

INSTITUTO POLITÉCNICO NACIONAL
CENTRO DE DESARROLLO DE PRODUCTOS BIÓTICOS

MAESTRÍA EN CIENCIAS EN MANEJO AGROECOLÓGICO
DE PLAGAS Y ENFERMEDADES

MEMORIA DEL SEMINARIO A2014

Auditorio Martín de la Cruz
Mayo 2014

Martes 27 de mayo de 2014

Seminario de Investigación II

Moderadora: Dra. Norma Robledo Quintos

09:00 – 09:20 **Mitzi Flores Ocampo**

Uso de vermicompostas de sustratos antibacterianos para el manejo de *Ralstonia solanacearum* en jitomate.

09:20 – 09:40 **Lucero Rodríguez Yescas**

Actividad biológica de *Trichilia havanensis* (Meliaceae) sobre *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae) y su enemigo natural *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae).

09:40 - 10:00 **Juan Carlos Bartolo Reyes**

Modelo de simulación dinámico para el pronóstico poblacional del picudo de nopal *Metamasius spinole* (Gyllenhal) (Coleoptera: Curculionidae) en Morelos.

10:00 – 10:20 **Receso**

Seminarios de Investigación III

Moderador: Dr. Víctor Rogelio Castrejón Gómez

10:20 – 10:50 **Valeria Camacho Luna**

Antagonismo de *Trichoderma spp.* sobre *Alternaria porri* y en la inducción de enzimas líticas en cebolla.

10:50 – 11:20 **José Miguel Elizalde Contreras**

Aislamiento, identificación y evaluación biológica de compuestos activos de *Trichilia americana* sobre *Copitarsia decolora* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae).

11:20 – 11:50 **Juan Carlos Luna Espino**

Análisis de perfiles de restricción y producción de cuerpos de oclusión de aislamientos del nucleopoliedrovirus de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) procedentes de dos zonas agrícolas de México.

11:50 – 12:10 **Receso**

12:10 – 12:40 **Héctor Hernández Guerra**

Evaluación de bacterias rizosféricas de *Jatropha curcas* L. contra *Fusarium verticillioides* y *Leptoglossus zonatus*.

12:40 – 13:10 **Teresa García Quintero**

Efecto de la aplicación de agentes naturales en la calidad postcosecha e incidencia en campo de la fusariosis en cormos de gladiolo.

13:10 – 13:40 **Gustavo Cortes Hidalgo**

Aislamiento e identificación del agente causal de la marchitez del cultivo de ciclamen, su antagonismo con *Trichoderma* spp. y la producción de ácido indol acético por éstos.

13:40 – 14:10 **Angel Campos Martínez**

Identificación de levaduras y evaluación de su capacidad para inhibir a *Colletotrichum* spp. causante de la antracnosis en aguacate (*Persea americana* Mill.).

**Uso de vermicompostas de sustratos antibacterianos para el manejo de
Ralstonia solanacearum en jitomate**

Mitzi Flores Ocampo

Ralstonia solanacearum es una bacteria fitopatógena con más de 200 hospederos distribuida a nivel mundial, ocasiona una de las enfermedades más importantes en el cultivo del jitomate (marchitez bacteriana), que puede ocasionar pérdidas totales. Los métodos de manejo actuales no han sido eficientes para combatirla, es por eso que un manejo alternativo es el uso de vermicompostas, abono que proviene de la degradación de la materia orgánica por la lombriz roja, *Eisenia foetida*. La vermicomposta aumenta la capacidad de retención de agua en el suelo, aumenta nutrientes, proporciona la presencia de microorganismos benéficos y reduce patógenos del suelo, esto va a estar en función del alimento que se le brinde a la lombriz. Existe amplia información sobre su efecto contra hongos fitopatógenos pero poca respecto a bacterias, por lo que en este trabajo el objetivo será evaluar la capacidad de vermicompostas elaboradas con plantas con propiedades antibacterianas para reducir la incidencia y severidad de *R. solanacearum* en jitomate. Para esto se han seleccionado: tomillo, albahaca, eucalipto, granada, pasto limón, jamaica, ajo, coliflor, higo, pericón y cempasúchil, las cuales serán colectadas, posteriormente secadas a la sombra y pulverizadas. En el laboratorio se harán las pruebas *in vitro* de sus extractos acuosos contra *R. solanacearum*. Posteriormente se elaboraran vermicompostas con las plantas que tengan mayor efecto inhibitorio y se aplicaran a suelo infestado con la bacteria para determinar su efecto sobre plántulas de jitomate en cuanto a incidencia y severidad de la enfermedad, así como desarrollo vegetativo, en el suelo se realizara un análisis de fertilidad previo y posterior a la vermicomposta.

