

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS



**“ETIOLOGÍA DE LA PUDRICIÓN DE INFLORESCENCIAS Y FRUTO DE YACA
(*Artocarpus heterophyllus* Lam.) Y EVALUACIÓN ANTAGÓNICA DE TRES
ESPECIES DE *TRICHODERMA*”**

ING. MARÍA DE LOS ANGELES MEDINA TIZNADO

Tesis presentada como requisito parcial para la obtención de grado de:
Maestría en Ciencias en el Área de Ciencias Agrícolas

Xalisco, Nayarit; Febrero de 2018

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE NAYARIT

POSGRADO EN CIENCIAS BIOLÓGICO AGROPECUARIAS



**“ETIOLOGÍA DE LA PUDRICIÓN DE INFLORESCENCIAS Y FRUTO DE YACA
(*Artocarpus heterophyllus* Lam.) Y EVALUACIÓN ANTAGÓNICA DE TRES
ESPECIES DE *TRICHODERMA*”**

TESIS

**PARA OBTENER EL GRADO DE MAESTRA EN CIENCIAS EN EL
ÁREA DE CIENCIAS AGRÍCOLAS**

PRESENTA: MARÍA DE LOS ANGELES MEDINA TIZNADO

Comité tutorial:

Director: Dr. Gregorio Luna Esquivel

Co-director: Dr. Octavio Jhonathan Cambero Campos

Asesor: Dra. Leobarda Guadalupe Ramírez Guerrero

Asesor: Dr. Claudio Ríos Velasco

Xalisco, Nayarit; Febrero de 2018

DEDICADA

A mis padres: Ramona Tiznado Hernández y J.
Marcos Medina Islas

A mi esposo: Juan Antonio Pérez Correa

A todos mis hermanos pero principalmente a mi mami
Alma, Mariela y Meño por brindarme su apoyo
incondicional y motivarme a seguir adelante.

A mis padrinos: Aidee Cossio y Asunción Cervantes, por
todo su cariño, sus consejos y motivarme a ser mejor
cada día.

Y a mí prieta hermosa: Lunita.

AGRADECIMIENTOS

A **DIOS** por todas las bendiciones que me brinda día con día.

Al pueblo de México por contribuir con su granito de arena.

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT) por el financiamiento de mis estudios de posgrado.

A la Universidad Autónoma de Nayarit por abrirme las puertas de sus instalaciones.

Al Posgrado en Ciencias Biológico Agropecuarias y a todos los profesores que contribuyeron de manera positiva en mi formación académica.

A mi Comité Tutorial:

Al Dr. Gregorio Luna Esquivel por la planeación y dirección de esta investigación, de corazón gracias.

Al Dr. Jhonathan Cambero Campos, Dra. Leobarda Guadalupe Ramírez Guerrero y Dr. Claudio Ríos Velasco por sus valiosos conocimientos, aportaciones, sugerencias y correcciones al trabajo de investigación.

Al MC Carlos Carvajal Cazola (†) por formar parte de mi comité en un inicio pero que se adelantó en el camino.

Al personal del Laboratorio de Parasitología Agrícola del CEMIC-03: Xochilt, Gerardo, Israel y Ramón por su amistad y compañerismo.

A mis amigos Eliza, Félix y Sergio y mis compañeros de laboratorio.

A los propietarios de las huertas: Gustavo Flores y en especial al señor Carlos Sánchez López por la aportación de inflorescencias y frutos para realizar las pruebas de patogenicidad de yaca consideradas en el estudio y por las facilidades brindadas.

ÍNDICE GENERAL

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN	1
1.1 Objetivo general	4
1.2 Objetivos específicos	4
CAPITULO II. REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1 <i>Artocarpus heterophyllus</i>	5
2.1.1 Clasificación taxonómica.....	5
2.2 Nombres comunes de la yaca en el mundo	5
2.3 Genotipos y cultivares de yaca en el mundo.....	6
2.4 Botánica.....	6
2.4.1 Inflorescencias	6
2.4.2 Frutos	6
2.5 Clima y tipo de suelo	7
2.6 Propagación.....	7
2.7 Cultivo de yaca en prácticas agroforestales.....	7
2.8 Propiedades de la yaca	8
2.9 Plagas y enfermedades	9
2.9.1 Insectos en el cultivo de yaca a nivel mundial	9
2.9.2 Enfermedades en el cultivo de yaca a nivel mundial	9
3.0 Importancia en la medicina	10
3.1 El cultivo de yaca (<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam) en México y Nayarit	11
CAPITULO III. HONGOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE INFLORESCENCIAS DE <i>Artocarpus heterophyllus</i> Y SU ASOCIACIÓN CON <i>Toxoptera aurantii</i> EN NAYARIT MÉXICO	13
CAPITULO IV. <i>Lasiodiplodia theobromae</i> AGENTE CAUSAL DE LA PUDRICIÓN BLANDA DE FRUTOS DE <i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam EN NAYARIT, MÉXICO	34
CAPITULO V. EFECTIVIDAD ANTAGÓNICA DE TRES ESPECIES DE TRICHODERMA CONTRA HONGOS AISLADOS DE INFLORESCENCIAS Y FRUTOS DE <i>Artocarpus heterophyllus</i>	50
CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES GENERALES	66
CAPÍTULO VII. LITERATURA CITADA	67

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Propiedades de la yaca (análisis realizado por el USDA en plantaciones de Florida 2017).	8
Cuadro 2. Porcentaje de patogenicidad de aislados de hongos al ser evaluados bajo condiciones de laboratorio contra inflorescencias femeninas y masculinas	24
Cuadro 3. Resultados del análisis de varianza de las confrontaciones entre tres especies de <i>Trichoderma</i> spp y seis fitopatógenos aislados de inflorescencias y frutos de <i>Artocarpus heterophyllus</i>	56
Cuadro 4. Indicadores de crecimiento de tres hongos antagonistas evaluados y seis patógenos aislados de inflorescencias y frutos de yaca.....	57
Cuadro 5. Comparación de medias de las confrontaciones realizadas durante la evaluación antagónica in vitro de tres especies de <i>Trichoderma</i> spp contra seis patógenos aislados de inflorescencias y frutos de yaca.....	57

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Síntomas de pudrición en inflorescencias femeninas de yaca, A) Testigo con herida, B) <i>Fusarium solani</i> , C) Testigo con herida, D) <i>Aspergillus flavus</i> , E) Testigo con herida, F) <i>Rhizopus stolonifer</i> , G) Testigo sin herida (PDA sin micelio), H) <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	25
Figura 2. Síntomas de pudrición en inflorescencias masculinas de yaca, A) Testigo sin herida, B) <i>Fusarium solani</i> , C) Testigo sin herida, D) <i>Aspergillus niger</i> , E) Testigo con herida, F) <i>Aspergillus flavus</i> , G) Testigo con herida, H) <i>Rhizopus stolonifer</i> I) Testigo sin herida (PDA sin micelio), J) <i>Cunninghamella clavata</i> , K) Testigo con herida (PDA sin micelio), L) <i>Lasiodiplodia theobromae</i>	26
Figura 3. Caracteres morfológicos microscópicos de los hongos patógenos de inflorescencias de yaca en Nayarit, A) <i>Fusarium solani</i> , B) <i>Aspergillus niger</i> , C) <i>Aspergillus flavus</i> , D) <i>Rhizopus stolonifer</i> , E) <i>Cunninghamella clavata</i> , F) <i>Lasiodiplodia theobromae</i> (conidios maduros e inmaduros).	27
Figura 4. Síntomas de pudrición de frutos de yaca causados por <i>Lasiodiplodia theobromae</i> , A) Testigo con herida, B) Testigo sin herida, C) Pudrición marrón a partir del área inoculada con herida, D) Inicio de síntoma de la enfermedad a partir del área inoculada sin herida E) Pudrición completa del fruto y esporulación del patógeno F) Pudrición interna de fruto (zona de avance de la enfermedad).	41
Figura 5. Crecimiento in vitro de <i>Lasiodiplodia theobromae</i> aislado de frutos de yaca en PDA, A) Crecimiento a las 24 h, B) Crecimiento a las 120 h, C) Producción de picnidios a los 20 d, D) Conidios inmaduros hialinos, E) Conidios maduros.	43
Figura 6. Crecimiento de antagonista y patógeno al realizar las confrontaciones mediante la técnica de cultivos duales.	58

RESÚMEN

Etiología de la pudrición de inflorescencias y fruto de yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) y evaluación antagonica de tres especies de *Trichoderma*.

El objetivo del presente estudio fue identificar los agentes causales de la pudrición de inflorescencias y frutos de yaca en Nayarit, así como evaluar el antagonismo de tres especies de *Trichoderma* como una alternativa de control biológico. La recolecta de inflorescencias (masculinas y femeninas) y frutos con síntomas de pudrición seca y blanda se realizó en dos huertas comerciales, una ubicada en El Llano municipio de San Blas y la segunda en la localidad de Las Varas municipio de Compostela durante los meses de mayo-junio (periodo seco) y agosto (periodo de lluvia). Para determinar los agentes causales de las pudriciones se aislaron los hongos en medio de cultivo PDA, se obtuvieron cultivos monosporicos, se realizaron las pruebas de patogenicidad y se hizo la identificación morfológica a nivel de género y finalmente se llevó a cabo la extracción y amplificación de ADN para la identificación molecular a nivel de especie. Se determinó que los agentes causales de la pudrición de inflorescencias femeninas son *Fusarium solani*, *Rhizopus stolonifer*, *Lasiodiplodia theobromae* y *Aspergillus flavus*, y para inflorescencias masculinas son *F. solani*, *R. stolonifer*, *L. theobromae*, *A. flavus*, *Aspergillus niger* y *Cunninghamella clavata* mientras que para frutos el agente causal es *L. theobromae*. De acuerdo a la evaluación *in vitro* de las pruebas de antagonismo mediante la técnica de cultivos duales *T. longibrachiatum* resultó ser la mejor especie para el control de los hongos fitopatógenos aislados del cultivo de yaca, esto debido a su rápida tasa de crecimiento que le permite competir por espacio y nutrientes.

CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN

El nombre científico de la yaca (*Artocarpus heterophyllus*) fue reportado por Lamarck, el cultivo es originario de las selvas tropicales de India y se cultiva en tierras tropicales en el sur y sureste asiático, partes de África y Brasil. Los principales productores de yaca en el mundo son Bangladesh, India, Myanmar, Tailandia, Vietnam, China, Filipinas, Indonesia, Malasia y Sri Lanka (APAARI, 2012).

En México, el cultivo de yaca se encuentra distribuido en los estados de Nayarit, Jalisco, Veracruz, Sinaloa, Colima y Michoacán con una superficie sembrada de 1,275.14 ha con un valor de producción de \$104,584.51 millones de pesos. Nayarit ocupa el primer lugar al concentrar el 90 % de la superficie sembrada (SIAP, 2016).

El cultivo es considerado como una alternativa rentable debido a que la mayoría de la producción se exporta como fruto fresco a los Estados Unidos de América, Canadá y Europa (SIAP, 2016), el fruto de yaca es atractivo por su valor nutrimental y se puede consumir como fruta fresca, dulces, paletas, nieves, mermelada, botana, curtido y cocinado (Molla *et al.*, 2008; Luna *et al.*, 2013; Ihediohanma *et al.*, 2014).

En los últimos años en Nayarit, las inflorescencias y frutos de yaca se han visto afectadas por una pudrición seca y blanda que se presenta durante o posterior a la antésis y en etapa de madurez fisiológica o en poscosecha lo que trae consigo la reducción de la producción y deterioro de la calidad en fruto.

Los hongos que limitan principalmente la producción del cultivo de yaca son aquellos que causan pudrición blanda en frutos como *Aspergillus niger* identificado en poscosecha en Nayarit (Ragazzo *et al.*, 2011), el moho blanco causada por *Sclerotinia sclerotiorum* en Bangladesh que ocasiona pudrición blanda color marrón oscuro y sobre ella se desarrollan esclerocios (Rahman *et al.*, 2015), *Rhizopus artocarp*i registrado en Florida y Bangladesh y *R. stolonifer* en India quienes desarrollan micelio blanco con esporulación negra la cual cubre el fruto y ocasiona la momificación de los

mismos, sin embargo, se reportó que *R. oryzae* también tiene la capacidad de ocasionar la pudrición en frutos de yaca (Crane y Balerdi, 2000; Nelson, 2005; APAARI, 2012; Ghosh, 2015), en Taiwán se reportó a *Lasiodiplodia theobromae* ocasionando pudrición marrón en frutos (Ni *et al.*, 2008), asimismo se reportó la bacteria *Erwinia stewartii* que ocasiona el bronceado de yaca que afecta gajos y pulpa del fruto sin mostrar síntoma externo alguno en Filipinas y Malasia (Gapasin *et al.*, 2014; Zulperi *et al.*, 2017).

El fruto de yaca sigue siendo considerado como exótico y tiene una gran demanda de mercado por lo que año con año la superficie sembrada va aumentando y con ella los problemas fitosanitarios van apareciendo, entre ellos la pudrición de inflorescencias y frutos sin que haya estudios cuantificables al respecto por lo que no se pueden tomar las medidas necesarias para contrarrestar este problema de manera idónea, aunado a esto el uso de plaguicidas es muy limitado, ya que sólo se tiene la autorización del fungicida azoxystrobin y un herbicida (glifosato) por parte de la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA) de los Estados Unidos de América, sin embargo, los países consumidores demandan productos agrícolas sin residuos de pesticidas (Serrano *et al.*, 2005) debido a que su aplicación constante está ocasionando cada vez más problemas al ambiente y problemas de salud a quienes los aplican. Dentro del cultivo de yaca sólo se ha utilizado *Burkholderia cenocepacia*, *Pseudomonas poae* y tres cepas diferentes de *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* como control biológico para el control de *R. stolonifer* teniendo una efectividad superior al 90 % (Ghosh *et al.*, 2015).

Las especies del género *Trichoderma* son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades de plantas producidas por hongos, debido a su ubicuidad, facilidad para ser aisladas y cultivadas, crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores (Papavizas, 1982); los mecanismos de acción son fundamentalmente por competencia directa, por el espacio o nutrientes, producción de metabolitos antibióticos y micoparasitismo (Harman, 2006).

Por lo anterior, el objetivo de esta investigación fue conocer la etiología de la pudrición de las inflorescencias y frutos de yaca y evaluar tres especies de *Trichoderma* spp como una alternativa para el control del agente causal de la pudrición y así contribuir en el manejo de esta enfermedad en las zonas productoras de Nayarit.

1.1 Objetivo general

- Conocer la etiología de la pudrición de inflorescencias y fruto de yaca en Nayarit, así como evaluar el antagonismo de tres especies de *Trichoderma*.

1.2 Objetivos específicos

- Identificar los patógenos causantes de la pudrición de inflorescencias y fruto de yaca en Nayarit.
- Identificar morfológica y molecularmente los patógenos causantes de la pudrición de inflorescencias y fruto de yaca en Nayarit.
- Evaluar *in vitro* el antagonismo de *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* como una alternativa para el control de los agente causales de la pudrición del fruto e inflorescencias de yaca.

CAPITULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

La familia Moraceae contiene más de 50 géneros y más de 800 especies de zonas tropicales y subtropicales principalmente, sin embargo, incluye algunas de zonas templadas, los miembros de la familia son árboles y arbustos que contienen látex (Haq, 2006). La palabra Artocarpus se deriva del griego artos (pan) y carpos (fruta) (Bailey, 1942), el género incluye alrededor de 50 a 60 especies distribuidas por la región de Indo-Malasia y el sur de China (APAARI, 2012).

2.1 *Artocarpus heterophyllus*

Es originario de las selvas tropicales de India y se cultiva en tierras tropicales en el sur y sudeste asiático, partes de África y Brasil. Los principales productores de yaca son Bangladesh, India, Myanmar, Tailandia, Vietnam, China, Filipinas, Indonesia, Malasia y Sri Lanka sin que se tengan datos precisos al respecto (APAARI, 2012).

2.1.1 Clasificación taxonómica

Reino:	<i>Plantae</i>
División:	<i>Magnoliophyta</i>
Clase:	<i>Magnoliopsida</i>
Orden:	<i>Rosales</i>
Tribu:	<i>Artocarpeae</i>
Familia:	<i>Moraceae</i>
Género:	<i>Artocarpus</i>
Nombre científico:	<i>Artocarpus heterophyllus</i> Lam.
Nombre común:	<i>Árbol del pan, Pan del pobre, pan de palo, fruta de pan, yaca</i>

2.2 Nombres comunes de la yaca en el mundo

El nombre que recibe la yaca varía de un país a otro como a continuación se menciona: jackfruit (inglés), bo loup mi (China), jacquier (Francia), nanka (Indonesia), yaca o jaca (español y portugués), lanka (Filipinas), kapiac (Nueva Guinea), uto ni India (Fiji), ulu initia (Samoa), chakka, chakki, kanthal, kathar, panos (India), jaca, jacca mole, jaca dura (Brazil), mit (Vietnam), khanun, makami y banum (Tailandia) (Love y Paull, 2011).

2.3 Genotipos y cultivares de yaca en el mundo

Love y Paull (2011) reportan en Australia diversos genotipos y cultivares entre los que destacan 'Black Gold', 'Gold Nugget', 'Honey Gold', 'Lemon Gold', 'Cochin', 'Kun Wi Chan', 'Leung Bang', 'Bostworth', 'Galaxy', Fitzroy y 'Nahen'; Tailandesas 'Dang Rasimi', 'Golden Pillow', 'Chompa Grob', 'Malaysia', 'Mastura', 'NS1', 'J33', 'J31', 'J30' y 'J29'. En Indonesia 'Tabouey' y 'Bali Beauty'; en la India 'Muttam' y 'Varikka'; en Singapur 'Chompa Gob', 'Handia', 'Khaja' y 'Safeda' y 'Badaya' y 'Busila' en Sri Lanka.

