directamente la producción.

Los microorganismos del género *Trichoderma* y *Bacillus* han sido reportados como antagonistas a diversos patógenos en diversos cultivos además de tener la capacidad de promover el crecimiento y darle a la planta resistencia sistemática inducida. Dando la capacidad a la planta de mantenerse protegida contra el ataque a los patógenos.

En cuanto a la incidencia y severidad del patógeno los resultados mostraron que el uso de microorganismos preventivos logró un control eficiente en los tratamientos en combinación y por separado en el uso de microorganismos. De acuerdo con Ramírez-Cariño *et al.*, (2020) obtuvo un control de *Alternaria alternata* en el cultivo de jitomate utilizando microorganismos antagonistas como *Bacillus* y *Trichoderma* en tratamientos por separado y en combinación. Observando que cuando se trabaja en conjunto hay una posibilidad de interacción de los microorganismos benéficos en el cultivo.

Mishal *et al.*, (2010) citan que los hongos del género *Trichoderma* spp. tienen la capacidad de absorber nutrientes en las plantas y pueden aumentar sustancialmente la eficiencia del uso de nitrógeno en los cultivos, habilidad para controlar enfermedades en la agricultura.

De acuerdo con Edquen, (2019) se recomienda el uso de preventivos al evaluar el patógeno *Alternaria* spp., en el cultivo de arándano ya que demostró que el patógeno es capaz de causar pérdida de follaje cuando no se realiza un control preventivo y al estar presente el patógeno es muy difícil el control.

9. CONCLUSIONES

- Las cepas de *Trichoderma harzianum* y *Bacillus cereus* que presentaron el mejor antagonismo *in vitro* y mayor producción de AIA presentaron un control de *Alternaria alternata* en arándano.
- La forma iónica de amonio al 100% en la solución nutritiva influye en el mejor desarrollo en el cultivo de arándano.
- La fertilización nitrogenada con amonio y cepas de *Bacillus cereus* y *Trichoderma harzianum* controlaron *Alternaria alternata* y promueven el crecimiento en arándano.
- *Bacillus cereus* y *Trichoderma harzianum* contribuye en el control de *Alternaria alternata* y pueden ser utilizadas en la producción orgánica de arándano.

10. BIBLIOGRAFÍA

- Abad-Berjon M, Noguera-Murray P, Carrión-Benedito C. 2004. Los sustratos en los cultivos sin suelo. En: Urrestarazu-Gavilán. Cultivo sin suelo. Madrid: Mundi Prensa. pp 113-158.
- Adams, P. 1994. Nutrition of Greenhouse vegetables in NFT and hidroponic systems. Acta Horticulture. 361: 245-257.
- Agrios, G. (2005). *Plant Pathology*. Amsterdam: Elsevier Academic Press.
- Ajilogba, C. F., Babalola, O.O. 2013. Integrated management strategies for tomato Fusarium wilt., Biocontrol Sci. pp. 117–27.
- Andersen, B., Kroger, E., Roberts, R. 2001. Chemical and morphological segregation of *Alternaria alternata*, *A. gaisen*, and *A. longipes*. Mycological Research 105:291-299.
- Baixauli, C. y Aguilar, J. 2002. Cultivo sin suelo de hortalizas. Generalitat Valenciana Consellería de Agricultura, Pesca y Alimentación.