Actividad biológica de *Trichilia havanensis* (Meliáceas) sobre *Copitarsia decolora* (Lepidoptera: Noctuidae) y su enemigo natural *Chrysoperla carnea* (Neuroptera: Chrysopidae)

Lucero Rodríguez Yescas

El gusano del corazón de la col *Copitarsia decolora* es una plaga de importancia económica para México y cuarentenada para los Estados Unidos. El daño lo provoca la larva al barrenar las crucíferas. Su control es con insecticidas químicos contra el estado larval, pero el insecto ha desarrollado tolerancia a estos productos. Se buscan alternativas de manejo con plantas que presenten actividad biológica sobre insectos plaga, además de que sea amigable con la fauna benéfica. *Trichilia havanensis* es una planta de la familia de las Meliáceas que presenta actividad biológica contra insectos. Por otro lado, las larvas de *Chrysoperla carnea* depredan larvas de plagas agrícolas pero éstas han sido afectadas por insecticidas no selectivos. El objetivo de este trabajo es determinar la actividad biológica de los extractos acetónico e hidroetanólico de semillas de *T. havanensis* a 10, 500 y 1000 ppm, sobre *C. decolora* y el posible efecto sobre el depredador al estar en contacto con el extracto o al alimentarse de larvas impregnadas con el extracto. Larvas neonatas de *C. decolora* se alimentarán con una dieta artificial adicionadas con los tratamientos antes mencionados y como control dieta artificial. Las variables a evaluar serán; mortalidad, peso, desarrollo, malformaciones y capacidad reproductiva. Además se determinará sobre *C. carnea* los efectos del extracto de interés, para esto se llevarán a cabo dos series de experimentos. En el primero se realizará un bioensayo de ingestión por contaminación tópica, donde larvas L₂ de *C. decolora* serán expuestas tópicamente al extracto y éstas servirán de alimento a larvas L₃ de *C. carnea*. En un segundo bioensayo se alimentarán larvas L₂ de *C. decolora* con alimento adicionado con el extracto y estas larvas servirán de alimento a larvas L₃ de *C. carnea*. Las variables a medir sobre el depredador serán mortalidad, malformaciones y capacidad reproductiva.

**Modelo dinámico para el pronóstico de la fluctuación poblacional de *Sphenophorus incurrens*
(Coleoptera: Curculionidae) en Morelos**

Juan Carlos Bartolo Reyes

Un modelo representa una situación del mundo real, su objetivo es permitir el análisis, descripción, explicación y simulación de sistemas, la simulación con modelos en el campo de la ecología de insectos y manejo de plagas es una herramienta importante, permite entender los patrones de comportamiento y la dinámica de poblaciones. Un modelo dinámico se diseña bajo el enfoque de sistemas, ya que integra las asociaciones entre los elementos así como sus interacciones, la estructura del sistema donde el tiempo es un elemento activo le confieren su naturaleza dinámica, de ahí que la dinámica de sistemas se base en este tipo de estructuras y comportamientos de los sistemas y los ciclos de relaciones causales. Uno de los principales problemas de manejo en cultivos, es el control de altas densidades de población de insectos plaga que consumen los cultivos, esto ocasiona altos costos económicos y ecológicos para su control, por lo que es fundamental la reducción significativa de pérdidas por plagas. La comprensión de los factores que causan los cambios en la densidad y fluctuación de poblaciones de plagas, como la tasa y tiempos de desarrollo se pueden predecir en función de la temperatura mínima de desarrollo y unidades calor, estos factores se han integrado a modelos de dinámica de poblaciones como elementos de predicción, la finalidad es proponer alternativas de control y toma de decisiones preventivas para reducir los costos de manejo. Se determinará la temperatura mínima de desarrollo y las unidades calor acumuladas mediante el método de temperaturas medias y regresión lineal, se harán muestreos en campo para conocer la fluctuación poblacional, esto será la base del modelo de predicción de la fluctuación poblacional de *Sphenophorus incurrens* en Morelos, el cual se realizará con el software Vensim® diseñado bajo el enfoque y metodologías de dinámica de sistemas.