2.4 Botánica

2.4.1 Inflorescencias

La yaca es una especie dioica que produce inflorescencias masculinas y femeninas durante todo el año, sin embargo, la distribución de la lluvia tiene influencia directa en los picos de floración, ya que este coincide con el periodo más seco (Haq, 2006). Las flores se producen en tallo, brotes y ramas axilares y terminales. Las inflorescencias femeninas son cortas, de color verde y forma oblonga que llegan a crecer de 4-12 cm con un diámetro de 2-7 cm, las masculinas son de forma cilíndrica o de barril y su tamaño varía de 2-11 cm de largo y 1-5 cm de diámetro, en un inicio son de color verde claro y lisas volviéndose amarillento y áspero cuando aparecen las anteras, después de la dehiscencia se vuelven gris opaco y caen, posterior a la antesis las inflorescencias detienen su crecimiento para caer a los 25-39 días después de la emergencia de la estípula (Pushpakumara, 2006).

2.4.2 Frutos

Los frutos son compuestos o agregados que llegan a pesar de 4.5 a 27.3 kg, la cáscara es extremadamente rugosa y gruesa de color verde cuando esta inmaduro y se mantiene verde o se torna verde amarillento al madurar. La parte comestible rodea a cada semilla y está compuesta por una pulpa dulce, aromática, crujiente y suave. Las semillas son ovales y alcanzan tamaños de 2 a 3 cm de longitud, llegando a producir

de 30 a 500 semillas por fruto. El período entre la floración y la maduración de los frutos varía entre 150 y 180 días (Crane y Balerdi, 2000).

2.5 Clima y tipo de suelo

El cultivo de yaca requiere de un clima tropical cálido-húmedo, una altitud por debajo de los 1000 m y una precipitación de 1500 mm, es tolerante a la sequía (3-4 meses) pero tiene un mejor desarrollo al tener una humedad uniforme y continua y vientos moderados, pero no tolera inundaciones por encharcamientos y mal drenaje. Se requiere de suelos profundos, bien drenados, suelos aluviales, arenosos o arcillosos y un pH de 6.0-7.5 (Crane y Balerdi, 2000; Elevitech y Manner, 2006).

2.6 Propagación

Las semillas son el principal medio de propagación y el método más usado (Love y Paull, 2011), sin embargo, también puede propagarse por injertos y estacas, siendo la propagación vegetativa la más exitosa (Jonathan *et al.*, 2013). Las semillas tienen una viabilidad muy baja (30 días) por lo que deben sembrarse inmediatamente después de la extracción (Crane y Balerdi, 2000; Priya Devi, 2014) mientras que por injerto se obtiene resultados de 70-80 % (Abd El-Zaher, 2008). Las plántulas se cultivan y desarrollan mejor bajo la sombra y deben ser trasplantadas antes de que alcancen un año de edad para evitar el daño de raíces. Se recomiendan siembras de 8 x 8 m para árboles injertados y de 10 x 10 a 12 x 12 m para los sembrados. Comparado con otros cultivos, los árboles de yaca reproducidos por semillas son más precoces que la mayoría de otras especies frutales (Haripriya, 2014).

2.7 Cultivo de yaca en prácticas agroforestales

En India la yaca se ha incluido en prácticas agroforestales con el fin de reducir la erosión de suelos debido al uso intensivo en la agricultura familiar (John, 2014), ha sido intercalado con mango y cítricos (Singh *et al.*, 2011), cultivos anuales como banano, maíz dulce, cacahuete y guisantes (Magcale-Macandog, 2010), puede ser plantado junto con bambú, maíz y piña siendo una de las mejores prácticas (Kanfade, 2014), otra alternativa es yaca, goma, cajú y mangostán (Joshi *et al.*, 2006, John, 2014).

2.8 Propiedades de la yaca

Cuadro 1. Propiedades de la yaca (análisis realizado por el USDA en plantaciones de Florida 2017).

Nutrientes	Unidad	Valor/100 g	1 taza en rodajas (165 g)	1 taza, en piezas (151 g)
Agua	g	73.46	121.21	110.92
Energía	Kcal	95	157	143
Proteína	g	1.72	2.84	2.60
Total de lípidos (grasa)	g	0.64	1.06	0.97
Carbohidratos por diferencia	g	23.25	38.36	35.11
Fibra, dieta total	g	1.5	2.5	2.3
Azúcar total	g	19.08	31.48	28.81
Calcio (Ca)	mg	24	40	36
Fierro (Fe)	mg	0.23	0.38	0.35
Magnesio (Mg)	mg	29	48	44
Fosforo (P)	mg	21	35	32
Potasio (K)	mg	448	739	676
Sodio (Na)	mg	2	3	3
Zinc (Zn)	mg	0.13	0.20	0.21
Vitamina C (total de Ac. ascórbico)	mg	13.7	22.6	20.7
Tiamina	mg	0.105	0.173	0.159
Rivoflamina	mg	0.055	0.091	0.083
Niacina	mg	0.920	1.518	1.389
Vitamina B-6	mg	0.329	0.543	0.497
Ácido fólico	µg	24	40	36
Vitamina B-12	µg	0.00	0.00	0.00
Vitamina A (RAE)	µg	5	8	8
Vitamina A (IU)	IU	110	182	166
Vitamina E (alfa-tocoferol)	mg	0.34	0.56	0.51
Ac. grasos totalmente saturados	g	0.195	0.322	0.294
Ac. grasos monoinsaturados	g	0.155	0.256	0.234
Ac. grasos poliinsaturados	g	0.094	0.155	0.142
Colesterol	mg	0	0	0

2.9 Plagas y enfermedades

2.9.1 Insectos en el cultivo de yaca a nivel mundial

En Florida se reporta el daño de ramas y troncos por insectos barrenadores (*Elaphidion mucronatum*, *Nyssodrysinia haldemani*, *Leptostylopsis terraecolor*) y escamas (*Pinnaspis strachani*, *Aspidiotus destructor*, *Protopulvinaria mangiferae*, *P. pyriformis*) (Crane y Balerdi, 2000). En India y Bangladesh se reporta una mayor diversidad de insectos plagas que atacan al cultivo, entre las que se encuentran piojos harinosos (*Nipaecoccus viridis*, *Ferrisia virgata* y *Drosicha mangiferae*) (Butani, 1979; Krishnamoorthy 1997; Ghosh, 1998), insectos que dañan las raíces (*Crossononema malabaricum*, *Neolobocrilonema palamiensis*, *Anomala* sp. y *Leucopholis irroratia*) (Reddy, 1998), perforador de la fruta (*Diaphania caesalis*), moscas de la fruta (*Dacus umbrosus*, *Bactrocera dorsalis*, *Chactodacus ferruginens*), barrenador del tallo (*Batocera rufomaculata*, *Inderbela tetraonis*), pulgones (*Greenidia artocarp*i y *Toxopetra aurantii*), picudos (*Ochyromera atrocarpi*, *Onychocnemis careyae* y *Teluropus ballardi*), cochinilla (*Planococcus lilacinus*), termitas (*Nasutitermes luzonicus*), chinches (*Cosmoscarta relata* y *Clovvia lineaticollis*) y saltamontes (*Melicodes tenebrosa*) (Soepadmo, 1992, Azad, 2000)

2.9.2 Enfermedades en el cultivo de yaca a nivel mundial

Entre los patógenos que afectan las raíces de la yaca así como la base de las plántulas se ha reportado a *Pythium splendens*, *Phytophthora* sp., *Fusarium* sp., *Rhizoctonia* sp., *Gonoderma* sp., *Macrophomina phaseolina*, *Rosellinia arcuata* y *R. bunodes* en Florida, India y Bangladesh (Crane y Balerdi, 2000; APAARI, 2012), *Phytophthora palmivora* se reportó en huertas en etapa de producción en Filipinas y Vietnam (Borines *et al.*, 2013; Van Tri, *et al.*, 2015) mientras que en China se reportó marchitez y agrietamiento del tronco ocasionado por el nemátodo *Meloidogyne enterolobii* (Long *et al.*, 2015). En plántulas se han reportado daños por tizón ocasionados por diferentes patógenos como *Gloeosporium* sp. y *Phyllosticta artocarp*i en Florida (Crane y Balerdi, 2000), *Botryodiplodia theobromae* pat, *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. and Sacc., *P. artocarpina* y *Pseudomonas syringae* pv. *syringae* en Bangladesh (Haque, 2005; Chowdhury-Hossain, 2011; Joshi, 2015; Chowdhury, *et al.*, 2015),

Lasiodiplodia theobromae, *Cercospora* sp., *C. gloeosporioides*, *Gleosporium* sp., *Phomopsis* sp., *Septoria* sp., *P. artocarpina* y *Altermaria* sp. en India (APAARI, 2012). La pudrición de inflorescencias masculinas y femeninas se ven afectadas por *R. artocarp* y *Botrytis cinérea* en Florida (Crane y Balerdi, 2000). En lo que respecta a los frutos estos se ven afectados principalmente por pudriciones fúngicas ocasionados por diversos patógenos como *R. artocarp* en Florida y Bangladesh (McMillan, 1974; APAARI, 2012), *Rhizopus stolonifer* en India (Ghosh *et al.*, 2015), *Sclerotinia sclerotiorum* en Bangladesh (Rahman *et al.*, 2015) y *Lasiodiplodia theobromae* en Taiwán (Ni *et al.*, 2008), sin embargo, también se han reportado daños por la bacteria *Erwinia stewartii* en Filipinas y Malasia (Gapasin *et al.*, 2014; Zulperi *et al.*, 2017).

3.0 Importancia en la medicina

Las especies de *Artocarpus* han sido empleadas por la medicina tradicional en India, su valor medicinal es inmenso y se considera una rica fuente de carbohidratos, minerales, ácidos carboxílicos, fibra dietética y vitaminas como el ácido ascórbico y tiamina (USDA, 2017), el manganeso y magnesio (Barua y Boruah, 2004), potasio, calcio y hierro (Goldenberg, 2014) se encuentran en la semilla, así como dos lectinas (jacalin y artocarpin) (Theivasanthi y Alagar, 2011).

Estudios han demostrado que la lectina jacalin es útil para la evaluación del estado inmune de los pacientes infectados con el virus de la inmunodeficiencia humana (Haq, 2006), las nanopartículas de semillas son eficaces contra *Escherichia coli* y *Bacillus megaterium* (Theivasanthi *et al.*, 2011) y tienen actividad antioxidante (Biworo, 2015), además actúa contra la inflamación, la fiebre por la malaria y enfermedades de la piel (Khan *et al.*, 2003), es anti-bacteriana y antihelmíntica (Soeksmanto *et al.*, 2007). Las hojas de yaca se utilizan para la curación de úlceras y debido a la presencia de sustancias hipoglucémicas y hipolipidémicas tienen el potencial de curar personas diabéticas (Prakash *et al.*, 2009), hojas y tallo contienen sapogeninas, cicloartenona, cicloartenol, β -sitosterol y taninos (Sathyavathi *et al.*, 1987). El artosteron obtenido del látex mezclado con vinagre ayuda en la cicatrización de la hinchazón glandular y mordeduras de serpiente (Devaraj *et al.*, 1985 y Mukherjee, 1993). El extracto de raíz es un remedio para el trastorno de la piel y el asma (Ferrao, 1999), la madera tiene

propiedades sedantes, cura la diarrea y fiebre (Samaddar, 1985), los frutos y raíces son utilizados para la infección por tenia (Patil *et al.*, 2002, Su *et al.*, 2002, Khan *et al.*, 2003).

3.1 El cultivo de yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam) en México y Nayarit

En México la producción de yaca se exporta a Estados Unidos de América (6, 838,304 t), Canadá (505,653 t) y Reino Unido (2,529 t) alcanzando una cifra de 16 mil 798 toneladas en 2016 las cuales generaron 7 millones 346 mil dólares de divisas (SIAP, 2016).

En Nayarit la yaca se introdujo en la década de 1960 (Luna *et al.*, 2013) y actualmente el Estado es el principal productor al concentrar el 90 % de la superficie sembrada que corresponde a 1150 ha con una producción anual de 17,053.21 t., la superficie establecida por ha se distribuye en los municipios de San Blas (642), Compostela (443.44), Santiago Ixcuintla (25), Bahía de banderas (11), Tepic (10.45), Tecuala (6), Acaponeta (5), Xalisco (5), Rosamorada (1.25) y Amatlán de Cañas (1) (SIAP, 2016).

En el estado de Nayarit se cultivan diferentes selecciones varietales como 'Agüitada', 'Buchona', 'Romina', 'Carlita', 'Ponciana', 'Clemente', 'Lisa', 'Bologna', 'R-15' y 'Yesi' las cuales no han sido registradas hasta el momento, sin embargo, el material 'Agüitada' es el que ocupa mayor superficie plantada y se ha propagado de forma asexual, las características que presenta son hojas pequeñas y enrolladas en los bordes, de porte bajo, el fruto es uniforme con peso entre 8 y 9 kg, pulpa color naranja y cáscara delgada, además muestra tolerancia a los vientos. La floración se presenta durante todo el año, sin embargo, la estacionalidad más fuerte se encuentra de mayo a septiembre y disminuye de octubre a enero (Luna *et al.*, 2013).

En lo que se refiere a plagas, Nova y Arrambide (1994) reportaron de manera general la presencia de cochinillas, pulgones y hormigas que afectan la calidad y cantidad de la producción de yaca, sin embargo, Rodríguez *et al* (2017) reportaron especies

fitófagas que afectan el cultivo, entre ellas se encuentran diabrotica (*Diabrotica balteata*), mosquita blanca (*Lecanoideus floccissimus*), pulgón café (*Aphis (Toxoptera) aurantii*), escamas (*Coccus viridis*), escama blanca (*Aulacaspis tubercularis*), salivasos (*Clastoptera* sp.), periquito (*Membracis mexicana*), chinche verde (*Nezara viridula*), cohinillas (*Maconellicoccus hirsutus*, *Pseudococcus citri*), chinche de encaje (*Stephanitis* sp.), hormigas (*Atta mexicana*) y cerambicidos (*Neoptychodes trilineatus*).

Con respecto a enfermedades que afectan los frutos de yaca solo se tiene reportado a *Aspergillus niger* por Ragazzo *et al.*, (2011) como agente causal de la pudrición en frutos poscosecha en Nayarit.

CAPITULO III. HONGOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE INFLORESCENCIAS DE *Artocarpus heterophyllus* Y SU ASOCIACIÓN CON *Toxoptera aurantii* EN NAYARIT MÉXICO

Fungi causing the inflorescence rot of *Artocarpus heterophyllus* and its association
with *Toxoptera aurantii* in Nayarit Mexico

**Medina-Tiznado MA¹, Luna-Esquivel G^{1,2}, Cambero-Campos J^{1,2}, Ramírez-
Guerrero LG^{1,2}, Rios-Velasco C³**

¹Maestria en Ciencias Biológico Agropecuarias, Universidad Autónoma de Nayarit. Xalisco, Nayarit, México. Carretera Tepic-Compostela Km. 9. C.P. 63780.

²Profesor-Investigador, Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit. Xalisco, Nayarit, México. Carretera Tepic-Compostela Km. 9. C.P. 63780.

³Profesor-Investigador, Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo, A.C. Unidad Cuauhtémoc. Cd. Cuauhtémoc, Chihuahua, México. Av. Río Conchos S/N. Parque Industrial. C.P. 31570.

Autor corresponsal: Luna Esquivel Gregorio. Unidad Académica de Agricultura, Universidad Autónoma de Nayarit. Km 9, carretera Tepic-Compostela, C. P. 63780 Xalisco, Nayarit, México. Correo electrónico: gollole@hotmail.com

Resumen

Nayarit es el principal estado productor de yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) en México. En ciclos recientes, se ha incrementado la pudrición de inflorescencias masculinas y femeninas reduciendo considerablemente el amarre de frutos y por ende afectando su producción sin conocer él o los agentes causales de esta problemática fitosanitaria. El objetivo del trabajo fue identificar los agentes causales de la pudrición de inflorescencias de yaca en Nayarit y la asociación del pulgón *Toxoptera aurantii* como posible vector. De mayo a agosto de 2016 se recolectaron inflorescencias de yaca con pudriciones húmedas y secas, así como especímenes de pulgones posados sobre inflorescencias masculinas de yaca (con pudrición y presencia de micelio) en plantaciones de los municipios de San Blas y Compostela, Nayarit, México. Se

procesaron 300 disecciones de las zonas de avance de la enfermedad a partir de 250 inflorescencias y 40 disecciones de especímenes de pulgones. Se aislaron seis hongos de inflorescencias, una de estas también asociada al pulgón. De acuerdo con sus caracteres morfológicos y moleculares correspondieron a *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus*, *Rhizopus stolonifer*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Aspergillus niger* y *Cunninghamella clavata*. Estos hongos se inocularon sobre la epidermis de inflorescencias asintomáticas a una concentración de 1×10^6 esporas/mL, excepto *C. clavata* y *L. theobromae*, en los cuales se usaron segmentos de PDA con micelio debido a baja producción de esporas. La inoculación se hizo mediante dos procedimientos (con y sin herida) y se mantuvieron bajo condiciones de laboratorio. Todos los aislados fueron patogénicos. Los síntomas de pudrición se observaron desde el 1^{er} día hasta el 5^{to} día post-inoculación (dpi). Las inflorescencias femeninas de yaca fueron susceptibles al ataque de *F. solani*, *A. flavus*, *R. stolonifer* y *L. theobromae*, mientras que en las masculinas las responsables de la pudrición fueron *F. solani*, *A. flavus*, *R. stolonifer*, *L. theobromae*, *A. niger* y *C. clavata* en Nayarit, México. Asimismo, se confirmó que *T. aurantii* es vector de *R. stolonifer*.

Palabras claves: agentes causales, caracteres morfológicos, pruebas de patogenicidad, yaca.