- Ballington, J. R., Mainland, C.M, Duke, S. D., Draper, A. D., Galletta, G. J., 1990. `O´neal´ Southern Highbush Blueberry. US, HortScience 25(6) 711-712 p.
- Bañados, P. 2007. Perspectiva en el mercado de los arándanos. Tucumán.
- Barkai-Golan, R. 2008. *Alternaria* mycotoxins. P. 185-203. En: Barkai-Golan, R. Nachman P (Eds.). Mycotoxins in fruits and vegetables. Ed. Academic Press, San Diego, 395 p.
- Bautista, L., & Gallardo, I. 2008. Estandarización de métodos de detección para promotores de crecimiento vegetal (ácido indol acético y giberelinas) en cultivos microbianos (Tesis de pregrado). Pontificia Universidad Javeriana, Bogotá, Colombia.
- Bell, D., Well, H., Markham, C. 1982. "In vitro" antagonism of *Trichoderma* species against six fungal plant pathogens. Phytopathology 72: 379-382.
- Bisset, J. 1991. A revision of the genus *Trichoderma* II. Section Pachybasium. Canadian Journal of Botany 69: 2373-2417.
- Bottalico A. y Logrieco A. 1998. Toxigenic *Alternaria* species of economic importance. In: Sinha, K.K. and Bhatnagar, D. (Eds.) Mycotoxins in agriculture and food safety. Marcel Dekker, Inc, New York, USA: 65-108.
- Bottalico, A., y Logrieco, A., 1998. Toxigenic *Alternaria* species of economic importance. In: Sinha, K.K. and Bhatnagar, D. (Eds.) Mycotoxins in agriculture and food safety. Marcel Dekker, Inc, New York, USA: 65-108.
- Bouma, D. 1983. Diagnosis of mineral deficiencies using plan test. Pp. 120-146. In: A. Pirson, and M. H. Zimmerman (ed.). Encyclopedia of Plant Physiology. Vol. 15-A. Springer-Verlag, Berlín.
- Cancino, I. 2017. Efecto de actinobacterias aisladas de *Asparagus officinalis* L . en el desarrollo vegetativo de *Lycopersicon esculentum* Mill (Tesis de pegrado). Universidad Nacional Pedro Ruiz Gallo, Lambayeque, Perú

- Cañedo, V., Alfaro, A., Kroschel, J. 2011. Manejo integrado de plagas de insectos en hortalizas. Principios y referencias técnicas para la Sierra central de Perú. Centro Internacional de la Papa (CIP), Lima, Perú. p. 8.
- Caporaso, J. G. *et al.* 2010. 'correspondence QIIME allows analysis of high-throughput community sequencing data Intensity normalization improves color calling in SOLiD sequencing', Nature Publishing Group. Nature Publishing Group, 7(5), pp. 335-336. doi: 10.1038/nmeth0510-335.
- Castro, A. y Rivillas, C. 2013. *Trichoderma spp. Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café* (boletín) Federación Nacional de Cafetaleros de Colombia. Chinchiná, Caldas, Colombia. 33 p.
- Cawoy, M., Bettioli, H., Fickers, W., Ongena, P. 2011. Bacillus-based biological control of plant diseases. Stoytcheva, M. Pesticides in the Modern World Pesticides Use and Management., InTech, 273–302.
- Claussen, W., y Lenz, F. 1999. Effect of ammonium or nitrate nutrition on net photosynthesis, growth, and activity of the enzymes nitrate reductase and glutamine synthetase in blueberry, raspaberry and strawberry. Plant and soil, 208(1), 95-102.
- Cherif, M., and Benhamou, N. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* sp. on *Fusarium oxysporum* f. spp *Radicis lycopersici*. Phytopatology: 80 (12): 1406-1414.
- Chaparro, A., Carvajal, L. and Orduz, S. 2011. Fungicide tolerance of *Trichoderma asperelloides* and *T. harzianum* strains. *Agricultural Sciences*, 2, 301-307. doi: [10.4236/as.2011.23040](https://doi.org/10.4236/as.2011.23040).
- Cherif, S.S., and Benhamou, C.S. 1990. Cytochemical aspects of chitin breakdown during the parasitic action of a *Trichoderma* spp., on *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicislycopersici*. Phytopathology 80:1406-1414.