Antagonismo de *Trichoderma spp.* sobre *Alternaria porri* y en la inducción de enzimas líticas en cebolla

Valeria Camacho Luna

Los hongos del género *Trichoderma spp.* son utilizados por su actividad antagónica para controlar fitopatógenos por ataque directo contra el patógeno ó por inducción de la resistencia sistémica de las plantas. *Alternaria porri* es un patógeno foliar de la cebolla que ocasiona la enfermedad “mancha púrpura” que afecta a toda la planta. En el presente trabajo se evaluó la actividad antagónica de *Trichoderma spp.* contra *A. porri* en ensayos *in vitro*. De los árboles de macadamia de un huerto ubicado en Tlalnepantla en el estado de Morelos se aislaron dos cepas de *Trichoderma* a partir de las raíces (TrM1) y de suelo de la rizósfera (TrM2). De cultivos de cebolla ubicados en Ayala municipio del estado de Morelos se obtuvieron de la raíz otros dos aislamientos (TrC4 y TrC5). La actividad antagónica de *Trichoderma spp.* se evaluó mediante confrontaciones por cultivos duales, antibiosis con la técnica de papel celofán y la capacidad micoparasítica con la técnica de Ridell. El crecimiento de *A. porri* mostró diferencias al confrontarse con los aislamientos de *Trichoderma spp* ($P < 0.001$). Los porcentajes de inhibición de crecimiento micelial fueron 56%, 47%, 44%, 41% y 25% para los aislamientos TrC3, TrC4, TrC5, TrM2 y TrM1 respectivamente. Los ensayos de antibiosis mostraron que los aislamientos TrC3, TrC4, TrC5 y TrM2 disminuyeron el crecimiento significativamente (53%, 15%, 17% y 26%, respectivamente). Todos los aislamientos presentaron actividad micoparasítica y el proceso de micoparasitismo inició con el contacto de los hongos, penetración de *Trichoderma spp.* a la hifa de *A. porri*, desarrollo de *Trichoderma spp.* dentro de la hifa del patógeno y degradación de la hifa de *A. porri*. Todos los aislamientos controlaron a *A. porri*; sin embargo, los mecanismos de acción utilizados variaron dependiendo el patosistema.

Aislamiento, identificación y evaluación biológica de compuestos activos de *Trichilia americana* sobre *Copitarsia decolora* Guenée (Lepidoptera: Noctuidae)