ABSTRACT

Nayarit is the main producer state of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) in Mexico. In recent cycles, the rot male and female inflorescence has increased considerably reducing the mooring of fruit and therefore affecting its production without know it or the causal agents of this phytosanitary problem. The objective of the work was to identify the causal agents of the jackfruit inflorescence rot in Nayarit and the association of the aphid *Toxoptera aurantii* as a possible vector. From May to August 2016, jackfruit inflorescences with wet and dry decay were collected, as well as specimens of aphids perched on male jackfruit inflorescences (with rot and presence of mycelium) in plantations in the municipalities of San Blas and Compostela, Nayarit, Mexico. Three hundred dissections of disease progression zones were processed from

250 inflorescences and 40 dissections of aphid specimens. Six inflorescence fungi were isolated, one of them also associated with the aphid. According to their morphological and molecular characters they corresponded to *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus*, *Rhizopus stolonifer*, *Lasiodiplodia theobromae*, *Aspergillus niger* and *Cunninghamella clavata*. These fungi were inoculated on the epidermis of asymptomatic inflorescences at a concentration of 1×10^6 spores/mL, except *C. clavata* and *L. theobromae*, in which segments of PDA with mycelium were used due to low spore production. The inoculation was done by two procedures (with and without wound) and kept under laboratory conditions. All the isolates were pathogenic. The symptoms of rot were observed from the 1st day to the 5th day post-inoculation (dpi). The female jackfruit inflorescences were susceptible to the attack of *F. solani*, *A. flavus*, *R. stolonifer* and *L. theobromae*, while in the male ones the responsible for the decay were *F. solani*, *A. flavus*, *R. stolonifer*, *L. Theobromae*, *A. niger* and *C. clavata* in Nayarit, Mexico. Likewise, it was confirmed that *T. aurantii* is a vector of *R. stolonifer*.

Key words: causal agents, morphological characters, pathogenicity tests, jackfruit.

Introducción

La yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) (Rosales: Moraceae) es un frutal tropical originario de India (APAARI, 2012) que se introdujo a México y se cultiva principalmente en Nayarit, representando el 90 % de la superficie plantada que corresponde a 1,130 ha (SIAP, 2016). El éxito del frutal radica en que es un fruto destinado a exportación, principalmente hacia Estados Unidos de América y ha desplazado a los cultivos de mango (*Mangifera indica* L.) y plátano (*Musa paradisiaca* L.) en cuanto a superficie plantada (Luna *et al.*, 2013; SIAP, 2016).

La yaca es una especie dioica que produce inflorescencias femeninas y masculinas durante todo el año (Haq, 2006), las primeras se desarrollan principalmente en el tallo y ramas axilares cortas y las segundas en brotes y ramas terminales. En esta etapa de desarrollo fenológico, la yaca se ve afectada por diversos factores bióticos y abióticos, destacando principalmente hongos e insectos. En un estudio realizado en Bangladesh se reportó la caída del 18.9 % de inflorescencias femeninas dañadas por

Rhizopus sp. (Ghosh, 1994). En Florida, EUA, Crane y Balerd (2000) reportaron a *Botrytis cinerea* y *Rhizopus artocarp*i ocasionando pudrición en ambos tipos de inflorescencias. En huertas de yaca de Sri Lanka, Pushpakumara (2006) reportó un 11.7 % de inflorescencias con daños ocasionados por insectos y patógenos (no identificados), los cuales impidieron la fecundación y amarre de frutos. Recientemente se ha reportado la ocurrencia de pudriciones en inflorescencias masculinas de yaca causadas por *R. artocarp*i (APAARI, 2012) en Tailandia y *Rhizopus stolonifer* (Ghosh *et al.*, 2015) en India.

Las pudriciones ocasionadas por *R. artocarp*i y *R. stolonifer* inician con áreas húmedas y micelio grisáceo que gradualmente se tornan de color negro con un crecimiento micelial denso que cubre las inflorescencias, las cuales se pudren lentamente, se momifica y cae del árbol (Crane y Balerdi, 2000).

En India durante periodos secos seguidos de días lluviosos se favorece la multiplicación de áfidos como *Greenidea artocarp*i Westwood y *Toxoptera aurantii* (Boyer de Fonscolombe) (Hemiptera: Aphididae), ambos se alimentan de brotes tiernos y hojas de yaca cubiertas por moho negro ocasionado por *R. artocarp*i (Haq, 2006; APAARI, 2012). En Nayarit, México Rodríguez *et al.* (2017) reportaron la presencia de *T. aurantii* posando en inflorescencias masculinas de yaca con presencia de moho gris, sin determinar el hongo causante de la pudrición. El pulgón *T. aurantii* ha sido reportado como vector del virus de la tristeza de los cítricos (VTC) logrando una diseminación horizontal entre árboles debido a su patrón de vuelo a distancias cortas (Silva *et al.*, 2001; Patiño-Arellano *et al.*, 2012).

En huertas de yaca en Nayarit, es evidente la presencia de inflorescencias masculinas y femeninas con diferentes características de pudrición, así como la presencia de *T. aurantii* sobre inflorescencias masculinas con síntomas de pudrición. Debido a la limitada información disponible y a la ausencia de investigaciones al respecto, el objetivo del estudio fue identificar morfológica y molecularmente los agentes causales de la pudrición de inflorescencias de yaca y la asociación de *T. aurantii* con las pudriciones.

Materiales y Método

Zona de muestreo: Los muestreos se realizaron en huertas con árboles de 10 años de edad en las localidades de El Llano (21°24'58"N; 105°11'28"O, 40 msnm) y Las Varas (21°10'13"N; 105°09'36"O, 24 msnm) en los municipios de San Blas y Compostela, respectivamente, en Nayarit, México.

Recolecta de material sintomático: Se recolectó un total de 250 inflorescencias de huertas comerciales (150 masculinas y 100 femeninas) con síntomas de pudrición húmeda (105 masculinas y 40 femeninas) y pudrición seca (40 masculinas y 60 femeninas) y 20 especímenes de pulgón posados sobre abundante micelio en inflorescencias masculinas con pudrición húmeda durante los meses de mayo, junio y agosto del 2016. El material biológico recolectado se trasladó al laboratorio de Parasitología Agrícola del Centro Multidisciplinario de Investigación Científica (CEMIC 3) de la Universidad Autónoma de Nayarit para el aislamiento de posibles microorganismos patógenos a partir de las inflorescencias y del pulgón como posible vector de hongos causantes de pudriciones en inflorescencias de yaca.

Aislamiento de microorganismos: Se seccionó el tejido vegetal (inflorescencias) de la zona de avance de la enfermedad (zona de transición) de 0.5 cm² y se desinfectó con NaClO al 3 % por 2 min, los 20 especímenes de pulgones se disectaron por mitad y se sumergieron en alcohol etílico al 70 % por 2 min, posteriormente el tejido y los pulgones se enjuagaron con agua destilada estéril en tres tiempos por 2 min y se colocaron en sanitas estériles para su secado a temperatura ambiente, subsecuentemente se sembraron (150 cortes de tejido de inflorescencias masculinas, 150 de femeninas y 40 de pulgones) en cajas de Petri con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA-BIOXON[®]) y se incubaron a 28 °C ± 2 °C en una cámara de crecimiento por 7 d (NOVATECH[®]) (Agrios, 2005).

Obtención de cultivo monospórico: Los hongos que crecieron se aislaron y purificaron en PDA en base a la técnica descrita por Manandhar *et al.* (1995) para la obtención de cultivos monospóricos para su posterior identificación morfológica a nivel de género mediante claves taxonómicas de Barnett y Hunter (2006).

Pruebas de patogenicidad

Preparación de inóculo: Se utilizaron aislados con 5 d de desarrollo, a cada caja de Petri se le adicionaron 10 mL de agua destilada estéril, se mezcló el micelio con ayuda de un palillo estéril de 6.5 cm y la mezcla se recuperó en un tubo de ensayo y de la suspensión se tomaron aproximadamente 10 μ L con ayuda de una aguja hipodérmica de 3 mL para realizar el conteo en una cámara de Neubauer (MARIENFELD®) y ajustar la suspensión de esporas 1×10^6 /mL (Rodríguez *et al.*, 2002). En los aislados de hongos que no desarrollaron suficientes esporas, se usaron segmentos de PDA de 0.2 cm² con micelio (inóculo) de 6 d de edad.

Inoculación y reaislamiento: Los hongos aislados de pudriciones (húmedas y secas) de inflorescencias (masculinas y femeninas) y de pulgones fueron inoculados en inflorescencias asintomáticas del mismo tipo del que fueron aislados. Cada aislado se inoculó mediante dos procedimientos con herida y sin herida, se usaron 10 inflorescencias para cada procedimiento y 10 adicionales consideradas como testigos, donde cada inflorescencia representó una repetición. Las inflorescencias utilizadas tuvieron un tamaño promedio de 9 cm en las femeninas y de 5 cm en las masculinas. Después de ser inoculadas se colocaron dentro de una caja de plástico transparente estéril de 26 × 26 cm que contenía una sanita estéril húmeda, se incubaron a temperatura ambiente (23 ± 3 °C) y 74 % de humedad relativa. La herida en las inflorescencias consistió de 0.5 cm² con navaja de disección estéril, en la cual se colocó suspensión de esporas de 1×10^6 /mL con ayuda de un hisopo estéril. Las inflorescencias sin herida se inocularon con la misma concentración de esporas directamente en la epidermis con un hisopo estéril. A las inflorescencias testigos solo se les aplicó agua destilada estéril. Los hongos sin suficientes esporas se inocularon usando segmentos (explantes) de PDA con crecimiento micelial de 0.2 cm².

Las inflorescencias inoculadas se revisaron sistemáticamente cada 24 h y las que mostraron síntomas de pudrición se reaislaron en PDA para su confirmación mediante sus caracteres morfológicos (Barnett y Hunter, 2006).

Identificación morfológica

A partir de su crecimiento en PDA se describieron sus caracteres morfológicos macroscópicos cualitativos y cuantitativos. Se hicieron preparaciones semipermanentes teñidas con azul de lactofenol (HYCEL[®]) y se observaron en un microscopio óptico (Nikon Eclipse E400) con cámara integrada. Para la determinación del género de los hongos se usaron las claves de Barnett y Hunter (2006).

Identificación molecular

Extracción de ADN: Se realizó a partir de un cultivo de 3 días de crecimiento en medio de cultivo sólido PDA a 28 °C. El micelio del hongos se cosechó con una espátula de plástico estéril y se colocó en un mortero para su maceración con 500 µL de amortiguador de reacción (Tris-HCl 200 mM, NaCl 250 mM, EDTA 25 mM, SDS 0.5 %, pH 8) caliente (70 °C), posteriormente, se adicionaron 500 µL de amortiguador de reacción para una mejor maceración del micelio; el micelio macerado se recuperó en un microtubo estéril de 1.5 mL y se incubó a 70 °C por 60 min en un termoblock, después se adicionaron 300 µL fenol-cloroformo-álcool isoamílico (25:24:1), se agitó en vortex por 10 min y se centrifugó a 12,000 rpm por 10 min. La fase acuosa se transfirió a un microtubo estéril nuevo, se le adicionaron 2 µL de RNAasa y se dejó reposar a 37 °C por 30 min, después se adicionó 300 µL de fenol-cloroformo-álcool isoamílico (25:24:1), se agitó en vortex por 5 min y se centrifugó a 12,000 rpm por 10 min, el sobrenadante se recuperó y se adicionó un volumen igual de cloroformo (400 µL aprox.), se mezcló por inversión y se centrifugó a 12,000 rpm por 5 min, la fase acuosa se transfirió a un nuevo tubo estéril, se adicionaron 500 µL de isopropanol frío y 1/10 de acetato de sodio 3 M pH=5.2, se mezcló por inversión, se centrifugó a 12,000 rpm por 5 min y se desechó el sobrenadante. La pastilla se lavó con etanol frío al 70 % (400 µL aprox.), se centrifugó a 12,000 rpm por 5 min y finalmente se dejó secar la pastilla, se resuspendieron en alícuotas de 30-50 µL de agua MQ estéril y se mantuvieron en refrigeración (Ahrens y Seemüller, 1992).

Amplificación del ADN: La amplificación del ADN de la región ITS (espaciadores internos transcritos) se hizo con los iniciadores universales ITS5 (5'-TCCTCCGCTTATTGA TATGC- 3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990). La mezcla de reacción para PCR se preparó en un volumen final de 25 μ L conteniendo la enzima 1 x Taq DNA polimerasa, 0.8 mM deoxinucleosidotрифосфатос (0.2 mM de cada uno), 100 ng de ADN, 20 pmol de cada iniciador y 2 unidades de GoTaq DNA (Promega[®], EUA). Las amplificaciones se hicieron en un termociclador (Peltier Thermal Cycler PTC-200; BIORAD[®], México) con un ciclo inicial de desnaturalización a 95 °C por 2 min; 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 1 min, un alineamiento a 57 °C por 1 min, una extensión final a 72 °C por 2 min y un último ciclo de amplificación a 72 °C por 10 min. Los productos de amplificación se verificaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1.2 % en amortiguador TAE 1X (Tris Acetate- EDTA) a 87 V por 1 h. El gel se tiñó con bromuro de etidio (3 mg L⁻¹) y el ADN se visualizó en un transiluminador (Gel Doc 2000 UV; BIORAD[®], EUA). Las secuencias obtenidas fueron comparadas con las depositadas en el GENBANK del National Center for Biotechnology Information (NCBI).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 300 fragmentos de tejidos sembrados en PDA con avance de pudrición en inflorescencias, se aislaron los hongos: *Fusarium solani* (3.2 %), *Aspergillus niger* (4 %), *Aspergillus flavus* (5.6 %), *Rhizopus stolonifer* (20 %), *Cunninghamella clavata* (24 %) y *Lasiodiplodia theobromae* (43.2 %), los cuales resultaron patogénicos ocasionando pudrición de las inflorescencias a partir del área inoculada, mostrando síntomas entre el 1^{er} y 5^{to} día post-inoculación (dpi) logrando la pudrición total de la inflorescencia al 5^{to} y 9^{no} dpi. De los especímenes de pulgón sólo se aisló a *R. stolonifer* (100 %).

Fusarium solani en ambos tipos de inflorescencias ocasionó pudrición húmeda con micelio color rosa (Figs. 1, 2). Con los dos procedimientos de inoculación (con y sin herida) se reprodujeron los síntomas en las inflorescencias masculinas, mientras que

en las femeninas solo se presentó pudrición en inflorescencias con herida (Cuadro 1). En yaca el hongo *Fusarium* sp. sólo ha sido reportado afectando raíces en Florida, EUA (Crane y Balerdi, 2000). Los diversos cultivos dañados por *F. solani*, comúnmente muestran achaparramiento, epinastia, amarillamiento de hojas del estrato inferior, marchitez de hojas, marchitez en tallos jóvenes, defoliación, necrosis marginal de hojas y muerte de planta (Cárdenas, 2000). También fue reportado en frutos de calabaza (*Cucurbita maxima* Duchesne y *Cucurbita pepo*) *F. solani* f. sp. *cucurbitae* W. C. Snyder y H. N. Hans Raza 1 y *F. solani* f. sp. *cucurbitae* L. (García-Jiménez *et al.*, 1997; Castroagudin *et al.*, 2009), sin embargo, no se ha reportado una asociación entre *F. solani* e inflorescencias de yaca, por lo tanto, se considera que es la primera vez que se reporta a *F. solani* como patógeno para las inflorescencias masculinas y femeninas de yaca en Nayarit, México. En frutos de limón (*Citrus limon* L. Burm. f.) se reportó a *F. oxysporum* como agente causal de pudrición (Fogliata *et al.*, 2013), mientras que en flores y frutos de pimientos dulces (*Capsicum annum* L. cv. Sympathy MZ) bajo invernadero se identificó a *F. subglutinans* (Utkhede y Mathur, 2003). *Aspergillus niger* causó pudrición seca y húmeda en 90 % de inflorescencias masculinas probadas, sobre la cual se observó un reblandecimiento del tejido y pudrición húmeda con abundante esporulación negra que invadió la totalidad del tejido (Cuadro 1, Fig. 2). Esta especie es un patógeno de importancia económica principalmente en frutos poscosecha de diversos frutales, por lo que se considera que es la primera vez que se reporta afectando inflorescencias masculinas de yaca en Nayarit, México. En éste Estado, Ragazzo *et al.* (2011) lo reportan causando zonas de color pardo sobre el pericarpio y reblandecimiento del tejido en frutos poscosecha de yaca. En frutos poscosecha de cereza (*Prunus cerasus* L.), manzana (*Malus domestica* BORKH) y uvas (*Vitis vinifera* L.), este patógeno ocasionó áreas húmedas con esporas pulverulentas de color negro (Latorre *et al.*, 2002; Thomidis y Exadaktylou, 2012). La importancia de este patógeno radica en su capacidad para producir ocratoxina A, una micotoxina neurotóxica, inmunosupresora, genotóxica, carcinógena y teratogénica al humano (Hocking *et al.*, 2007; Ravelo-Abreu *et al.*, 2011).

Aun cuando no existen reportes de afectación de *Aspergillus flavus* en el cultivo de yaca, en árboles de Nayarit, México se encontró que este hongo ocasionó pudrición seca en inflorescencias masculinas y femeninas sobre la cual se desarrolló esporulación verde amarillenta (Figs. 1, 2; Cuadro 1), por lo que se considera que es la primera vez que se reporta a este hongo como patógeno de esta especie. Este patógeno es el principal productor de aflatoxinas cancerígenas de semillas en todo el mundo (Marino *et al.*, 2009; Horn *et al.*, 2014); en este sentido, Palumbo *et al.* (2014) detectaron a este patógeno en semillas de almendras (*Prunus dulcis* (Mill.) D.A. Webb) transmitido por *Amyelois transitella* (Walker) (Lepidoptera: Pyralidae), en granos de maíz en precosecha la acumulación e incremento de los niveles de aflatoxinas se vio favorecido por *Mussidia nigrivenella* Ragonot (Lepidoptera: Pyralidae) (Setamou *et al.*, 1997). Boyd y Cotty (2001) señalaron que las vainas de leguminosas arbóreas (*Prosopis* spp., *Olneya tesota*, *Acacia* spp., *Cercidium* sp. y *Parkinsonia* sp.) en el desierto y semillas de algodón son fuentes importantes de aflatoxinas y se incrementan cuando son dañadas por insectos.