- Chowdappa, P., Mohan S. P., Kumar, M., Lakshmi, K, K. 2013. Growth stimulation and induction of systemic resistance in tomato against early and late blight by *Bacillus subtilis* OTPB1 or *Trichoderma harzianum* OTPB3, *Biol. Control*. 65 109–117.
- Contreras, H., Macias, I., Del, e. y Larsen, J, 2016. Ecological functions of *Trichoderma* spp. and their secondary metabolites in the rhizosphere: interactions with plants. *FEMS Microbiology Ecology*, 92(4), 1-17.
- Crisóstomo c., M. N.; Hernández Rodríguez, O. A.; López Medina, J.; Manjarrez Domínguez, C., y Pinedo Álvarez, A. 2014. Relaciones amonio/nitrato en soluciones nutritivas ácidas y alcalinas para arándano. *Revista Mexicana de ciencias agrícolas*, 5(3), 525-532.
- Datnoff, L., Elmer, W., y Huber, D. 2008. Mineral nutriyion and plant disease. *Phytopathological society*.
- De Kreij C., Jansen, J., Van Goor, B, J., van Doesburg, J, D, J. 1992. The incidence of calcium oxalate crystals in fruit walls of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) as affect by humidity, phosphate and calcium supply. *J. Horticulture Science*. 67: 45-50.
- De La Colina, J. 2009. Producción de arándanos en Argentina. Argentina: El Cid Editor. Obtenido de <https://elibro.net/es/lc/espe/titulos/29041>
- De Reijck, G. y Schrevens E. 1998. Cationic speciation in nutrient solutions as a function of pH. *Journal of plant nutrition*. 21: 861-870.
- Díaz, P, A. 2005. Medios de cosecha para plantaciones de frutilla hidropónica. Universidad de Chile, 95p.
- Dukare, A., Prassanna, R., Dubey, S., 2011. Evaluating novel microbe amended composts as biocontrol agents in tomato crop protection. Division of Microbiology, Indian Agricultural Research Institute (IARI), New Delhi. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2010.12.017>.

- Eck, P., Gough, R., Hall J, I., Spiers. 1990. Blueberry management. G. Galletta and D. Himerlrick (Eds.) Small fruit crop management. Prentice-Hall Career & Technology. New Jersey, U.S.A. 273-333 p.
- Edquen., 2019. Fungosis del arándano (*Vaccinium corymbosum* L.) var. biloxi en el distrito de Jesús-Cajamarca. Tesis de licenciatura. Cajamarca, Perú.
- Espinosa Palomeque, B., Moreno Reséndez, A., Cano Ríos, P., Álvarez Reyna, V. D. P., Sáenz Mata, J., Sánchez Galván, H., & González Rodríguez, G. (2017). Inoculación de rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal en tomate (*Solanum lycopersicum* L.) cv. Afrodita en invernadero. *REVISTA TERRA LATINOAMERICANA*, 35(2), 169. <https://doi.org/10.28940/terra.v35i2.194>
- Ezziyani, A., Sid, A., Pérez S., Requena, M., Candela, M. 2006. Control Biológico por microorganismos antagonistas. Ejemplo en la interacción pimiento *Phytophthora capsici* causante de la tristeza. *Revista Horticultura*, (191), 8-15.
- Favela, E; Preciado, P; Benavides, A. 2006. Soluciones nutritivas. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Torreón, Coahuila, México. 147p.
- Forbes, B. A., Sahm, D. F. and Weissfeld, A. S. 2002. Bailey & Scott's Diagnostic Microbiology. 11th Ed. Mosby, St. Louis, MO.p.
- Frye W., Yoder O., Apple, A. 1984. Influence of naturally occurring marker genes on the ability of *Cochliobolus heterostrophus* to induce field epidemics of southern corn leaf blight. *Phytopathol* 74:175–178.
- Galaviz, 2020. Selección de cepas de *Bacillus* spp. y *Trichoderma* spp. y su aplicación con compostas para el control de la rabia en garbanzo blanco (*cicer arietinum* L.). Universidad Autónoma de Sinaloa. Tesis de Maestría.
- García, J.C. Y García, G. 2007. El cultivo del arándano en Asturias. Guía de Cultivo: Orientaciones para el cultivo del arándano. Serida. Ministerio de Medio Ambiente y medio rural y marino. Gobierno de España. Págs. 16-17.