José Miguel Elizalde Contreras

Copitarsia decolora es una especie polífaga que se alimenta principalmente de crucíferas. Debido a que el control químico no ha sido efectivo, los productos naturales pueden ser una alternativa en el manejo de esta plaga. El objetivo del presente trabajo fue aislar, identificar y evaluar la actividad tóxica de los compuestos contenidos en el extracto de la corteza de *T. americana* en larvas neonatas de *C. decolora*. El extracto se fraccionó por columna cromatográfica. Las mezclas de compuestos a 100 y 1000 ppm se adicionaron a la dieta y fueron evaluadas. Todas las fracciones presentaron mortalidad (entre 41.67 y 81.67%). Las fracciones 3 y 4 a 1000 ppm mostraron el mayor porcentaje de mortalidad (81.67 y 78.33%). La fracción 3 (1000 ppm) a igual que las fracciones 8 (100 ppm), 1 (1000 ppm) y 5 (100 ppm) disminuyeron 77%, 90%, 48% y 43% el peso larval con respecto al testigo (0.142g). En relación al desarrollo de la larva, este se prolongó 14 días con las fracciones 8 (100 ppm) y 1 (1000 ppm) respecto al testigo (49 días). La fracción 2 (1000 y 100 ppm) alargó 7 y 5 días el periodo en que la pupa pasó a adulto respecto al testigo (35 días). La fracción 3 fue la más activa al causar un efecto insecticida e insectistático sobre *C. decolora*; la fracción 4 presentó un efecto insecticida mientras que las fracciones 1, 5 y 8 presentaron solo efecto insectistático. Entre los compuestos activos fueron identificados los ácidos grasos palmítico, linoleico, oleico, esteárico y erucico, los cuales han sido también identificados en otras plantas y han provocado la mortalidad, afectado el peso y el desarrollo de otros lepidópteros. Por lo que es necesario evaluar de forma individual los compuestos identificados para determinar el efecto individual de cada uno de ellos.

Análisis de perfiles de restricción y producción de cuerpos de inclusión de aislamientos del nucleopoliedrovirus de *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) procedentes de dos zonas agrícolas de México

Juan Carlos Luna Espino

El gusano soldado, *Spodoptera exigua* es una de las plagas agrícolas más perjudiciales a nivel mundial. El nucleopoliedrovirus múltiple de *S. exigua* (SeMNPV) es altamente específico con alto potencial para ser utilizado como bioinsecticida. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad biológica, producción de cuerpos de inclusión y perfiles de restricción de cuatro aislamientos del SeMNPV procedentes de dos zonas agrícolas de México (SIN6, SIN8, SLP6 y SLP8). En todos los experimentos se emplearon larvas de tercer estadio de *S. exigua* criadas en laboratorio, como patrón de referencia se utilizó un aislamiento procedente del producto comercial Spod-X®. La actividad biológica se evaluó en términos de los efectos en el desarrollo y la mortalidad larvaria. Los cuatro aislamientos, incluyendo Spod-X®, provocaron un efecto significativo en la disminución del peso promedio de las larvas de *S. exigua* con respecto al testigo. Sin embargo, los pesos de las larvas no variaron significativamente entre dichos aislamientos. Todos los aislamientos retardaron el tiempo de desarrollo de las larvas con respecto al testigo, además de retardar significativamente el desarrollo de las larvas en comparación con Spod-X®. A las 168 horas posteriores al tratamiento, la mortalidad larvaria fue significativamente mayor con los aislamientos SLP8, SIN6 y SIN8 (rango de 94 al 100 %) en comparación con el tratamiento Spod-X® (75%), el cual provocó una mortalidad larvaria significativamente igual que el virus SLP6 (89%). La producción de OBs/mg de larva no difirió significativamente entre ninguno de los aislamientos evaluados. Los perfiles de ADN digeridos con la enzima *Xba*I fueron altamente homogéneos entre aislamientos. Sin embargo, los perfiles digeridos con *Bgl*III mostraron pequeñas diferencias entre Spod-X® y el resto de los aislamientos. Para confirmar este resultado, es necesario realizar una exploración más amplia de los perfiles de restricción e incluir otros métodos para conocer su composición genotípica.

Evaluación de bacterias rizosféricas de *Jatropha curcas* L. contra *Fusarium verticillioides* y *Leptoglossus zonatus*