Los síntomas de pudrición blanda ocasionados por *Rhizopus stolonifer* en inflorescencias masculinas y femeninas iniciaron con una mancha húmeda entre el 1^{ro} y 5^{to} día que posteriormente se tornó café con micelio blanco y esporulación negra (Figs. 1, 2), cubrió la inflorescencia y finalmente se momificó a los 6 dpi (Cuadro 1). Estos síntomas coinciden con los reportados por Ghosh *et al.* (2015) en inflorescencias masculinas y frutos de yaca en India. Ghosh (1994) reportaron que ésta enfermedad causada por *R. stolonifer* es muy común en zonas lluviosas y se puede presentar en frutos de yaca en precosecha y poscosecha. Nelson (2005) reportó que *R. oryzae* y *R. artocarp* ocasionan los mismos síntomas en frutos de yaca causando pérdidas de 15 a 32 %. Este patógeno también causa infecciones en frutos de fresa en poscosecha (Nieto *et al.*, 2011). Latorre *et al.* (2002) reprodujeron las pudriciones blandas y acuosas en uvas inoculadas sobre lesiones, a las 48 h post-inoculación con *R. stolonifer*.

El aislado de *R. stolonifer* obtenido de pulgones dio positivo en un 70 y 40 % de las inflorescencias masculinas al ser inoculadas con heridas y sin heridas, respectivamente. Los síntomas se observaron a los 3 dpi y causaron la pudrición total a los 5 dpi, la infección inició con un área húmeda con micelio blanco algodonoso que se tornó color negro cubriendo por completo a la inflorescencia. El pulgón de yaca en Nayarit corresponde a *Aphis (Toxoptera) aurantii* (Boyer, 1841), previamente reportado por Rodríguez *et al.* (2017). En India y Tailandia este insecto ha sido reportado alimentándose de brotes tiernos de yaca ocasionando enchinamiento y de las hojas cubiertas por moho negro (Haq, 2006; APAARI, 2012). La importancia de este pulgón radica en su capacidad de transmitir enfermedades, en cítricos es el responsable de la transmisión del virus de la tristeza (VTC) (Silva *et al.*, 2001; Patiño-Arellano *et al.*, 2012).

Cunninghamella clavata ocasionó una pudrición blanda en inflorescencias masculinas (Cuadro 1) sobre la cual se desarrolló un micelio blanco de forma circular (Fig. 2) que creció de manera uniforme hasta cubrir por completo a las inflorescencias, a la fecha este hongo no ha sido reportado como fitopatógeno, por lo que no se ha reportado una asociación de *C. clavata* con inflorescencias de yaca, por lo tanto, se considera que es la primera vez que se reporta como patógeno de inflorescencias masculinas de yaca en Nayarit, México. En Brasil ha sido aislado a partir de muestras de suelo semiáridos sin tener más información (Alves *et al.*, 2017). El género *Cunninghamella* sp. incluye especies de importancia médica como *C. bertholletiae* la cual ocasiona sinusitis, zigomicosis endobronquial y pulmonar en pacientes con un sistema inmunológico débil (cáncer y diabetes mellitus, en procesos biotecnológicos), *C. bainieri* metaboliza xenobióticos, compuestos aromáticos y fármacos y *C. elegans* oxida los hidrocarburos aromáticos policíclicos (HAP), petróleo y degrada el fluoranteno en un HAP (Shiosaki *et al.*, 2001).

Lasiodiplodia theobromae causó pudrición blanda en ambos tipos de inflorescencias (Cuadro 1), a partir del área inoculada se desarrolló micelio blanco-grisáceo que invadió por completo las inflorescencias (Figs. 1, 2). En Taiwán este patógeno ha sido

reportado ocasionando pudrición blanda de frutos de yaca, la infección inicia con una mancha amarillenta que se torna café y finalmente adquiere un color marrón oscuro de aspecto húmedo con esporulación abundante de tonalidad grisácea-oscura (Ni *et al.*, 2008). Este hongo también es patogénico en inflorescencias de longan (*Dimocarpus longan* L.) y mango (*Mangifera indica* L.) causando tizón (pudrición de raquis, raquilla y flores) a los 5 y 8 dpi, respectivamente; las inflorescencias de mango se tornan color marrón con presencia de micelio abundante (Serrato-Díaz *et al.*, 2013), mientras que en longan las inflorescencias se momifican (Serrato-Díaz *et al.*, 2014).

Cuadro 2. Porcentaje de patogenicidad de aislados de hongos al ser evaluados bajo condiciones de laboratorio contra inflorescencias femeninas y masculinas

Hongo fitopatógeno	Inflorescencia	Tipo de inoculación	Pruebas de patogenicidad (%)	Aparición de síntomas (dpi)	Pudrición total (dpi)
<i>Fusarium solani</i>	Femenina	Con herida	+ (100)	5	9
		Sin herida	- (100)	-	-
	Masculina	Con herida	+ (70)	5	6
		Sin herida	+ (50)	5	6
<i>Aspergillus niger</i>	Masculina	Con herida	+ (90)	3	7
		Sin herida	+ (90)	4	7
	Femenina	Con herida	+ (100)	5	7
		Sin herida	- (100)	-	-
<i>Aspergillus flavus</i>	Masculina	Con herida	+ (30)	3	6
		Sin herida	+ (50)	4	6
	Femenina	Con herida	+ (70)	1	6
		Sin herida	- (100)	-	-
<i>Rhizopus stolonifer</i>	Masculina	Con herida	+ (70)	1	6
		Sin herida	+ (60)	3	5
	Masculina	Con herida	+ (100)	2	9
		Sin herida	+ (100)	2	9
<i>Cunninghamella clavata</i>	Femenina	Con herida	+ (40)	3	6
		Sin herida	+ (40)	3	6
	Masculina	Con herida	+ (100)	3	6
		Sin herida	+ (100)	3	6

+ = positiva a la prueba de patogenicidad.

- = Negativo a la prueba de patogenicidad.

Dpi = días post-inoculación.

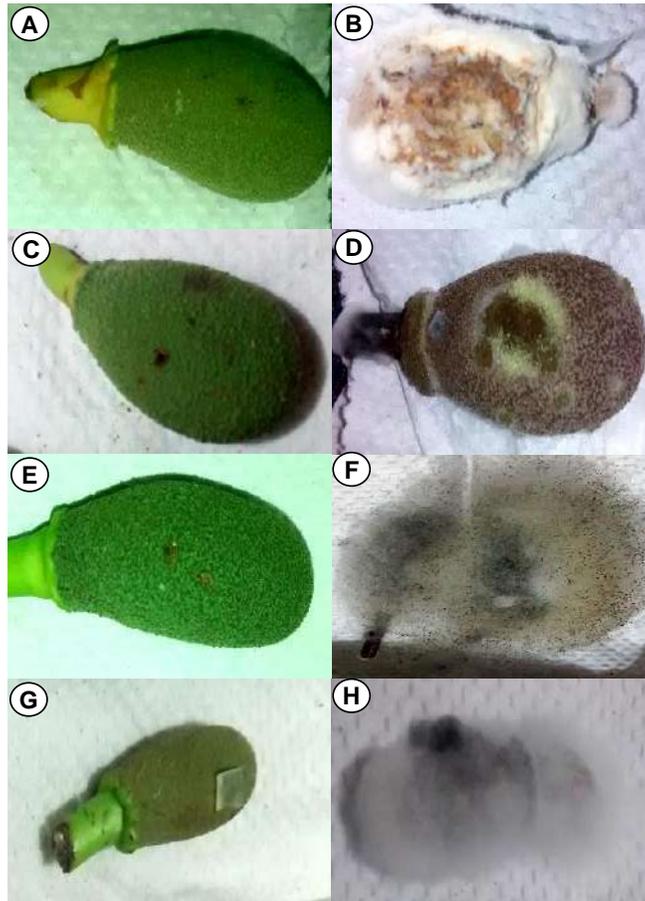


Figura 1. Síntomas de pudrición en inflorescencias femeninas de yaca, A) Testigo con herida, B) *Fusarium solani*, C) Testigo con herida, D) *Aspergillus flavus*, E) Testigo con herida, F) *Rhizopus stolonifer*, G) Testigo sin herida (PDA sin micelio), H) *Lasiodiplodia theobromae*.

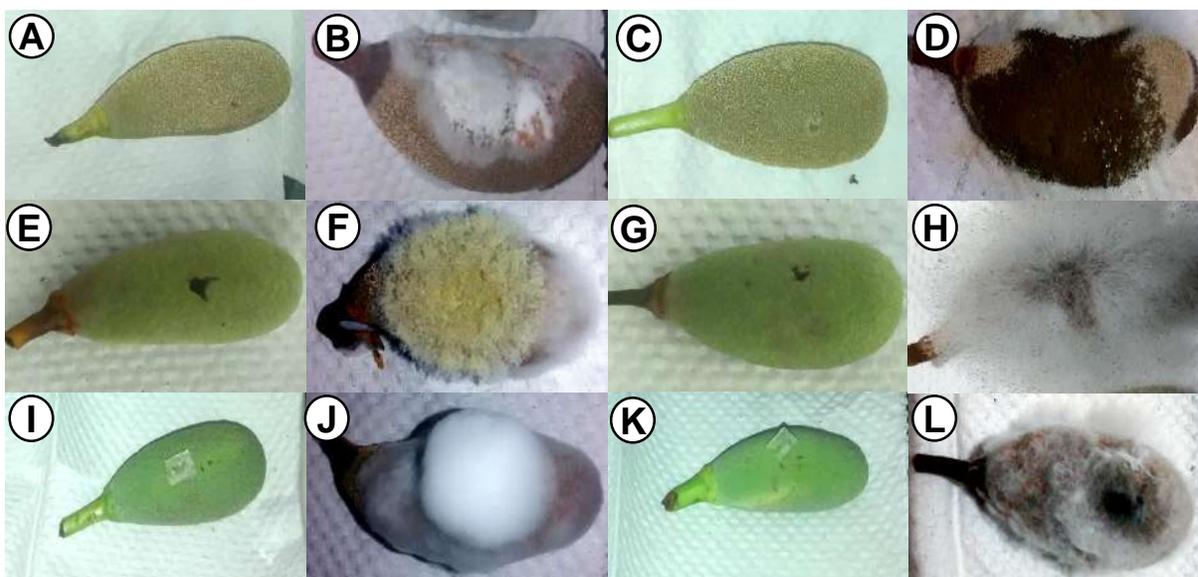


Figura 2. Síntomas de pudrición en inflorescencias masculinas de yaca, A) Testigo sin herida, B) *Fusarium solani*, C) Testigo sin herida, D) *Aspergillus niger*, E) Testigo con herida, F) *Aspergillus flavus*, G) Testigo con herida, H) *Rhizopus stolonifer*, I) Testigo sin herida (PDA sin micelio), J) *Cunninghamella clavata*, K) Testigo con herida (PDA sin micelio), L) *Lasiodiplodia theobromae*.

Las características macro y microscópicas de los hongos patogénicos a inflorescencias de yaca fueron las siguientes: *Fusarium solani* mostró un crecimiento uniforme y continuo, desarrolló un ligero micelio color rosa, conidios (fialosporas), hialinos, variables, macroconidios ligeramente curvados con los extremos puntiagudos, en forma de canoa; microconidios ovoides u oblongos individuales (Fig. 3A). *Aspergillus niger* presentó micelio negro con abundante esporulación, mientras que al reverso se apreció una coloración blanca amarillenta; conidióforos largos, lisos y fiálides que cubren completamente la vesícula (Fig. 3B). *Aspergillus flavus* presentó micelio aterciopelado color amarillo verdoso con abundante esporulación mientras que al reverso se observó un color marrón-rojizo, conidióforos rugosos de longitud variable con fiálides en el ápice que cubren completamente la vesícula (Fig. 3C). *Rhizopus stolonifer* presentó una colonia de rápido crecimiento con micelio cenocítico, denso, aéreo y algodonoso de color blanco al inicio y después se tornó gris oscuro, esporangióforos sin ramificar de color oscuro producidos en estolones adheridos al

sustrato por medio de rizoides, esporangios esféricos negros con columella (Fig. 3D; Mass, 1998). *Cunninghamella clavata* presentó una colonia de tamaño ilimitado, color blanco, vellosas-algodonosas, micelio macrosifonado, hialino, cenocítico, ramificado, con esporangios (uniesporados) y esporangiosporas redondas u ojivales (Fig. 3E). *Lasiodiplodia theobromae* presentó un crecimiento uniforme, continuo y con una ligera elevación, al inicio, el micelio fue de color blanco, posteriormente se tornó gris oscuro y finalmente adquirió un tono negro. A los 20 d de incubación, produjo conidiomas picnidiales en estromas, semi-inmersos y dispersos, de color grisáceo a negro y piriformes. Los conidios inmaduros no presentaron septos (amerosporas), fueron hialinos, cilíndricos y con pared gruesa, mientras que los conidios maduros presentaron un septo (didimosporas), color café oscuro, ovoides a elipsoidales con estriaciones longitudinales irregulares (Fig. 3F). Las características morfológicas descritas para los hongos patógenos a inflorescencias de yaca en Nayarit, México, concuerdan con Barnett y Hunter (2006).

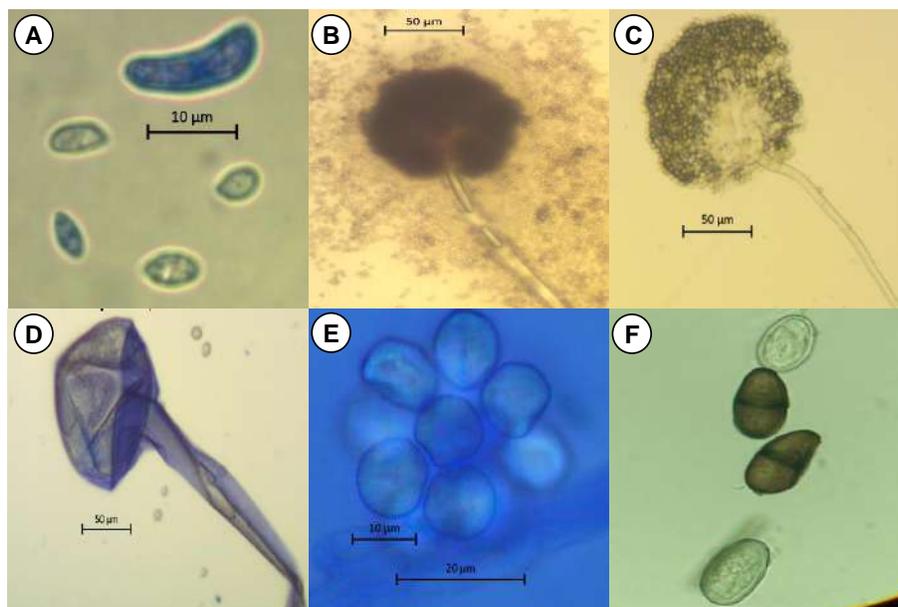


Figura 3. Caracteres morfológicos microscópicos de los hongos patógenos de inflorescencias de yaca en Nayarit, A) *Fusarium solani*, B) *Aspergillus niger*, C) *Aspergillus flavus*, D) *Rhizopus stolonifer*, E) *Cunninghamella clavata*, F) *Lasiodiplodia theobromae* (conidios maduros e inmaduros).

De acuerdo con sus caracteres morfológicos y secuencia genómica comparada con otras secuencias reportadas y registradas en el GENBANK se obtuvo la homología con: *Fusarium solani* 99 % (Acceso: KX379166.1), *Aspergillus niger* 99 % (Acceso: KY204007.1), *Aspergillus flavus* 96 % (Acceso: MF113270.1) *Rhizopus stolonifer* 92 % (Acceso: MF461022.1), *Cunninghamella clavata* 99 % (Acceso: JN205890.1) y *Lasiodiplodia theobromae* 99 % (Acceso: KX462997.1).

CONCLUSIÓN

Con base en la identificación morfológica y molecular y las pruebas de patogenicidad se encontró que, los hongos que ocasionaron la pudrición de inflorescencias femeninas de yaca en Nayarit, México, son *F. solani*, *A. flavus*, *R. stolonifer* y *L. theobromae* y en inflorescencias masculinas *F. solani*, *A. flavus*, *R. stolonifer*, *L. theobromae*, *A. niger* y *C. clavata* mostrando mayor susceptibilidad las inflorescencias masculinas al ataque de estos hongos. El áfido *Aphis (Toxoptera) aurantii* es vector de *R. stolonifer* entre las inflorescencias masculinas. Este estudio proporciona el primer reporte de *F. solani*, *A. flavus* y *C. clavata* como patógenos de inflorescencias de yaca en México y el mundo.

LITERATURA CITADA

Agrios, G.N. 2005. Plant Pathology. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. New York. USA. 922p.

Ahrens, U. and Seemüller, E. 1992. Detection de DNA of plant pathogenic mycoplasma-like organisms by polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene. *Phytopathology* 82: 828-832.

Alves, A. D. M., De Souza, C. A., De Oliveira, R. J., Cordeiro, T. R. and Santiago, A. L. D. A. 2017. *Cunninghamella clavata* from Brazil: a new record for the western hemisphere. *Mycotaxon* 132(2): 381-389.

- APAARI. 2012. Jackfruit Improvement in the Asia-Pacific Region – A Status Report. Asia-Pacific Association of Agricultural Research Institutions, Bangkok, Thailand. 182 p.
- Barnett, L.H. and Hunter, B.B. 2006. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 218 p.
- Boyd, M. L., and Cotty, P. J. 2001. *Aspergillus flavus* and aflatoxin contamination of leguminous trees of the Sonoran Desert in Arizona. *Phytopathology* 91(9): 913-919.
- Cárdenas, V. J. O. 2000. Eficacia en el control químico de *Fusarium oxysporum* y *Phytophthora capsici* en los cultivos de tomate, chile y sandía. Tesis de Maestría de la Facultad de Agronomía, de la Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 156 p.
- Castroagudin, V. L., Correll, J. C. and Cartwright, R. D. 2009. First report of fruit rot of pumpkin caused by *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* in Arkansas. *Plant Disease* 93(6): 669-669.
- Crane, J. H. and Balerdi, C. F. 2000. La jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) en Florida. Departamento de Ciencias Hortícolas, Servicio de extensión cooperativa de Florida, Instituto de alimentos y ciencias agrícolas, Universidad de Florida.
- Fogliata, G. M., Martínez, C. V., Acosta, M. E., Muñoz, M. L. and Ploper, L. D. 2013. First Report of *Fusarium* Rot Caused by *Fusarium oxysporum* on Lemon in Tucumán, Argentina. *Plant Disease* 97(7): 989-989.