- Gertsson U.E., 1995. Nutrient uptake by tomatoes grown in hydroponics. *Acta Horticulture*. 401: 351-356.
- González, C. 2013. Evaluación de microorganismos promotores de crecimiento vegetal en tomate (*Solanum lycopersicum*) variedad Santa Clara, aislados de residuos lignocelulósicos de Higuierilla (*Ricinus communis*) (Tesis de pregrado). Universidad Católica de Manizales, Manizales, Colombia.
- Gordon, S, A., Weber, R, P. 1951. Colorimetric estimation of indoleacetic acid. *Plant Physiol*. 26(1):192–195.
- Gough, R. 1994. *The Highbush blueberry and its Management*. 1ra edition. Haworth Press, Inc. Nueva York, Estados Unidos. 271 pp
- Goyal S. S., y Huffaker, R, C. 1984. Nitrogen toxicity in plants. pp 97-117. In: R.D. Hauck (ed). *Nitrogen in crop production*. ASA, CSSA, and SSSA, Madison, Wi., U.S.A.
- Graham, R. D. C., Blanco and Ulrich, A. 1970. Rapid preparation of plant samples for caption analysis. *Com Soil Sci. Plant Ana*. 1: 377-328.
- Guill, M. A., Reisenaur, H. M. 1993. Nature and characterization of ammonium effects on wheat and tomato. *American Society of Agronomy. Journal*. 85: 874-879.
- Hanson, E.J., Hancock, J. 1996. *Managing the Nutrition of Highbush Blueberries*. Extension Bulletin E-2011. Michigan State University Extension.
- Harrison, M., and Andre, C. 1969. Digestion of sugar beet leaves for atomic absorption spectroscopy. *Appl. Spectr*23: 354-357.
- Hart, J. M., Strik, B., White, L., y Yang, W. 2006. *Nutrient management for blueberries in Oregon*. Corvallis, Or.: Extension Service, Oregon State University.
- Hatta, R., Ito, K., Hosaki, Y., Tanaka, T., Tanaka, A., Yamamoto, M., AkimITSu, K., Tsuge, T. 2002. A conditionally dispensable chromosome controls host-specific pathogenicity in the fungal plant pathogen *Alternaria alternata*. *Genetics* 161:59-70.
- Herlax, V., and Bakas, L. S. 2002. Aplicaciones terapéuticas de toxinas líticas formadoras de poros: potencialidades de α -hemólisis de *Escherichia coli*. *Medicina* 62: 66-72.

- Hernández, D. 2014. Estudio nutrimental de Arándano azul (*Vaccinium corymbosum* L.) cv. Biloxi en los Reyes, Michoacán. Tesis doctoral. Colegio de posgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. De México.
- Hopkins, W., y Hunter, N. 2008. Introduction to plant physiology. 4th ed. Wiley
- Huber, D. M., & Thompson, I. 2007. Nitrogen and Plant Disease. The physiological role of minerals, 31-43.
- Infante Danay, B., Martínez, Noyma González y Yusimy Reyes. 2009. Mecanismos de acción de Trichoderma frente a hongos Fitopatógenos. Revista de Protección Vegetal. Vol.24. N0.1. 14-16pp.
- Johnson, L., Johnson, R., Akamatsu, H., Salamiah, A., Otani, H., Kohmoto, K., Kodama, M. 2001. Spontaneous loss of a conditionally dispensable chromosome from *Alternaria alternata* Apple pathotype leads to loss of toxin production and pathogenicity. Curr Genet 40:65-72.
- Kalra, Y. P., 1988. Handbook of reference methods for plant Analysis. CRC Press, Boca Raton, Fl.
- Kawamura, C., Tsujimoto, T., Tsuge, T. 1999. Targeted disruption of a melanin biosynthesis gene affects conidial development and UV tolerance in the Japanese pear pathotype of *Alternaria alternata*. Mol Plant-Microbe Interact. 12: 59–63.
- Khan, M. S., A. Zaidi, and P. A. Wani. 2007. Role of phosphate-solubilizing microorganisms in sustainable agriculture - A review. Agron. Sustain. Dev. 27: 29-43. doi: <https://doi.org/10.1051/agro:2006011>.
- Lara M. C., L. E. Oviedo Z. y C. A. Betancur H. 2011. Bacterias nativas con potencial en la producción de ácido indolacético para mejorar los pastos, Zootecnia Trop. v.29 n.2 ISSN 0798-7269. 187-194pp.
- Leelasuphakul W, Hemmanee P and Chuenchitt S. 2008. Growth inhibitory properties of *Bacillus subtilis* strains and their metabolites against the green mold pathogen (*Penicillium digitatum* Sacc.) of citrus fruit. Postharvest Biology and Technology 48: 113-121.