Héctor Hernández Guerra

El centro de origen y domesticación de *Jatropha curcas* L. es México. Este arbusto se distribuye en varios ecosistemas tropicales y tiene gran potencial para la producción de biodiesel. Además, posee una gran adaptabilidad a diversas condiciones climáticas. Sin embargo, este cultivo puede ser afectado por la presencia de diversos hongos fitopatógenos que causan diferentes enfermedades y disminuyen la calidad de sus semillas. Además, algunas plagas insectiles causan daños en *J. curcas*. El objetivo de este estudio fue evaluar la actividad antagonista y entomopatógena de bacterias rizosféricas contra *Fusarium verticillioides* y *Leptoglossus zonatus*. La actividad antagonista de *Bacillus subtilis*, *Bacillus mojavensis*, *Bacillus thuringiensis* y *Lysinibacillus sphaericus* fue evaluada contra *Fusarium verticillioides* por la técnica de cultivo dual en medio papa dextrosa agar. Las variables estudiadas fueron el crecimiento micelial y la morfología hifal. Se realizaron diferentes cinéticas de crecimiento con las cepas bacterianas y se determinó que la fase de observación de cristales proteicos (toxinas) de *B. thuringiensis* y *L. sphaericus* fue la fase logarítmica. Se estableció la cría de *L. zonatus* en condiciones de laboratorio. Se evaluó el efecto de *B. thuringiensis* y *L. sphaericus* en la mortalidad y peso de *L. zonatus*. Los resultados obtenidos demostraron que todas las cepas de bacterias rizosféricas inhibieron el crecimiento micelial y afectaron la morfología hifal de *F. verticillioides*. Las cepas de bacterias rizosféricas mostraron actividad antagonista contra *F. verticillioides* con independencia del medio de cultivo utilizado y de las fases de crecimiento probadas. En estas condiciones de estudio, *B. thuringiensis* y *L. sphaericus* no afectaron la mortalidad ni el desarrollo de *L. zonatus*. En general, las cepas de bacterias rizosféricas evidenciaron actividad antagonista contra *F. verticillioides* y no mostraron actividad entomopatógena contra *L. zonatus*.

Efecto de la aplicación de agentes naturales en la calidad postcosecha e incidencia en campo de la fusariosis en cormos de gladiolo

Teresa García Quintero

El gladiolo es una especie ornamental con belleza propia utilizada como flor de corte. Su propagación es a través de cormos, los cuales son afectados por hongos fitopatógenos que ocasionan su pudrición. El objetivo de este trabajo fue evaluar en campo el efecto de la aplicación del extracto metanólico de guayaba (EG), aceite esencial de clavo (AEC) y quitosano en la calidad postcosecha e incidencia de *Fusarium* en cormos y plantas de gladiolo. En el experimento I se utilizaron cormos de la variedad (var.) amarilla que fueron sembrados el 22 de mayo en el campo experimental Emiliano Zapata. En el experimento II cormos de la var. Blanca borrega fueron sembrados el 19 agosto del 2013 en Ayala, Morelos. Los cormos fueron tratados con: EG al 2.5%, AEC 150 mg L⁻¹, quitosano al 1.5%, aplicación integrada, procloraz y agua. Se empleó un diseño de bloques completos al azar con cinco repeticiones. En ambas variedades se observó que cormos tratados con EG emergieron en menos días (12.2 y 18.4), mostraron mayor altura (112.6 y 97 cm), aceleró la floración (77.8 y 65.4), incrementó el número de botones florales (17.3 y 13.96), mayor vida de anaquel la cual se triplicó y duplicó (17.8 y 13 d) a 11 y 13 °C. Mientras que el quitosano mostró menor incidencia y severidad en plantas, mayor vida de anaquel (18.8 d) a 11 °C. En la var. Amarilla el procloraz y en la Blanca borrega el quitosano incremento el número de cormillos. Cormos de la var. Blanca borrega tratados con la combinación de AG2.5+AEC+quitosano tuvieron menor severidad de la enfermedad en planta (1.5). En conclusión, el uso de agentes naturales puede ser una alternativa para el manejo de la fusariosis del gladiolo en campo.