- García-Jiménez, J., Armengol, J., Moya, M. J. and Sales Jr, R. 1997. First report of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 1 in Spain. *Plant Disease* 81(10): 1216-1216.
- Ghosh, G. H. 1994. Studies on flowering and prevalence of fruit drop in jackfruit. Annual Report (1993-94). Horticulture Research Center, BARI, Gazipur, Bangladesh, 4-9 pp.
- Ghosh, R., Barman, S., Mukhopadhyay, A. and Mandal, N. C. 2015. Biological control of fruit-rot of jackfruit by rhizobacteria and food grade lactic acid bacteria. *Biological control* 83: 29-36.
- Haq, N. (2006) Jackfruit, *Artocarpus heterophyllus*, Southampton Centre for Underutilised Crops, University of Southampton, Southampton, UK.
- Hocking, A.D., Leong, S.L., Kazi, B.A., Emmett, R.W. and Scott, E.S. 2007. Fungi and mycotoxins in vineyards and grape products. *International Journal of Food Microbiology* 119(1-2): 84–88.
- Horn, B. W., Sorensen, R. B., Lamb, M. C., Sobolev, V. S., Olarte, R. A., Worthington, C. J. and Carbone, I. 2014. Sexual reproduction in *Aspergillus flavus* sclerotia naturally produced in corn. *Phytopathology* 104(1): 75-85.
- Latorre, B. A., Viertel, S. C. and Spadaro, I. 2002. Severe outbreaks of bunch rots caused by *Rhizopus stolonifer* and *Aspergillus niger* on table grapes in Chile. *Plant Disease* 86(7): 815-815.
- Luna, E. G., Alejo, S. C., Ramírez, G. L. G and Arévalo, G. M. L. 2013. La yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) un fruto de exportación. *Agro Productividad* 6(5): 65-70.

- Manandhar, J. B., Hartman, G. L. and Wang, T. C. 1995. Conidial germination and appressorial formation of *Collectotrichum capsici* and *C. gloeosporioides* isolates from pepper. *Plant Disease* 79: 361-366.
- Marino A., Nostro, A. and Fiorentino, C. 2009. Ochratoxin A production by *Aspergillus westerdijkiae* in orange fruit and juice. *International Journal of Food Microbiology* 132(2-3): 185–189.
- Mass, J. Ed. 1998. Compendium of strawberry diseases. Second edition. St. Paul. The American Phytopathological Society. 138 pp.
- Nelson, S. 2005. *Rhizopus* rot of jackfruit. *Plant Disease* PD-29
- Ni, H. F., Chen, R. S., Chang, S. F. and Yang, H. R. 2008. First report of *Lasiodiplodia* fruit rot of jackfruit in Taiwán. *Plant Disease* 92(7): 1137-1137.
- Nieto-Angel, D., Lara-Viveros, F. M., Landero-Valenzuela, N., García-Velasco, R. and Reboucas, T. H. 2011. Effect glucorafano isolated of broccoli florets on the germination of *Rhizopus stolonifer* spores. *Phytopathology* 101(6): S128-S128.
- Palumbo, J. D., Mahoney, N. E., Light, D. M., Siegel, J., Puckett, R. D. and Michailides, T. J. 2014. Spread of *Aspergillus flavus* by navel orangeworm (*Amyelois transitella*) on almond. *Plant Disease* 98(9): 1194-1199.
- Patiño-Arellano, S. A., Rodríguez-Leyva, E., Mora-Aguilera, G., Lomelí-Flores, R. and Díaz-Gómez, O. 2012. Composición y fluctuación de áfidos vectores del virus de la tristeza de los cítricos en la Península de Yucatán, México. *Entomología Mexicana* 11: 370-374.

- Pushpakumara, D. K. N. G. 2006. Foral and fruit morphology and phenology of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Moraceae) Sri Lankan. *Journal of Agricultural Science* 43: 82-196.
- Ragazzo, S. J.A., Gutiérrez, E. A., Luna, S. G., Gómez, L. J. F. and Calderón S. M. 2011. Identificación molecular del hongo causante de la pudrición postcosecha de la jaca. *Revista Mexicana de Micología* 34: 9-15.
- Ravelo, A. A., Rubio, A. C., Gutiérrez, F. A. J. and Hardisson, de la T. A. 2011. La ocratoxina A en alimentos de consumo humano: revisión. *Nutrición Hospitalaria*, 26(6): 1215-1226.
- Rodríguez-Palomera, M., Cambero-Campos, J., Luna-Esquivel, G., Robles-Bermúdez, A., and Cambero-Nava, K. G. 2017 Entomofauna asociada al cultivo de yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) en Nayarit, México. *Entomología mexicana* 4: 220–225.
- Serrato-Díaz, L. M., Pérez-Cuevas, M., Rivera-Vargas, L. I. and French-Monar, R. D. 2013. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing inflorescence blight of mango. *Plant Disease* 97(10): 1380-1380.
- Serrato-Díaz, L. M., Rivera-Vargas, L. I., Goenaga, R., and French-Monar, R. D. 2014. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing inflorescence blight and fruit rot of longan (*Dimocarpus longan* L.) in Puerto Rico. *Plant Disease* 98(2): 279-279.
- Servicio de Información Agroalimentaria y pesquera (SIAP), 2015. Cierre de la producción agrícola por cultivo. En línea. Consultado en octubre de 2016. Disponible en: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>.

- Setamou, M., Cardwell, K., Schulthess, F. and Hell, K. 1997. *Aspergillus flavus* infection and aflatoxin contamination of preharvest maize in Benin. *Plant Disease* 81(11):1323-1327.
- Silva Vara, S., Peña del Río, M. D. L. A., Peña Martínez, R., Villegas Jiménez, N., Byerly Murphy, K. F. and Rocha Peña, M. A. 2001. Distribución del virus de la tristeza en tres plantaciones comerciales de cítricos del estado de Nuevo León, México. *Agrociencia* 35(4).
- Shiosaki, R. K., Okada, K., De Gusmão, N. B., Nigam, P., Falcão, P. S., Da Silva, N. H., and de Campos-Takaki, G. M. 2001. Biochemical markers in taxonomy of the genus *Cunninghamella*. *Revista Iberoamericana de Micología* 18(3): 123-127.
- Thomidis, T. and Exadaktylou, E. 2012. First report of *Aspergillus niger* causing postharvest fruit rot of cherry in the prefectures of Imathia and Pella, Northern Greece. *Plant Disease* 96(3):458-458.
- Utkhede, R. and Mathur, S. 2003. Fusarium fruit rot of greenhouse sweet peppers in Canada. *Plant Disease* 87(1): 100-100.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. En M. Innis, D. Gelfand, J. Snisky and T. White (eds). *PCR protocols: a guide to methods and applications*. San Diego: Academic Press 315-322 pp.

CAPITULO IV. *Lasiodiplodia theobromae* AGENTE CAUSAL DE LA PUDRICIÓN BLANDA DE FRUTOS DE *Artocarpus heterophyllus* Lam EN NAYARIT, MÉXICO

MARÍA DE LOS ANGELES MEDINA TIZNADO², GREGORIO LUNA ESQUIVEL³, OCTAVIO JHONATHAN CAMBERO CAMPOS³, LEOBARDA GUADALUPE RAMÍREZ GUERRERO³, CLAUDIO RIOS VELASCO⁴.

RESÚMEN: Se recolectaron frutos de yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) con síntomas de pudrición blanda café, durante los periodos seco (mayo-junio, 2016) y lluvioso (agosto, 2016), en plantaciones de los municipios de San Blas y Compostela, Nayarit, México. El objetivo del estudio fue identificar al agente causal de la pudrición blanda de frutos precosecha. Se obtuvieron 150 disecciones de la zona de avance de la enfermedad a partir de 12 frutos y se sembraron en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA). Se aislaron cinco géneros de hongos (*Colletotrichum* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Lasiodiplodia* sp. y *Cunninghamella* sp.), los cuales se inocularon sobre la epidermis de frutos de yaca aparentemente sanos mediante dos procedimientos (con y sin herida) bajo condiciones de laboratorio con segmentos de PDA micelial de 0.5 cm² de seis días de desarrollo. En las pruebas de patogenicidad *Lasiodiplodia* sp. fue el único hongo que causó los síntomas de pudrición blanda, expresados a los 5 y 6 días post-inoculación (dpi) en un 87.5 % y 62.5 % con y sin herida, respectivamente. De acuerdo con sus caracteres morfológicos y su secuencia genómica, el hongo patogénico fue identificado como *Lasiodiplodia theobromae*, siendo el primer reporte de este patógeno en frutos de yaca en Nayarit, México.

Términos para indexación: región ITS, pruebas de patogenicidad, identificación molecular, secuencia genómica, patógeno.

ABSTRACT: Jack fruits (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) with symptoms of soft rot brown were collected during the dry (May-June 2016) and rainy (August 2016) seasons, in plantations of the localities of San Blas and Compostela, Nayarit, Mexico. The aim of the study was to identify the causal agent of the soft rot of pre-harvest fruits. One hundred and fifty dissections of 12 fruits were obtained from the disease progression area and were planted in culture medium potato-dextrose-agar (PDA). Five fungal genera (*Colletotrichum* sp., *Aspergillus* sp., *Rhizopus* sp., *Lasiodiplodia* sp. and *Cunninghamella* sp.), were isolated and inoculated on the epidermis of apparently healthy jack fruits by two procedures (with and without wound) under laboratory conditions, with six days of development mycelial PDA segments of 0.5 cm². In the pathogenicity tests, *Lasiodiplodia* sp. was the only fungus that caused the symptoms of soft rot, which were expressed at 5 and 6 days post-inoculation (dpi) in 87.5% and 62.5% with and without wound, respectively. According to its morphological characters and its genomic sequence, the pathogenic fungus was identified as *Lasiodiplodia theobromae*, being the first report of this pathogen in Jack fruits in Nayarit, Mexico.

Index terms: ITS region, pathogenicity tests, molecular identification, genomic sequence, pathogen.

INTRODUCCIÓN

La yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) (Rosales: Moraceae) es originaria de las selvas tropicales de India (APAARI, 2012), de la cual se aprovecha la madera, hojas, semillas y frutos (LOVE y PAULL, 2011) siendo este último, el principal producto que se consume maduro o inmaduro como fuente de fibra dietética (SINGH et al., 2015) y vitaminas (A, B, C y E) (USDA, 2017), además de sus propiedades antioxidantes y laxantes (MONDAL, 2000; BALIGA et al., 2011).

En México, Nayarit es el principal estado productor de yaca en México al concentrar el 90 % de la superficie plantada correspondiente a 1,130 ha de las 1,248 ha destinadas a este frutal (SIAP, 2016). Sus principales atributos como tamaño, sabor, color y olor del fruto, han permitido su éxito comercial (SAXENA et al., 2008) en

Estados Unidos de América (LUNA et al., 2013), sin embargo, la mayor parte de la producción no reúne los requerimientos de calidad debido a que son afectados por factores bióticos y abióticos, entre ellos, los problemas fitosanitarios que dan lugar a grandes pérdidas económicas.

En Nayarit el cultivo de yaca produce fruta todo el año (LUNA et al., 2013), sin embargo, su producción es afectada por la incidencia de enfermedades fungosas dentro de las cuales destaca la pudrición blanda en la epidermis de los frutos, la cual inicia con un amarillamiento en el pericarpio, aproximadamente un mes antes de que el fruto llegue a su madurez fisiológica, posteriormente la zona afectada se torna café marrón y se extiende uniformemente en los frutos precosecha y se generaliza en poscosecha. Los patógenos reportados asociados a la pudrición de frutos de yaca son *Rhizopus stolonifer* en India (GHOSH et al., 2015) y *R. artocarp*i en Tailandia (APAARI, 2012). Nelson (2005) menciona que *R. oryzae*, *R. artocarp*i y *R. stolonifer* son capaz de causar pudrición en frutos de yaca, estos patógenos son común en regiones con lluvias frecuentes y puede causar pérdidas del 15 al 32 % (GHOSH, 1994). Rahman et al. (2015) y Ni et al. (2008) reportaron a *Sclerotinia sclerotiorum* y *Lasiodiplodia theobromae* ocasionando pudriciones en frutos de yaca en Bangladesh y Taiwán, respectivamente. *Lasiodiplodia theobromae* es un hongo cosmopolita con amplio rango de hospederos (ABDOLLAHZADEH et al., 2010; WANG et al., 2011), descrito por primera vez por Saccardo alrededor de 1890, afectando frutos de cacao (*Theobromae cacao*) en Ecuador (CROUS y PALM, 1999). En Nayarit, Ragazzo et al. (2011) reportaron a *Aspergillus niger* como el patógeno causante de la pudrición poscosecha de frutos de yaca. Ante el daño severo que esta enfermedad provoca en frutos en precosecha y poscosecha, a la escasa información existente al respecto y al desconocimiento del agente causal, el objetivo de esta investigación fue identificar mediante sus caracteres morfológicos y moleculares, el patógeno de la pudrición blanda en frutos de yaca en Nayarit, México.

MATERIALES Y MÉTODO

Zona de muestreo. Los muestreos se realizaron en las localidades de El Llano (21°24'58.91"N, 105°11'28.67"O, 40 msnm) y Las Varas (21°10'13.41"N, 105°09'36.08"O, 24 msnm) en los municipios de San Blas y Compostela, respectivamente en Nayarit, México.

Recolecta de material sintomático. Se recolectaron frutos de yaca con síntomas de pudrición blanda en huertos comerciales en los meses de mayo, junio y agosto del 2016, 4 frutos de Las Varas (2 en periodo seco y 2 en periodo lluvioso) y 8 frutos en El Llano (4 frutos por cada periodo) obteniendo en total 12 frutos sintomáticos. Los frutos se trasladaron al laboratorio de Parasitología Agrícola del Centro Multidisciplinario de investigación Científica (CEMIC 3) de la Universidad Autónoma de Nayarit para el aislamiento de posibles microorganismos patógenos.

Aislamiento de microorganismos. Se seccionó el tejido de la zona de avance de la enfermedad (zona de transición) en cortes de 0.5 cm², el tejido se desinfectó con NaClO al 3 % por 2 min, posteriormente se enjuagó con agua destilada estéril en tres tiempos por 2 min y se colocó en sanitas estériles para su secado a temperatura ambiente, finalmente se sembraron en cajas de Petri (SYM[®]) con medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA-BIOXON[®]) y se incubaron a 28 °C ± 2 °C por 7 d en una cámara de crecimiento (NOVATECH[®]) (AGRIOS, 2005).

Obtención de cultivo monospórico. Los hongos que crecieron, se transfirieron y purificaron en PDA mediante la técnica descrita por Manandhar et al. (1995) para obtener cultivos monospóricos para su posterior identificación morfológica a nivel de género mediante claves taxonómicas de Barnett y Hunter (2006) y pruebas de patogenicidad.

Pruebas de patogenicidad

Inoculación y reaislamiento. La inoculación se realizó en frutos asintomáticos en estado de madurez fisiológica con un peso promedio de 6.65 kg, 36 cm de longitud y 63 cm de diámetro. Los frutos se lavaron con agua corriente, y se desinfectaron con NaClO al 3 % y alcohol etílico al 70 %, respectivamente. Se usaron 2 frutos por cada tratamiento (aislado), cada fruto se dividió en 4 cuadrantes y cada uno se inoculó con los hongos aislados mediante dos procedimientos, el primero consistió en causar lesiones (heridas de 2 cm²) en el fruto con ayuda de una navaja de disección y pinzas entomológicas estériles y el segundo consistió en inocular a los frutos sobre el pericarpio (sin causarles heridas). El inóculo consistió en un segmento de PDA con micelio de 0.5 cm². Los testigos en ambos procedimientos consistieron de segmentos de PDA sin inóculo infectivo. Los frutos inoculados se colocaron dentro de bolsas de plástico transparentes y se incubaron a 23 °C y 74 % de humedad relativa, se revisaron diariamente y los que mostraron síntomas de pudrición se procesaron para el reaislamiento de los hongos inoculados para su confirmación morfológica microscópica.

Identificación morfológica. A partir del crecimiento en PDA se describieron los caracteres morfológicos macroscópicos cualitativos y cuantitativos del hongo patógeno. Se hicieron preparaciones semipermanentes teñidas con azul de algodón (HYCEL[®]) y se observaron en un microscopio óptico (Nikon Eclipse E400) con cámara integrada, para la determinación del género de los hongos, usando las claves de Barnett y Hunter (2006).

Identificación molecular

Extracción de ADN. Se realizó a partir de un cultivo de 3 d de crecimiento en medio de cultivo sólido PDA a 28 °C. Se cosechó el micelio del hongo con una espátula de plástico estéril y se colocó en un mortero para su maceración con 500 µL de buffer (Tris-HCL 200 mM, NaCl 250 mM, EDTA 25 mM, SDS 0.5 %, pH 8) caliente (70 °C), posteriormente se adicionaron otros 500 µL de buffer para una mejor maceración del micelio, se recuperó el micelio macerado en un microtubo estéril de 1.5 mL y se incubó

a 70 °C por 60 min en un termoblock, después se adicionaron 300 µL fenol-cloroformo-alcohol isoamilico (25:24:1), se agitó en un vortex por 10 min y se centrifugó a 12,000 rpm por 10 min. La fase acuosa se transfirió a un microtubo estéril nuevo, se le adicionaron 2 µL de RNAasa y se dejó reposar a 37 °C por 30 min, después se adicionó 300 µL de fenol-cloroformo-alcohol isoamilico (25:24:1), se agitó en vortex por 5 min y se centrifugó a 12,000 rpm por 10 min, se recuperó el sobrenadante y se adicionó un volumen igual de cloroformo (400 µL aprox.), se mezcló por inversión y se centrifugó a 12,000 rpm por 5 min, la fase acuosa se transfirió a un nuevo tubo estéril, se adicionaron 500 µL de isopropanol frío y 1/10 de acetato de sodio 3 M pH=5.2, se mezcló por inversión, se centrifugó a 12,000 rpm por 5 min y se desechó el sobrenadante. La pastilla se lavó con etanol frío al 70 % (400 µL aprox.) y se centrifugó a 12,000 rpm por 5 min, finalmente se dejó secar la pastilla, se resuspendieron en alícuotas de 30-50 µL de agua MQ estéril y se mantuvieron en refrigeración (AHRENS y SEEMÜLLER, 1992).