- Linares Ramírez, M, T. 2018. Antagonismo de *Trichoderma* spp. Sobre *Fusarium* spp. aislado de la marchitez del arándano, en dos municipios de Michoacán. Tesis de maestría. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional Unidad Michoacán.
- López-Jácome LE., Hernández-Duran, M., Harman, G, E. 1998. Ecological studies of transformed *Trichoderma harzianum* strain 1295-22 in the rhizosphere and on the phylloplane of creeping bentgrass. *Phytopathology* 88:129-136.
- López-Valenzuela *et al.* 2015. Selección in vitro e identificación de aislados de *Trichoderma* spp. y *Bacillus* spp. nativos para el control de *Phymatotrichopsis omnívora* ITEA, Vol. 111 (4), 310-325.
- López-Valenzuela, B. E., Camacho-Tzintun, O., Armenta-Bojórquez, A. D., Valenzuela-Escoboza, F. A., Lizarraga-Sanchez, G.J., 2022 marzo. MICROORGANISMOS DEL GÉNERO *Trichoderma* PRODUCTORES DE FITOHORMONAS Y ANTAGONISTAS DE PATOGENOS. *Bioagro* 34 (2): 163-172. 2022. doi: <http://www.doi.org/10.51372/bioagro342.6>
- Luan YS, Feng L, Xia XY, An LJ. 2007. First Report of *Alternaria tenuissima* Causing Disease on Blueberry in China. *Plant Dis.* ;91(4):464. doi: 10.1094/PDIS-91-4-0464A. PMID: 30781205.
- Luna Bejar, J. A., 2015. Relacion nitrato: amonio en el cultivo de arándano en condiciones hidroponicas. Tesis de Maestría. Universidad Michoacan De San Nicolas De Hidalgo.
- Mamgain A., Roychowdhury R., Tah J. 2013. *Alternaria* pathogenicity and its strategic controls. *Res Biol* 1:01-09.
- Martinez, P. F. y Roca, D. 2011. Sustratos para cultivos hortícolas y flores de corte. En: flòrez R., V. J. (Ed.). Sustratos, manejo de clima, automatización y control en sistemas de cultivo sin suelo. Bogotá, Universidad Nacional de Colombia. pp 37-77.