Aislamiento e identificación del agente causal de la marchitez del cultivo de ciclamen, su antagonismo con *Trichoderma* spp. y la producción de ácido indol acético por éstos

Gustavo Cortes Hidalgo

La marchitez es una enfermedad vascular de *Cyclamen persicum* Mill. En Morelos esta enfermedad afecta la producción y la calidad del cultivo. Una alternativa de manejo podría ser el uso de hongos antagonistas del género *Trichoderma*. Este organismo además de tener un efecto antagonista sobre fitopatógenos también favorece el desarrollo de las plantas. Por lo cual, este trabajo tuvo por objetivo aislar e identificar el agente causal del marchitamiento y aislar cepas del género *Trichoderma* del cultivo de ciclamen. Se muestrearon plantas del cultivo de ciclamen en Tepoztlán, Morelos, de estas plantas se tomaron trozos de raíz y tubérculo y fueron desinfectados con una solución de hipoclorito de sodio al 1%. Posteriormente se sembraron en cajas Petri con medio papa dextrosa agar, de éstas se identificaron morfológicamente seis aislamientos de *Fusarium* spp. y tres aislamientos de *Trichoderma* spp. (T1, T2 y T3). Con estos aislamientos de *Trichoderma* sp. Más dos aislamientos (*Trichoderma asperellum* Tc74 y T337) proporcionados por el Laboratorio de Fitopatología del CEPROBI se realizó la prueba de cultivo dual para el antagonismo. Se observó que los aislamientos Tc74 y T337 de *Trichoderma asperellum* tuvieron antagonismo sobre todos los aislamientos de *Fusarium* spp. Como mecanismo de estimulación del desarrollo radicular, se realizaron pruebas de producción de ácido indol acético o compuestos similares (AIA) *in vitro* de las cepas de *Trichoderma* spp.; se estimuló adicionando L-triptofano, triptamina y triptofol (200 µg ml⁻¹) en el medio de cultivo TSB. Todos los aislamientos mostraron incremento en la producción de AIA con la adición de triptamina y triptofol, siendo la cepa T1 la que mayor producción tuvo. Con estos resultados, se seleccionaron las cepas T1 y Tc74 de *Trichoderma* como las mejores para el biocontrol de *Fusarium* sp. y para el desarrollo radicular de ciclamen.

Identificación de levaduras y evaluación de su capacidad para inhibir a *Colletotrichum* spp. causante de la antracnosis en aguacate (*Persea americana* Mill.)

Angel Campos Martínez

México es el principal productor y exportador de aguacate del mundo. El estado de Morelos ocupa la tercera posición nacional y el municipio de Ocuilco es el mayor productor del Estado. Por otro lado, la antracnosis es una de las principales enfermedades que afecta al cultivo del aguacate ocasionando pérdidas importantes. Esta enfermedad se manifiesta con manchas de color negro y pudrición de la pulpa. El control de la enfermedad se realiza con productos químicos que pueden provocar resistencia del hongo y afectaciones al ambiente y a la salud humana. Una alternativa para el manejo de la enfermedad son las levaduras, las cuales tienen potencial como agentes de biocontrol contra diferentes especies fúngicas. El objetivo de este estudio fue aislar levaduras y evaluar su capacidad para inhibir a *Colletotrichum* spp. agente causal de la antracnosis. Los hongos fitopatógenos fueron aislados de lesiones de frutos recolectados en parcelas de Ocuilco, Jumiltepec y Tetela del Volcán, Morelos. Los aislados fúngicos puros se mantuvieron en PDA. Las pruebas de patogenicidad se hicieron en frutos de las variedades Hass y Fuerte. Los hongos fueron identificados considerando sus características morfológicas y moleculares. Las levaduras fueron aisladas de frutos, hojas y suelo rizosférico de aguacate. Éstas se purificaron y se mantuvieron en PDA. Las pruebas de antagonismo *in vitro* de las levaduras contra los hongos fitopatógenos se realizaron en cultivo dual. Se obtuvo un total de 20 aislados de *Colletotrichum* spp. de los cuales 9 fueron capaces de generar lesiones típicas de antracnosis en frutos de aguacate. Se identificaron 3 especies diferentes del género *Colletotrichum*: *C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *Colletotrichum* sp. Por otro lado, se identificaron dos especies de levaduras antagonistas: *Candida intermedia* y *Pichia anomala*. Esta última protegió a los frutos de aguacate de la antracnosis causada por *Colletotrichum* spp.