Amplificación del ADN. La amplificación del ADN de la región ITS (espaciadores internos transcritos) se hizo con los iniciadores universales ITS5 (5'-TCCTCCGCTTATTGA TATGC- 3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (WHITE et al., 1990). La mezcla de reacción para PCR se preparó en un volumen final de 25 µL conteniendo la enzima 1 x Taq DNA polimerasa, 0.8 mM deoxinucleosidotrifosfatos (0.2 mM de cada uno), 100 ng de ADN, 20 pmol de cada iniciador y 2 unidades de GoTaq DNA (Promega®, EUA). Las amplificaciones se hicieron en un termociclador (Peltier Thermal Cycler PTC-200; BIORAD®, México) con un ciclo inicial de desnaturalización a 95 °C por 2 min; 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 1 min, un alineamiento a 57 °C por 1 min, una extensión final a 72 °C por 2 min y un último ciclo de amplificación a 72 °C por 10 min. Los productos de amplificación se verificaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1.2 % en amortiguador TAE 1X (Tris Acetate- EDTA) a 87 V por 1 h. El gel se tiñó con bromuro de etidio (3 mg L⁻¹) y el ADN se visualizó en un transiluminador (Gel Doc 2000 UV; BIORAD®, EUA).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

De los 150 fragmentos de tejido de yaca sembrados en PDA, se aislaron hongos de los géneros: *Colletotrichum* sp., *Aspergillus* sp., *Cunninghamella* sp., *Rhizopus* sp. y *Lasiodiplodia* sp., siendo los dos últimos los de mayor frecuencia con 34 y 36 %, respectivamente, sin embargo, de los 5 hongos inoculados en frutos, solo *Lasiodiplodia* sp. fue el que reprodujo el síntoma de pudrición blanda en el área inoculada (Fig. 1), a los 5 días post-inoculación (dpi) en 87.5 % de los tejidos (cuadrantes) con herida, mientras que en tejido sin herida se manifestó a los 6 dpi en un 62.5 %, en ambos casos se presentó la pudrición total de los frutos a los 9 dpi. Los síntomas y el tiempo de aparición de estos, fue similar a lo reportado por Ni et al. (2008) en Taiwán en frutos de yaca, quienes a los 6 dpi con *L. theobromae*, los frutos con herida mostraron síntomas en el área inoculada, principalmente manchas amarillentas, que se tornaron de color café y finalmente adquirieron un color café marrón oscuro de aspecto húmedo y sobre estas manchas se observó el desarrollo de micelio y esporulación de color gris a negro.

El crecimiento diario promedio de la pudrición blanda color marrón en los frutos inoculados con herida fue de 5.58 cm de longitud por 4.46 cm de ancho, mientras los frutos inoculados sin herida el crecimiento promedio de la pudrición fue más rápido a pesar de dar positivo en menor proporción, de longitud creció 5.73 cm y de ancho 5.23 cm. Algunas manchas alcanzaron un tamaño de 12 cm lineales en 4 d, mientras que Ni et al. (2008), reporta un tamaño de manchas de 10 cm en 5 d.

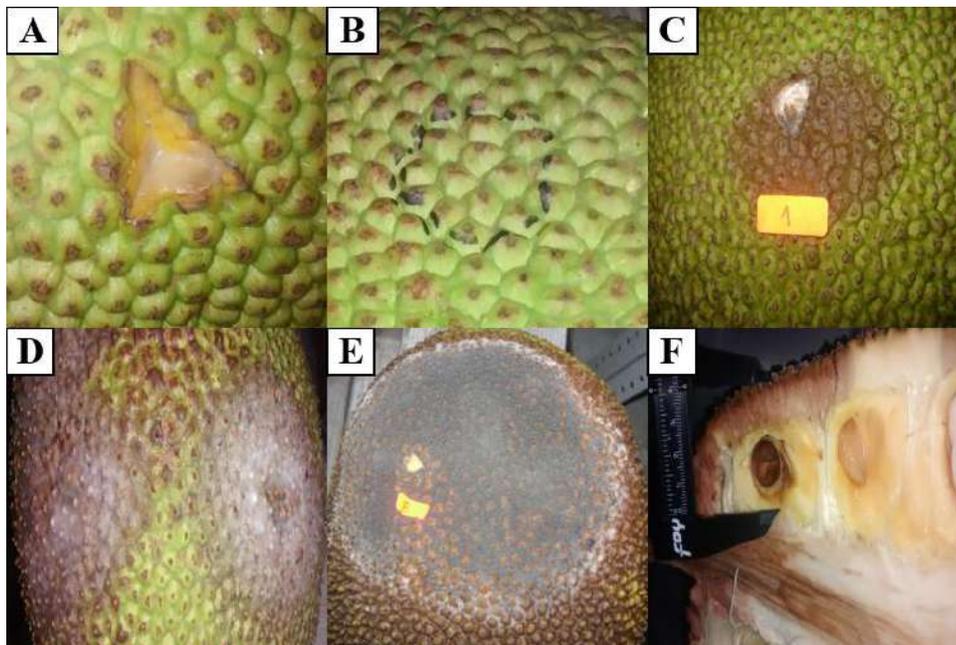


Figura 4. Síntomas de pudrición de frutos de yaca causados por *Lasiodiplodia theobromae*, A) Testigo con herida, B) Testigo sin herida, C) Pudrición marrón a partir del área inoculada con herida, D) Inicio de síntoma de la enfermedad a partir del área inoculada sin herida E) Pudrición completa del fruto y esporulación del patógeno F) Pudrición interna de fruto (zona de avance de la enfermedad).

Haque et al., (2005) reportaron a esta enfermedad como el tizón de la hoja en yaca en Bangladesh causada por *Botryosphaeria theobromae* (sinónimo *L. theobromae*) dado que observaron síntomas únicamente en hojas, siendo las hojas jóvenes las más susceptibles. Este organismo causal también ha sido reportado como patógeno de semillas y causante de la muerte descendente de árboles de yaca en India (MANOHARACHARY et al., 1979; MOHIUDDIN, 1980).

En el Pacífico Sur de Asia se registró a *L. theobromae* como el agente causal del tizón de la hoja ocasionando defoliación prematura y de la enfermedad rosada en ramas de árboles junto con otras especies de *Lasiodiplodia* afectando brotes en crecimiento provocando defoliación y muerte regresiva (APAARI, 2012).

Lasiodiplodia theobromae puede comportarse como saprófito y fitopatógeno, los síntomas que ocasiona son diversos tales como, muerte descendente, cáncer, gomosis, tizón de la hoja, pudrición de raíz, entre otros, dependiendo del hospedero (cultivo/planta) y la parte afectada (PITT y HOCKING, 2009; SHAHBAZ et al., 2009). A nivel mundial ha sido registrado en diversos cultivos tales como fresa en Turquía (YILDIZ et al., 2014), pomelo en China (LUO et al., 2011), naranja china en Taiwán (KO et al., 2004), aguacate en Italia (GARIBALDI et al., 2012), mango en Pakistán y Brasil (SHAHBAZ et al., 2009; MARQUES et al., 2013), rambután en Sri Lanka (SIVAKUMAR et al., 1997), papaya en Brasil (QUEIROZ et al., 1997), marañón en Brasil (CARDOSO et al., 2002), longan en Puerto Rico (SERRATO-DÍAZ et al., 2014), entre otros. En México, *L. theobromae* se ha reportado en algunos cultivos frutícolas como zapote (VÁSQUEZ et al., 2009), vid (ÚRBEZ-TORRES et al., 2008), zapote mamey (MORALES et al., 2008), nuez (ALVIDREZ-VILLARREAL et al., 2012), papaya (ROJO, 2013) y mango (SANDOVAL-SÁNCHEZ et al., 2013).

Lasiodiplodia theobromae mostró un crecimiento uniforme y continuo *in vitro* con un promedio de 4.6 cm, del primer al quinto día, las colonias desarrollaron micelio algodonoso abundante de color blanco-grisáceo aéreo que se tornó gris oliváceo (Fig. 2), el centro de la caja se observó un color gris oscuro mientras que al reverso fue grisáceo (1-3 d), después se tornó negro; a los 20 d se observaron conidiomas picnidiales (Fig. 2C). Los conidios jóvenes (Fig. 2D) fueron ovales, hialinos y de paredes delgadas sin septos mientras que los conidios maduros mostraron un color marrón oscuro y de paredes gruesas con un tabique mediano y estriaciones longitudinales (Fig. 2E). De acuerdo con sus caracteres morfológicos y secuencia genómica comparada con otras secuencias reportadas y registradas en el GENBANK se obtuvo una homología del 99 % con *L. theobromae*, número de acceso ([KX462997.1: KM278132.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/KX462997.1)).

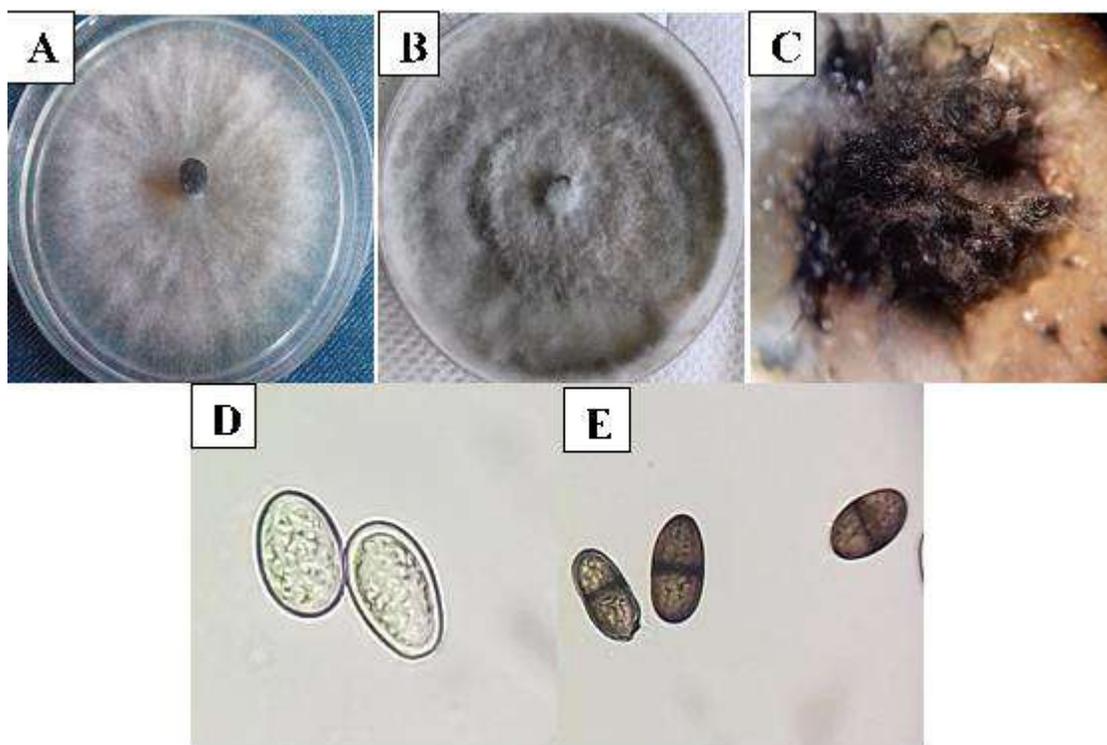


Figura 5. Crecimiento in vitro de *Lasiodiplodia theobromae* aislado de frutos de yaca en PDA, A) Crecimiento a las 24 h, B) Crecimiento a las 120 h, C) Producción de picnidios a los 20 d, D) Conidios inmaduros hialinos, E) Conidios maduros.

CONCLUSIÓN

Con base en la identificación morfológica y molecular, y las pruebas de patogenicidad, el hongo *Lasiodiplodia theobromae* es el agente causal de la pudrición blanda color café de los frutos de yaca en Nayarit, México, siendo el primer reporte de este patógeno asociado a frutos de yaca en el país, además, de mostrar la capacidad de causar la enfermedad en frutos con o sin heridas.

REFERENCIAS

ABDOLLAHZADEH, J.; JAVADI, A.; MOHAMMADI-GOLTAPPEH, E.; ZARE, R.; PHILLIPS, A.J.L. Phylogeny and morphology of four new species of *Lasiodiplodia* from Iran. *Persoonia*, v.25, p.1-10, 2010.

AGRIOS, G. N. Plant Pathology. 4th ed. Elsevier Academic Press. New York. USA. 2005. 922p.

ALVIDREZ-VILLARREAL, R.; HERNÁNDEZ-CASTILLO, F.D.; GARCIA-MARTÍNEZ, O.; MENDOZA-VILLARREAL, R.; RODRÍGUEZ-HERRERA, R.; AGUILAR, C.N. Isolation and pathogenicity of fungi associated to ambrosia borer (*Euplatypus segnis*) found injuring pecan (*Carya illinoensis*) wood. **Agricultural Sciences**, v.3, p.405-416, 2012.

APAARI. Jackfruit improvement in the Asia-Pacific Region a status report. Asia-Pacific Association of agricultural Research Institutions Bangkok, Thailand. 2012. 182p.

AHRENS, U.; SEEMÜLLER, E. Detection de DNA of plant pathogenic mycoplasmalike organisms by polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene. **Phytopathology**, v.82, p.828-832, 1992.

BALIGA, M. S.; SHIVASHANKARA, A.R.; HANIADKA, R.; DSOUZA, J.; BHAT, H.P. Phytochemistry, nutritional and pharmacological properties of *Artocarpus heterophyllus* Lam (jackfruit): **A Review. Food Research International**, v.44, n.7, p.1800–1811, 2011.

BARNETT, H.L.; HUNTER, B.B. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th ed. APS Press. St. Paul, Minesota, 2006. USA.

CARDOSO, J. E.; VIDAL, J. C.; SANTOS, A. D.; FREIRE, F. C. O., VIANA, F. M. P. First report of black branch dieback of cashew caused by *Lasiodiplodia theobromae* in Brazil. **Plant Disease**, v.86, n.5, p.558-558, 2002.

CROUS, P.W.; PALM, M.E. Reassessment of the anamorph genera *Botryodiplodia*, *Dothiorella* and *Fusicoccum*. **Sydowia**, v.51, n.2, p.167-175, 1999.

GARIBALDI, A.; BERTETTI, D.; AMATULLI, M. T.; CARDINALE, J.; GULLINO, M. L. First report of postharvest fruit rot in avocado (*Persea americana*) caused by *Lasiodiplodia theobromae* in Italy. **Plant Disease**, v.96, n.3, p.460-460, 2012.

GHOSH, G.H. Studies on flowering and prevalence of fruit drop in jackfruit. Annual Report (1993-94). **Horticulture Research Center**, BARI, Gazipur, Bangladesh, 4-9, 1994.

GHOSH, R.; BARMAN, S.; MUKHOPADHYAY, A.; MANDAL, N. C. Biological control of fruit-rot of jackfruit by rhizobacteria and food grade lactic acid bacteria. **Biological Control**, v. 83, p.29-36, 2015.

HAQUE, M. M.; MRIDHA, M. A. U.; BHUIYAN, M. K.; HUDA, S. M. S.; UDDIN, M. B. Studies on the occurrence and severity of leaf blight of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) caused by *Botryodiplodia theobromae* Pat. **Journal of Mycopathological Research**, v.43, n.1, p.91-94, 2005.

KO, W. H.; WANG, I. T.; ANN, P. J. *Lasiodiplodia theobromae* as a causal agent of kumquat dieback in Taiwán. **Plant Disease**, v.88, n.12, p.1383-1383, 2004.

LOVE, K.; PAULL, E. R. Jackfruit. Fruits and Nuts. College of tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa 2011. F-N-19.

LUNA, E. G.; ALEJO, S. C.; RAMÍREZ, G. L. G.; ARÉVALO, G. M. L. La yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) un fruto de exportación. **Agro Productividad**, v.6 n.5, p.65-70, 2013.

LUO, M.; DONG, Z. Y.; BIN, S. Y.; LIN, J. T. First report of fruit rot disease on pomelo caused by *Lasiodiplodia theobromae* in China. **Plant Disease**, v.95, n.9, p.1190-1190, 2011.

MANANDHAR, J. B.; HARTMAN G. L.; WANG, T. C. Conidial germination and appressorial formation of *Collectotrichum capsici* and *C. gloeosporioides* isolates from pepper. **Plant Disease**, v.79 p.361-366, 1995.

MANOHARACHARY, C.; RAO, K. M.; BHADRAIAH, B. Seed rot of *Artocarpus integrifolia* Linn. Geobios. 1979.

MARQUÉS, M.W.; LIMA, N.B.; MORAIS JUNIOR, M.A.; BARBOSA, M.A.G.; SOUZA, B.O.; MICHEREFF, S.J.; PHILLIPS, A.J.L.; CÂMARA, M.P.S. Species of *Lasiodiplodia* associated with mango in Brazil. **Fungal Diversity**. 2013.

MOHIUDDIN, M. Study of the Die-back disease of *Artocarpus heterophyllus* at Dulahazra. Cox's Bazar. M. Sc. 1980. Thesis. Department of botany, Chittagong University.

MONDAL, F. M. "Production and Storage of Fruits" (in Bangla). Mrs. Afia Mondal, BAU campus, Mymensingh. 2000.

MORALES, A. M.; HERNÁNDEZ, L. U. H.; OSORIO, R. O.; TEJACAL, I. A.; MARTÍNEZ, V. L.; BAÑOS, S. B.; SÁNCHEZ, D. G. Incidencia y severidad de *Botryodiplodia theobromae* en frutos de zapote mamey en Jalpa de Méndez, Tabasco, México. **Revista Científica UDO Agrícola**, v.8, n.1, p.29-32, 2008.

NELSON, S. *Rhizopus* rot of jackfruit. **Plant Disease**. PD-29, 2005.

NI, H. F.; CHEN, R. S.; CHANG, S. F.; YANG, H. R. First report of *Lasiodiplodia* fruit rot of jackfruit in Taiwán. **Plant Disease**, v.92, n.7, p.1137-1137, 2008.

NCBI, National Center for Biotechnology Information. 2012. Gen Bank. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. (Consulta, mayo 2017).