- Masaguer y Cruz. 2007. Avances en sustratos para cultivos hortícolas; caracterización y manejo. 4º Curso internacional de Actualización en Horticultura Protegida. Universidad Politécnica de Madrid, España. 44 p.
- Miliev, K. 1997. Effects of two nutrient solutions at different conductivities on some growth parameters of tomato plants. *Acta Horticulture*. 462: 641-648.
- Molina, N., taiariol, D., Delssin, E. Y Serial, C. 2010. Producción de Arándanos en Corrientes, Análisis técnico y económico, INIA- Estación Experimental Agropecuaria Bella Vista, Región Corrientes, pp.4-16, Argentina.
- Mondragón, F. A., Medina, J. L., Ochoa, A. S., y Gutiérrez, C. M., 2012. Hongos Asociados a la Parte Aérea del Arándano en Los Reyes, Michoacán, México Facultad de Agrobiología. Michoacán, México.
- Mohite, B. 2013. Isolation and characterization of indole acetic acid (IAA) producing bacteria from rhizospheric soil and its effect on plant growth. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition* 13: 638-649.
- Mukherjee, P., Horwitz, B., Shankar, U., Schmoll, M. 2013. *Trichodema: biology and applications*. Boston, MA: CABI
- Muñoz, C. 1988. Variedades y su propagación. Instituto de investigaciones agropecuarias. Seminario: El cultivo del arándano. Estación Experimental Carillanca. Temuco Chile. pp: 51-66.
- Muñoz, C. 1988. Variedades y su propagación. Instituto de investigaciones agropecuarias. Seminario: El cultivo del arándano. Estación Experimental Carillanca. Temuco Chile. pp: 51-66.
- Ohba, M., Aizawa, K. 1986. Insect Toxicity of *Bacillus thuringiensis* isolated from soil in Japan. *Journal Invertebrate Pathology* 47 (1):12-20.
- Ongena, M., Jacques P. 2008. *Bacillus* lipopeptides: versatile weapons for plant disease biocontrol, *Trends Microbiol.* 115–125.

- Ostry, V. 2008. *Alternaria* mycotoxins: An overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin* 1: 175-188
- Ostry, V. 2008. *Alternaria* mycotoxins: An overview of chemical characterization, producers, toxicity, analysis and occurrence in foodstuffs. *World Mycotoxin* 1: 175-188
- Paeshant, B., Karan, K., & Radha, M. 2019. Arándano (*Vaccinium macrocarpon* Ait. L). En *Cultivar científicamente frutas templadas menores* (págs. 128-181). Nueva delhi : Jaya Publishing House .
- Pane, C., Zaccardelli, M. 2015. Evaluation of *Bacillus* strains isolated from solanaceous phylloplane for biocontrol of *Alternaria* early blight of tomato, *Biol. Control*. 84. 11-18 pp.
- Pannunzio, A., Vileilla, F., Texeira, P. Y Premuzik, Z.: Impacto de los sistemas de riego por goteo en arándanos. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, Vol.15, Núm.1, pp.1-6, 2011
- Papavizas, G, C., Daver, Ch, B. 1959. Evaluation of various media and antimicrobial agents for isolation of soil fungi. *Soil Science* 88: 122-117.
- Pilet, P. E. and Chollet, R. 1970. Sur le dosage colorimétrique de l'acide indolylique. *C. R. Acad. Sci. Ser. D*. 271: 1675-1678.
- Prado, A. 2013. Optimización de la producción de AIA por bacterias promotoras de crecimiento y evaluación de su efectividad biológica en papa (*Solanum tuberosum* var. Alpha) (Tesis de pregrado). Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Saltillo, México.
- Quintero, C. M. F., González, M. C. A., y Guzmán, P. J. M., 2011. Sustratos para cultivos hortícolas y flores de corte. En: flòrez R., V. J. (Ed.). *Sustratos, manejo de clima, automatización y control en sistemas de cultivo sin suelo*. Bogotá, Universidad Nacional de Colombia. pp 79-108.
- Rahman, S. 2015. Green revolution in India: Environmental degradation and impact on livestock, *Asian J. Water, Environ. Pollut.* pp 75–80.

- Ramallo, A., Hongn, S., Celiz, C., Pasteris, L., Gil Fourquet, M., Bains, O., 2009. Pudriciones de poscosecha en arándano: localización y cuantificación del inóculo. Avances en la Producción Vegetal y Animal del NOA 2007-2009, 514-518
- Ramirez Cariño, H, F. 2017. Uso de *Trichoderma asperelloides* y *Bacillus licheniformis* para el biocontrol de *Fusarium oxysporum* Y *Alternaria alternata* en plantas de jitomate (*Solanum lycopersicum*). Tesis de maestría, Universidad tecnológica de la mixteca división de estudios de posgrado.
- Ramírez-Cariño, HF, Guadarrama-Mendoza, PC, Sánchez-López, 2020. Biocontrol de *Alternaria alternata* y *Fusarium oxysporum* por *Trichoderma asperelloides* y *Bacillus paralicheniformis* en plantas de tomate. **113**. <https://doi.org/10.1007/s10482-020-01433-2>
- Retamales, J., y Hancock, J., 2011. Crop production science in horticulture Blueberries, Holly Beaumont, N° 21. Estados Unidos.
- Rico, M. 2009. Capacidad promotora de crecimiento vegetal por bacterias del género *Azotobacter* y Actinomicetos aislados de cultivos de *Solanum tuberosum* Linnaeus, 1753 (Papa) cultivados en zonas alto andinas del Perú. Facultad de Ciencias Biológicas. 138 pp.
- Rivaneira, M. F. 2012. Concentración de nutrientes en hojas de diferente estado de desarrollo en arándano. RIA. Revista de investigaciones agropecuarias, 38(3), 247-250p.
- Rivera, M. C., Wright, E. R., Pérez, B. A., González Rabelino, P. & Pérez, J. A. 2009. Enfermedades del arándano. En: Wright, E. R., editor. Guía de Enfermedades, Insectos y Malezas del Arándano. Buenos Aires: Orientación Gráfica Editora, 1-68.
- Rosen, C. J., Allan, D. L., & Luby, J. J. 1990. Nitrogen form and solution pH influence growth and nutrition of two *Vaccinium* clones. J. Am. Soc. Hortic. Sci. 115:83-89.
- Rotem, J. 1994. The Genus *Alternaria*: Biology, Epidemiology and Pathogenicity. St Paul, MN, USA: APS press.

- Sánchez, G, P. 2009. Manejo integral de la nutrición en el cultivo de fresa. Innovaciones Tecnológicas en el Sistema Producto Fresa. CONAFRE A. C. Zamora Michoacán. 28p.
- Sanchez, G.J., y Escalante, R, L. 1988. Why so much variation in strawberry fertilizer recommendations and practices. In: Smith, C.R. and Childers, N.F. (eds) The Strawberry. Rutgers State University, New Brunswick, New Jersey. 33p
- Santoyo, L. F. R., Erreguerena, J. M., y Serrano, F. R. D. 2011. Efecto de diferentes concentraciones de potasio en parametros de calidad en jitomate hidropónico. Acta Universitaria, 21(1), 5-10p.
- Schmilewski, G. 2008. The role of peat in assuring the quality of growing media. Mires and peat. 3(2).
- SIAP (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera). 2021. Panorama Agroalimentario, primera edición. Ciudad de México. 37-38 p.
- Simmons, E.G. 2007. *Alternaria*. An identification manual. CBS Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, Holanda.
- SIPSA. 2012. Importancia de los fertilizantes nitrogenados. Boletín mensual, insumos y factores asociados a la producción agropecuaria., 1-3
- Smith, G, S., Johnston, C, M., 1983 Comparison of Nutrient Solutions for Growth of Plants in Sand Culture. New Phytol. 94: 537-548.
- Sommer, N.F. 1985. Role of controlled environments in suppression of postharvest diseases. Canadian Journal of Plant Pathology 7, 331-339.
- Soto, R. 1993. Efecto de las características físicas y químicas de diferentes mezclas de sustratos en el crecimiento de arándanos en maceta. Memoria Ing. Agr. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agrarias y Forestales. 63 p.
- Steiner, A, A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. Plant soil 15: 134-154.