PITT, J.; HOCKING, A. Fungi and Food Spoilage. 3th ed. 2009. Springer. Pp. 125-127.

QUEIROZ, F.; MUNIZ, M.; MENEZES, M.; Podridão da haste do mamoeiro 'Sunrise Solo' causada por *Botryodiplodia theobromae* no Estado de Alagoas. **Summa Phytopathologica** v.23, n.1, p.44-45, 1997.

RAGAZZO, S. J.A.; GUTIÉRREZ, E. A.; LUNA, S. G.; GÓMEZ, L. J. F.; CALDERÓN, S. M. Identificación molecular del hongo causante de la pudrición postcosecha de la jaca. **Revista Mexicana de Micología**, v.34, p.9-15, 2011.

RAHMAN, M. M. E.; DEY, T. K.; HOSSAIN, D. M.; NONAKA, M.; HARADA, N. First report of white mould caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on jackfruit. **Australasian Plant Disease Notes**, v.10, n.1, p.10, 2015.

RODRÍGUEZ, Y.; MOSQUEDA, M.; COMPANIONI, B.; ARZOLA, M.; BORRAS, O; PEREZ, M. C.; LORENZO, J. C., SANTOS, R. Bioassay for *in vitro* differentiation of pineapple cultivar resistance levels to heart rot disease. **In vitro Cellular & Developmental Biology-Plant**, v.38, n.6, p.613-616, 2002.

ROJO, B. I. *Lasiodiplodia theobromae*, *Colletotrichum gloeosporioides* y *Colletotrichum capsici* asociadas a pudrición del pedúnculo y antracnosis en papaya (*Carica papaya* L.). 2013. Tesis. P. 69. Tesis de Maestría. Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo A.C. Unidad Culiacán, Culiacán, Sinaloa.

SANDOVAL-SÁNCHEZ M.; NIETO-ÁNGEL, D.; SANDOVAL-ISLAS, J.S.; TÉLIZ-ORTIZ, D.; OROZCO-SANTOS, M.; SILVA-ROJAS, H.V. Hongos asociados a pudrición del pedúnculo y muerte descendente del mango (*Mangifera indica* L.). **Agrociencia**, v.47, p.61-73, 2013.

SAXENA, A., B. A. SINGH, P. SRINIVAS. Use of modified atmosphere packaging to extend shelf-life of minimally processed jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.). **Journal of Food Engineering**, v.87, n.4, p.455–466, 2008.

SERRATO-DÍAZ, L.M.; RIVERA-VARGAS, L.I; GOENAGA, R.; FRENCH- MONAR, R.D. First report of *Lasiodiplodia theobromae* causing inflorescence blight and fruit rot of longan (*Dimocarpus longan* L.) in Puerto Rico. **Plant Disease**, v.98, p.279, 2014.

SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y pesquera 2016. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Disponible en: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>. Consultado en octubre de 2016.

SINGH, J.; CHAUHAN, P. S.; KAVITA, A.; BHATNAGAR, P.; MEENA, R. R. Jackfruit: A food of promise. **HortFlora Res. Spectrum**, v.4, n.3 p.277-281, 2015.

SIVAKUMAR, D.; WIJERATNAM, R.S.W.; WIJESUNDERA, R.L.C. ABEYSEKERA, M. Post-harvest diseases of rambután (*Nephelium lappaceum*) in the western province. **Journal of the National Science Council of Sri Lanka**, v.25, p.225-229, 1997.

SHAHBAZ, M.; IQBAL, Z. A. F. A. R.; SALEEM, A.; ANJUM, M. A. Association of *Lasiodiplodia theobromae* with different decline disorders in mango (*Mangifera indica* L.). **Pakistan. Journal. Botany**, v.41, n.1, p.359-368, 2009.

ÚRBEZ-TORRES, J.R.; LEAVITT, G.M.; GUERRERO, J.C.; GUEVARA, J.; GUBLER, W.D. Identification and pathogenicity of *Lasiodiplodia theobromae* and *Diplodia seriata*, the causal agents of bot canker disease of grapevines in Mexico. **Plant Disease**, v.92, p.519-529, 2008.

USDA. National Nutrient Database for Standard Reference. Release 28 slightly revised may, 2016 software. The National Agricultural Library.V. 3.8.6.1.

VÁSQUEZ-LÓPEZ, A.; MORA-AGUILERA, J. A.; CÁRDENAS-SORIANO, E.; TÉLIZ-ORTIZ, D. Etiología e histopatología de la muerte descendente de árboles de mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) HE Moore y Stearn) en el estado de Guerrero, México. **Agrociencia**, v.43, n.7, p.717-728, 2009.

WANG, F.; ZHAO, L.; LI G.; HUANG, J.; HSIANG, T. Identification and characterization of *Botryosphaeria* spp. causing gummosis of peach trees in Hubei Province, Central China. **Plant Disease**, v.95, p.1378-1384, 2011.

WHITE, T. J.; BRUNS, T.; LEE, S. TAYLOR, J. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics.1990. En M. Innis, D. Gelfand, J. Snisky & T. White (eds). PCR protocols: a guide to methods and applications. San Diego: Academic Press. Pp. 315-322.

YILDIZ, A.; BENLIOGLU, K.; & BENLIOGLU, H. S. First report of strawberry dieback caused by *Lasiodiplodia theobromae*. **Plant Disease**, v.98, n.11, p.1579-1579, 2014.

CAPITULO V. EFECTIVIDAD ANTAGÓNICA DE TRES ESPECIES DE TRICHODERMA CONTRA HONGOS AISLADOS DE INFLORESCENCIAS Y FRUTOS DE *Artocarpus heterophyllus*

RESÚMEN.

El uso de plaguicidas en el cultivo de yaca es muy limitado, tan solo la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA) de los Estados Unidos de América permite el uso de Azoxistrobin y Glifosato, sin embargo, los países consumidores demandan productos inocuos que garanticen la salud del consumidor. El género *Trichoderma* (Fungi: Ascomycota: Sordariomycetes: Hypocreaceae) contiene especies con gran capacidad antagónica y la evaluación *in vitro* puede sugerir su desempeño en campo para el uso de control biológico. En este trabajo se evaluó la capacidad antagónica de *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* y *T. longibraquiatum* mediante la técnica de cultivos duales contra seis hongos fitopatógenos aislados de inflorescencias y frutos de yaca. De acuerdo al análisis estadístico la especie de *Trichoderma* que mostró mejor antagonismo contra los seis hongos fitopatógenos fue *T. longibraquiatum* seguida de *T. harzianum* y *T. asperellum*.

Palabras clave: yaca, hongos fitopatógenos, control biológico, evaluación *in vitro*.

Abstract

The use of pesticides within the yaca culture is very limited, only the Environmental Protection Agency (EPA) of the United States of America allows the use of Azoxystrobin and glyphosate, however, consuming countries demand safe products that guarantee consumer's health. The genus *Trichoderma* (Fungi: Ascomycota: Sordariomycetes: Hypocreaceae) contains species with great antagonistic capacity and the *in vitro* evaluation can suggest its performance in the field for the use of biological control. In this work the antagonistic capacity of *Trichoderma asperellum*, *T. harzianum* and *T. longibraquiatum* was evaluated by means of the technique of dual cultures against six phytopathogenic fungi isolated from inflorescences and jackfruit fruits. According to the statistical analysis, the *Trichoderma* species that showed the

best antagonism against the six phytopathogenic fungi was *T. longibraquiatum* followed by *T. harzianum* and *T. asperellum*.

Key words: jackfruit, phytopathogenic fungi, biological control, *in vitro* evaluation.

INTRODUCCIÓN

El uso de control biológico tiene varias ventajas comparado con los fungicidas convencionales, entre ellas, es que pueden establecerse en un ecosistema, colonizar y reproducirse en el mismo, mientras que los fungicidas solo tienen un efecto temporal, por lo que se requiere de aplicaciones continuas durante el crecimiento del cultivo (Auler *et al.*, 2013).

Las especies del género *Trichoderma* spp (Fungi: Ascomycota: Sordariomycetes: Hypocreaceae) están ampliamente distribuidas en el mundo (De Respini *et al.*, 2010) y son los antagonistas más utilizados para el control de enfermedades ocasionados por hongos, esto debido a su ubicuidad, a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su crecimiento rápido en un gran número de sustratos y a que no atacan a plantas superiores (Papavizas *et al.*, 1982).

El género *Trichoderma* comprende una gran cantidad de especies, las cuales actúan como control biológico a través de uno o más mecanismos (Sharma, 2012) que pueden ser de forma indirecta, la cual comprende la competencia por nutrientes y el espacio, antibiosis e inducción de mecanismos defensivos de las plantas, mientras que de forma directa abarca el hiperparasitismo (Gajera *et al.*, 2013). Las cepas de *Trichoderma* spp. pueden producir una gran cantidad de metabolitos como los antibióticos que degradan celulosa, quitina, xilano y lignina, y también poseen actividad proteolítica, debido a estas propiedades, este género tiene un alto potencial biotecnológico (Rossi-Rodrigues *et al.*, 2009).

El control de enfermedades dentro del cultivo de yaca con el uso de pesticidas es muy limitado ya que solo se tiene la autorización del fungicida azoxystrobin y el herbicida

glifosato por parte de la Agencia de Protección del Medio Ambiente (EPA) de los Estados Unidos de América, mientras que en Europa se permite el uso de los fungicidas Isopyrazam, Cresoxim-metilo, así como de los insecticidas Tiacloprid y Spirotetramat, sin embargo, los países consumidores demandan productos agrícolas sin residuos de pesticidas (Serrano *et al.*, 2005). En India se utilizaron *Burkholderia cenocepacia*, *Pseudomonas poae* y tres cepas diferentes de *Lactococcus lactis* subsp. *Lactis* como control biológico contra *R. stolonifer* aislado de inflorescencias y frutos de yaca teniendo una efectividad superior al 90 % (Ghosh *et al.*, 2015).

Debido al escaso uso de control biológico dentro del cultivo de yaca para el control enfermedades fitopatógenas, el objetivo de esta investigación fue evaluar la actividad antagonista de tres especies de *Trichoderma* contra seis hongos fitopatógenos aislados de inflorescencias y frutos de yaca del estado de Nayarit con el fin de tener una alternativa de control biológico que se pueda utilizar dentro del cultivo sin contaminar el ambiente.

MATERIALES Y MÉTODO

Reactivación y mantenimiento de los aislamientos de *Trichoderma*

Las cepas *T. asperellum*, *T. harzianum* y *T. longibrachiatum* fueron proporcionadas por el Laboratorio de Parasitología Agrícola ubicado en el Centro Multidisciplinario de investigación Científica (CEMIC 3) de la Universidad Autónoma de Nayarit. Se reactivaron las cepas de *Trichoderma* en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) y posteriormente se replicaron en nuevas cajas Petri con el mismo medio de cultivo y se incubaron en la cámara de crecimiento a 28 °C durante 7 días para su desarrollo.

Obtención de los aislamientos patogénicos

Se recolectaron inflorescencias y frutos de yaca con síntomas de pudrición húmeda y seca de huertas comerciales en los municipios de San Blas y Compostela, Nayarit, México. Se procesaron 300 disecciones de inflorescencias (masculinas y femeninas) y 150 disecciones de frutos con avance de la enfermedad, los fragmentos fueron

sembrados en cajas de Petri con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA-BIOXON®) y se incubaron a $28\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ en una cámara de crecimiento por 7 d (NOVATECH®) (Agrios, 2005). Los hongos que crecieron se aislaron y purificaron en PDA mediante la técnica descrita por Manandhar *et al.* (1995) para la obtención de cultivos monospóricos y su posterior identificación morfológica a nivel de género mediante claves taxonómicas de Barnett y Hunter (2006). Se inocularon inflorescencias y frutos mediante dos procedimientos (con y sin herida) en la epidermis de los tejidos. Las flores femeninas se inocularon con *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus*, *Rhizopus stolonifer* y *Lasiodiplodia theobromae*, inflorescencias masculinas con *F. solani*, *A. flavus*, *R. stolonifer*, *L. theobromae*, *Aspergillus niger* y *Cunninghamella clavata* y los frutos con *L. theobromae*, todos aparentemente sanos con la finalidad de reproducir la sintomatología y realizar nuevamente el aislamiento a fin de corroborar la patogenicidad según los postulados de Koch. Se contó con inflorescencias y frutos testigos, a los cuales se les colocó agua destilada estéril y segmentos de PDA sin micelio. Además, del uso de claves morfológicas se confirmó la identificación molecular de los patógenos mediante pruebas moleculares utilizando primers genéricos cuyos productos fueron amplificados por PCR y finalmente enviados para su secuenciación. Las secuencias fueron comparadas en la base de datos GENBANK.

Pruebas de antagonismo *in vitro*

Diseño experimental

Se empleó un experimento completamente al azar y un diseño de tratamientos factorial 3 x 6; los tratamientos consistieron en la confrontación de tres niveles del factor A que correspondieron a las tres cepas de *Trichoderma* spp (TA, TH y TL) con seis niveles del factor B concernientes a los seis hongos patógenos aislados de inflorescencias y frutos de yaca (FS, AN, AF, RS, CC, LT) con un total de 18 confrontaciones cada una con tres repeticiones y sus testigos (ANEXO X). La unidad experimental fue una caja de Petri con la siembra de patógeno y antagonista. Se tomó como unidad experimental una caja de Petri.

Prueba antagónica y caracterización de la tasa de crecimiento

El efecto antagónico de *Trichoderma* sobre los hongos patógenos fue determinado utilizando el método de cultivos duales (Larralde *et al.*, 2008). Se utilizaron cajas Petri de 90 mm de diámetro con medio de cultivo PDA, en cada caja y bajo condiciones asépticas se colocaron dos discos de micelio de 8 mm de diámetro (separados 5 cm aproximadamente), un disco correspondió a la cepa del patógeno con crecimiento activo y el otro al antagonista con 6 d de crecimiento; los discos fueron sembrados en los extremos de la caja de manera equidistante. Una vez situados ambos organismos fungosos en las cajas de Petri, se incubaron en la cámara de crecimiento a 25 ± 1 °C.

Días al primer contacto entre hifas

Consiste en conocer el momento en que sucede el primer contacto entre las puntas de hifa del organismo antagónico y el patógeno. Se realizaron revisiones en las 18 interacciones y sus repeticiones cada 24 h a partir de la siembra de ambas especies.

Tasa de crecimiento

La determinación de la tasa de crecimiento (TC) de los hongos, se obtuvo al medir el crecimiento radial del micelio hasta cubrir completamente la superficie de la caja Petri. Al final del experimento se utilizó la siguiente fórmula:

$$TC = \frac{\text{Crecimiento final} - \text{Crecimiento inicial}}{\text{Tiempo de incubación}}$$

El crecimiento de ambos hongos se midió diariamente hasta que la confrontación terminó a los 16 días después de la siembra, entonces la TC y el porcentaje de inhibición del crecimiento de los patógenos (IC) se calcularon, considerando como un 100 % de crecimiento el diámetro de la colonia del hongo patógeno cuando creció en ausencia de *Trichoderma*.

Análisis estadístico

Al resultado de las confrontaciones se les aplicó análisis de varianza (ANOVA) y pruebas de medias por el método de Duncan ($\alpha \leq 0.05$) mediante el programa estadístico Statistical Analysis System (SAS Institute Inc., 2009).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Contacto entre hifas

La mayoría de las especies patógenas confrontadas con *T. longibraquiatum* hicieron contacto entre sí a los 3 días después de la siembra (*A. niger*, *A. flavus*, *R. stolonifer*, *C. clavata*, *F. solani*) a excepción de una especie (*L. theobromae*) que tuvo contacto a los 2 días, con el antagonista *T. harzianum* los patógenos entraron en contacto a los 2 d (*R. stolonifer*), 3 d (*C. clavata*), 4 d (*L. theobromae*, *A. niger* y *A. flavus*), y 5 d (*F. solani*), mientras que las especies patogénicas confrontadas con *T. asperellum* tardaron más días en entrar en contacto, 4 d (*A. niger* y *A. flavus*), 5 d (*R. stolonifer* y *C. clavata*) y 7 d (*L. theobromae* y *F. solani*).

Confrontación patógenos: antagonistas

En el cuadro 3 se observa que el análisis de varianza para la acción hongo patógeno: antagonista no expresó confrontación significativa entre estos, la diferencia es establecida por el crecimiento significativo de cada tipo de hongo; en términos generales el crecimiento de los Trichodermas superó con un 19 % a los hongos patógenos. El valor del coeficiente de variación se considera aceptable debido a que algunos hongos presentaron pequeña dispersión en el crecimiento y otros más

distantes con respecto a su media, es posible que esta variación es debido a la diversidad de crecimiento de acuerdo al tipo de hongo.

ANOVA

Cuadro 3. Resultados del análisis de varianza de las confrontaciones entre tres especies de *Trichoderma* spp y seis fitopatógenos aislados de inflorescencias y frutos de *Artocarpus heterophyllus*.

Variable	Fuente	P > f	C.V. (%)	\bar{x} general
Patógeno	A	0.0001**	49.65	17.90
	B	0.0001**		
	A*B	0.8096 ^{NS}		
	Trat	0.0001**		
Antagonista	A	0.0001**	55.86	22.02
	B	0.0001**		
	A*B	0.6143		
	Trat	0.0001**		

De acuerdo al ANOVA no hay diferencias significativas entre la interacción A*B pero si hay interacción en cada factor (efecto simple patógeno y efecto simple antagonista) por lo que fue necesario hacer comparación de medias por DUNCAN.

Tasa de crecimiento

De los tres antagonistas, el de rápido crecimiento fue *T. longibraquiatum*, mientras que los patógenos con rápido crecimiento fueron *R. stolonifer*, *C. clavata* y *L. theobromae* (Cuadro 1), sin embargo, algunos hongos patógenos mostraron mayor crecimiento que el antagonista.

Cuadro 4. Indicadores de crecimiento de tres hongos antagonistas evaluados y seis patógenos aislados de inflorescencias y frutos de yaca.