- Steiner, A. A. 1968. Soilless culture. Proceedings of the 6th Colloq. Int. Potash Inst. Florence, Italy. pp. 324-341.
- Steiner, A. A. 1984. The universal nutrient solution. pp. 633-650. In: Proceedings 6th International Congress on Soilness Culture. Wageningen, The Netherlands.
- Steiner, A. A. 1961. A universal method for preparing nutrient solutions of a certain desired composition. *Plant and Soil*. 15(2). 134-154.
- Steiner, A. A. 1966. The influence Of the chemical composition of a nutrient solution on the production of tomato plants. *Plant and Soil*. 24(3), 454-466.
- Tejera H., Rojas B., M., & Heydrich P., M. 2011. Potencialidades del género *Bacillus* en la promoción del crecimiento vegetal y el control biológico de CENIC Ciencias Biologicas, 42(3), 131-138.
- Thomma, B. 2003. *Alternaria* spp.: from general saprophyte to specific parasite. *Mol Plant Pathol* 4(4): 225–236.
- Townsend, L. R. 1970. Effect of form of N and pH on nitrate reductase activity in low bush blueberry leaves and roots. *Canadian J. PlantSci*. 50:603-605
- Trejo-Téllez. L. I. and Gómez-Merino. F. C. 2012. Nutrient solutions for hydroponic systems. In *Hvdronics-A Srandard áethodologyfor Plant Biological Researches*. InTech
- Valenzuela, J. 1988. Requerimientos Agroclimáticos de las Especies de Arándano. Instituto de Investigación Agropecuaria. In: Seminario: El cultivo del arándano. Temuco, Chile 30 de noviembre, 1 y 2 de diciembre de 1988. 23 p. Pp. 17-23.
- Valenzuela, J. 1988. Requerimientos Agroclimáticos de las Especies de Arándano. Instituto de Investigación Agropecuaria. Pp. 17-23. In: Seminario: El cultivo del arándano. Temuco, Chile 30 de noviembre, 1 y 2 de diciembre de 1988. 23 p.
- Van Loon, L. C., Bakker, P, A, H, M. C.M.J. 1998. Systemic resistance induced by rhizosphere bacteria, *Phytopathology*. 453–483.

- Verma, M., Brar, S, K., Tyagi, R, D., Surampalli, R, Y., Valéro, J,R. 2007. Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal*. 37, 1-20.
- Villarreal, M. F., Villa, E., Cira, L., Estrada, M. I., Parra, F., & De los Santos, S. 2018. El género *Bacillus* como agente de control biológico y sus implicaciones en la bioseguridad agrícola. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 36(1), 95–130. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.1706-5>
- Von Arx, J, A. 1981. The genera of fungus sporulating in pure culture. J. Cramer, Vaduz, Suiza, Alemania. 424 p.
- Wasternack, C P, B. 1997. Jasmonate-signalled plant gene expression., *Trends Plant Sci*. 302–307.
- Whipps, J. M. 2001 Microbial interactions and biocontrol in the rhizosphere, *J. Exp. Bot*. 487–511.
- White, T. J., Burns, T., Lee, S., Taylor, J. W. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En: Innis MA, Gelfald DH, Sninsky JJ, White TJ (eds), *PCR Protocol: a guide to methods and application*. Academix Press. Nueva york. pp 315-320.
- Woo, S.L., Scala, F., Ruocco, M., Lorito, M. 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. *Phytopathology*. 96, 181–185.
- Wright, E.R., Rivera, M.C., Esperón, J., Cheheid, A., y Rodríguez Codazzi, A. 2004. *Alternaria* leafspot, twig blight and fruit rot of highbush blueberry in Argentina. *Plant Disease* 88:1383.
- Yadong, Shuang, S., Hanping, D., and Xiuwu, G. 2009. Effects of nitrogen, phosphorus and potassium on growth, fruit production and leaf physiology in blueberry. *Acta Hortic*. 810: 759-764.

Yadav, J., Verma, J. P. and Tiwari, K. N. 2010. Effect of plant growth promoting Rhizobacteria on seed germination and plant growth Chickpea (*Cicer arietinum*L.) under in vitro conditions. *Biological Forum, an International Journal*. 2: 15-18.

Vacheron, J., G. Desbrosses, M. L. Bouffaud, B. Touraine, Y. Moenne-Loccoz, D. Muller, L. Legendre, F. Wisniewski-Dye, and C. Prigent-Combaret. 2013. Plant growth-promoting rhizobacteria and root system functioning. *Front. Plant Sci*. 4: 1-19. doi: <https://dx.doi.org/10.3389/fpls.2013.00356>.