Cepa	Tasa de crecimiento (mm)	Días en que cubrió la caja
<i>T. asperellum</i>	4.63	12
<i>T. harzianum</i>	8.88	7
<i>T. longibraquiatum</i>	10.1	3
<i>L. theobromae</i>	10.02	7
<i>F. solani</i>	4.17	16
<i>R. stolonifer</i>	12.62	5
<i>C. clavata</i>	11.68	5
<i>A. flavus</i>	5.68	12
<i>A. niger</i>	7.47	8

Cuadro 5. Comparación de medias de las confrontaciones realizadas durante la evaluación antagonística in vitro de tres especies de *Trichoderma* spp contra seis patógenos aislados de inflorescencias y frutos de yaca.

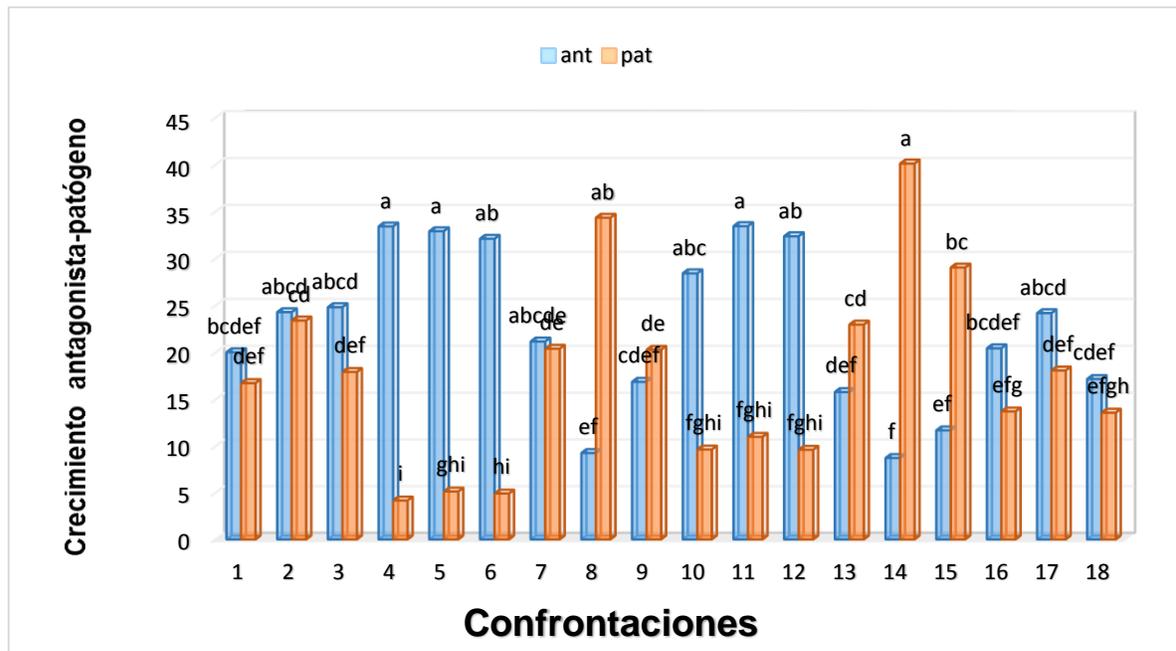
Confrontaciones	ANT:PAT	Crecim ant	Crecim pat
1	TL-L	20.02 bcdef	16.74 def
2	TL-R	24.29 abcd	23.408 cd
3	TL-C	24.82 abcd	17.93 def
4	TL-F	33.42 a	4.17 i
5	TL-AN	32.91 a	5.13 ghi
6	TL-AF	32.11 ab	4.91 hi
7	TH-L	21.17 abcde	20.40 de
8	TH-R	9.26 ef	34.35 ab
9	TH-C	16.88 cdef	20.29 de
10	TH-F	28.43 abc	9.64fghi
11	TH-AN	33.45 a	10.99 fghi
12	TH-AF	32.38 ab	9.61 fghl
13	TA-L	15.79 def	22.97 cd
14	TA-R	8.72 f	40.12 a
15	TA-C	11.69 ef	29.055 bc
16	TA-F	20.45 bcdef	13.72 efg
17	TA-AN	24.19 abcd	18.08 def
18	TA-AF	17.18 cdef	13.58 efgh

Valores con diferente literal difieren estadísticamente (Duncan $P \leq 0.05$).

ANT: PAT= antagonista: patógeno, crecim ant= crecimiento de antagonista, crecim pat= crecimiento de patógeno.

Antagonistas: TA= *Trichoderma asperellum*; TH= *T. harzianum*; TL= *T. longibrachiatum*.

Fitopatógenos: L= *Lasiodiplodia theobromae*; R= *Rhizopus stolonifer*; C= *Cunninghamella clavata*; F= *Fusarium solani*; AN= *Aspergillus niger*; AF= *Aspergillus flavus*.



Columnas con igual letra no son significativamente diferentes para $P \leq 0.05$

Figura 6. Crecimiento de antagonista y patógeno al realizar las confrontaciones mediante la técnica de cultivos duales.

Las especies *T. longibrachiatum*, *T. harzianum* y *T. asperellum* han sido reportadas como agentes de biocontrol contra diferentes hongos fitopatógenos (Howell, 2003; Verma *et al.*, 2007), sin embargo, la importancia de *T. longibraquiatum* ha sido cuestionada ya que su uso puede representar un serio peligro para la salud humana (Chouaki *et al.*, 2002; Sánchez *et al.*, 2007). La temperatura optima de crecimiento se

encuentra entre 27 a 30°C con una máxima de 35 °C (Hermosa *et al.*, 2000; Watanabe *et al.*, 2005).

Su actividad comúnmente se ha relacionado con la producción de enzimas quitinolíticas (Viterbo *et al.*, 2002), a 1,3-glucanasa y a 1,6-glucanasa (Bara *et al.*, 2003; Marcello *et al.*, 2010) celulasas y proteasas (Sanz *et al.*, 2004), también puede inducir resistencia sistémica contra patógenos foliares (Yedidia *et al.*, 2003) y colonizar endofíticamente epidermis y corteza exterior de las radículas (Shoresh *et al.*, 2005) o de tallos y hojas (Samuels, 2006).

El crecimiento de los fitopatógenos se redujo en la mayoría de las confrontaciones con las tres cepas de *Trichoderma* al sobrecrecer sobre el micelio de los patógenos, sin embargo, de las tres cepas, *T. longibrachiatum* presentó un rápido crecimiento por lo que tuvo mayor capacidad antagónica contra los fitopatógenos pero principalmente contra *Fusarium solani*. Sobowale *et al.* (2010) reportaron que *T. longibrachiatum* logró tener antagonismo contra aislados de *Fusarium verticillioides* (Nirenberg) procedentes de raíces de maíz, por su parte, Guigón-López *et al.* (2010) reportaron que la especie de *Trichoderma* no tuvo efecto sobre *Fusarium* sp. aislado de raíces de chile (*Capsicum annuum* L.).

T. longibrachiatum también se ha reportado con buena capacidad antagónica contra *Sclerotium rolfsii* y *Rhizoctonia solani* mostrando una efectividad del 100% (Adekunle *et al.*, 2001; Hoyos-Carvajal *et al.*, 2008). Estudios recientes reportan la eficacia de *T. longibrachiatum* como inductores de resistencia sistémica contra fitopatógenos (Chowdappa *et al.*, 2013), tal caso se presentó en plantas de algodón transgénico donde induce la producción de compuestos fenólicos, así como una mayor actividad específica de enzimas relacionadas con la defensa de las plantas a patógenos, tal como PAL y POX, en condiciones de campo (González-Soto *et al.*, 2017).

La mayor o menor acción antagónica de *T. longibrachiatum* puede ser el resultado de una mayor competencia por los nutrientes del medio, o una menor producción de proteasa y cisteína, enzimas producidas por las especies de *Trichoderma* que inactivan la capacidad enzimática del fitopatógeno (Bomfim *et al.*, 2010)

La efectividad de *T. longibrachiatum* es tan amplia que logra tener efecto letal y parasitario en la segunda etapa juvenil de nemátodos como *Meloidogyne incognita* (Zhang y Xu, 2015) y *M. javanica* (Treub) Chitwood (Sokhandani *et al.*, 2016)

CONCLUSIÓN

T. longibrachiatum logró competir por espacio y nutrientes sobrecreciendo a los hongos fitopatógenos en dos y tres días, tiempo menor comparado con las otras dos especies de *Trichoderma*, por esto se considera la mejor alternativa de control biológico dentro del cultivo de yaca y principalmente contra *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger*.

LITERATURA CITADA

Agencia de Protección al Medio Ambiente (EPA) de los Estados Unidos de América. Revisado en noviembre de 2017. Link: https://www.ecfr.gov/cgi-bin/textidx?tpl=/ecfrbrowse/title40/40cfr180_main_02.tpl

Adekunle, A. T., Cardwell, K. F., Florini, D. A., and Ikotun T. 2001. Seed Treatment with *Trichoderma* Species for Control of Damping-off of Cowpea Caused by *Macrophomina phaseolina*. *Biocontrol Science and Technology* 11:4, pages 449-457.

Agrios, G.N. 2005. *Plant Pathology*. Fifth Edition. Elsevier Academic Press. New York. USA. 922p.

- Auler, A. C. V., Carvalho, D. D. C., and Mello, S. C. M. 2013. Antagonismo de *Trichoderma harzianum* a *Sclerotium rolfsii* nas culturas do feijoeiro e soja. *Revista agro@mbiente on-line*, [S.l.], v. 7, n. 3, p. 359-365, dez.
- Bara, M. T. F., Lima, A. L., and Ulhoa, C. J. 2003. Purification and characterization of an exo- α -1,3-glucanase produced by *Trichoderma asperellum*. *FEMS Microbiology Letters* 219: 81-85.
- Barnett HL and Hunter BB. 2006. *Illustrated genera of imperfect fungi*. Fourth Edition. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. 218 p.
- Bomfim, M. P., São José, A. R., Rebouças, T. N. H., Almeida, S. S. D., Souza, I. V. B., and Dias, N. O. (2010). Avaliação antagônica in vitro e in vivo de *Trichoderma* spp. a *Rhizopus stolonifer* em maracujazeiro amarelo. *Summa Phytopathologica*. v.36, n.1, p.61-67.
- Chouaki, T., Lavarde, V., Lachaud, L. Raccurt, C. P., and Hennequin, C. 2002. Invasive Infections Due to *Trichoderma* Species: Report of 2 Cases, Findings of *In Vitro* Susceptibility Testing, and Review of the Literature. *Clinical Infectious Diseases* 35: 1360-1367.
- Chowdappa, P., Kumar, S.P.M., Lakshmi, M.J. and Upreti, 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. *Biological Control*, 65: 109-117.

- De Respinis, S., Vogel, G., Benagli, C., Tonolla, M., Petrini, O., and Samuels, G. J. 2010. Maldi-TOF MS of *Trichoderma*: A model system for the identification of microfungi. *Mycological Progress*, 9: 79-100.
- Gajera, H., Domadiya, R., Patel, S., Kapopara, M., and Golakiya, B. 2013. Molecular mechanism of *Trichoderma* as bio-control agents against phytopathogen system – a review. *Current research in Microbiology and Biotechnology*, v. 1, n. 4, p. 133-142.
- González-Soto, T. E., Moreno-Ramírez, L., Troncoso-Rojas, R., González-Mendoza, D., Sánchez-Estrada, A., Grimaldo Juárez, O. and Ceceña-Durán, C. 2017. Inoculación de *Trichoderma longibrachiatum* en algodón transgénico: Cambios en compuestos fenólicos y enzimas de estrés oxidativo. *Idesia (Arica)*, (AHEAD), 1-6.
- Ghosh, R., Barman, S., Mukhopadhyay, A. and Mandal, N. C. 2015. Biological control of fruit-rot of jackfruit by rhizobacteria and food grade lactic acid bacteria. *Biological control* 83: 29-36.
- Guigón-López, C., Guerrero-Prieto, V., Vargas-Albores, F., Carvajal-Millán, E., Ávila-Quezada, G. D., Bravo-Luna, L., and Lorito, M. 2010. Identificación molecular de cepas nativas de *Trichoderma* spp. su tasa de crecimiento in vitro y antagonismo contra hongos fitopatógenos. *Revista mexicana de fitopatología*, 28(2), 87-96.
- Hermosa, M. R., Grondona, I., Iturriaga, E. A., Diaz-Minguez, J.M., Castro, C., Monte, E., and Garcia-Acha, I. 2000. Molecular characterization and identification of biocontrol isolates of *Trichoderma* spp. *Applied Environmental Microbiology* 66:1890–1898.

- Hoyos-Carvajal, L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, I., and Orduz, S. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. *Agronomía Colombiana*, 26(3).
- Howell, C. R. 2003. Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 87: 4-10.
- Larralde, C. C., Santiago, M. R., Sifuentes, R.A., Rodríguez, L. I., Rodríguez, P. M., Shirai, K., and Narváez, Z. J. 2008. Biocontrol potential and polyphasic characterization of novel native *Trichoderma* strains against *Macrophomina phaseolina* isolated from sorghum and common bean. *Applied Microbiology and Biotechnology* 80: 167-177.
- Manandhar, J. B. G. L. Hartman and T. C. Wang. 1995. Conidial germination and appressorial formation of *Collectotrichum capsici* and *C. gloeosporioides* isolates from pepper. *Plant Disease*, 79: 361-366.
- Marcello, C. M., Steindorff, A. S., Silva, S. P., Silva, R. N., Mendes, B. L. A., and Ulhoa, C. J. 2010. Expression analysis of the exo-b-1,3-glucanase from the mycoparasitic fungus *Trichoderma asperellum*. *Microbiological Research* 165: 75-81.
- Papavizas G.C., Lewis J.A. and Abd-Elmoity T.H. 1982. Evaluation of new biotypes of *Trichoderma harzianum* for tolerance to Benomyl and enhanced biocontrol capabilities. *Phytopathology* 72: 126-132.
- Rossi-Rodrigues, B. C., Brochetto-Braga, M. R., Tauk-Tornisielo, S. M., Carmona, E. C., Arruda, V. M. and Chaud Netto, J. 2009. Comparative growth of trichoderma

strains in different nutritional sources, using bioscreen c automated system. *Brazilian Journal of Microbiology*, 40(2), 404-410.

Samuels, G. J. 2006. *Trichoderma*: Systematics, the Sexual State, and Ecology. *Phytopathology* 96: 195- 206.

Sanz, L., Montero, M., Grondona, I., Vizcaíno, J. A., Llobell, A., Hermosa, R., and Monte, E. 2004. Cell wall-degrading isoenzyme profiles of *Trichoderma* biocontrol strains show correlation with rDNA taxonomic species. *Current Genetics* 46: 277–286.

Sánchez, V., Rebolledo, O., Picaso, R. M., Cárdenas, E., Córdova, J., González, O. and Samuels, G. J. 2007. *In vitro* antagonism of *Thielaviopsis paradoxa* by *Trichoderma longibrachiatum*. *Mycopathologia* 163: 49–58.

Sobowale, A.A.; Odebode, A.C.; Cardwell, K.F.; Banyopadhyay, R.; Jonathan, S.G. 2010. Antagonistic potential of *Trichoderma longibrachiatum* and *T. hamatum* resident on maize (*Zea mays*) plants against *Fusarium verticillioides* (Nirenberg) isolated from rotting maize stem. *Archives of Phytopathology and Plant Protection*, 8: 43: 744-753.

Sokhandani, Z., Moosavi, M. R., and Basirnia, T. 2016. Optimum concentrations of *Trichoderma longibrachiatum* and *cadusafos* for controlling *Meloidogyne javanica* on Zucchini plants. *Journal of nematology*, 48(1), 54.

Shoresh, M., Yedidia, I., and Chet, I. 2005. Involvement of jasmonic acid/ethylene signaling pathway in the systemic resistance induced in cucumber by *Trichoderma asperellum* T203. *Phytopathology* 95:76-84.

- Verma M., Brar S. K., Tyag, R.D., Surampalli, R.Y., and Valero, J.R. 2007. Review: Antagonistic fungi, *Trichoderma* spp.: Panoply of biological control. *Biochemical Engineering Journal* 37: 1-20.
- Viterbo, A., Harel, M., and Chet, I. 2004. Isolation of two aspartyl proteases from *Trichoderma asperellum* expressed during colonization of cucumber roots. *FEMS Microbiology Letters* 238: 151–158.
- Watanabe, S., Kumakura, K., Kato, H., Iyozumi, H., Togawa, M., and Nagayama, K. 2005. Identification of *Trichoderma* SKT-1, a biological control agent against seedborne pathogens of rice. *Journal of General Plant Pathology* 71: 351–356.
- Yedidia, I., Shoresh, M., Kerem, Z., Benhamou, N., Kapulnik, Y., and Chet, I. 2003. Concomitant Induction of Systemic Resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* in Cucumber by *Trichoderma asperellum* (T-203) and Accumulation of Phytoalexins. *Applied and Environmental Microbiology* 69: 7343–7353.
- Zhang, S., Gan, Y., and Xu, B. (2015). Biocontrol potential of a native species of *Trichoderma longibrachiatum* against *Meloidogyne incognita*. *Applied Soil Ecology*, 94, 21-29.

CAPÍTULO VI. CONCLUSIONES GENERALES

- ❖ Con base en la identificación morfológica y molecular y las pruebas de patogenicidad se encontró que, los hongos que ocasionaron la pudrición de inflorescencias femeninas de yaca en Nayarit, México, son *F. solani*, *A. flavus*, *R. stolonifer* y *L. theobromae* y en inflorescencias masculinas *F. solani*, *A. flavus*, *R. stolonifer*, *L. theobromae*, *A. niger* y *C. clavata* mostrando mayor susceptibilidad las inflorescencias masculinas al ataque de estos hongos. El áfido *Aphis (Toxoptera) aurantii* es vector de *R. stolonifer* entre las inflorescencias masculinas. Este estudio proporciona el primer reporte de *F. solani*, *A. flavus* y *C. clavata* como patógenos de inflorescencias de yaca en México y el mundo.
- ❖ Con base en la identificación morfológica y molecular, y las pruebas de patogenicidad, el hongo *Lasiodiplodia theobromae* es el agente causal de la pudrición blanda color café de los frutos de yaca en Nayarit, México, siendo el primer reporte de este patógeno asociado a frutos de yaca en el país, además, de mostrar la capacidad de causar la enfermedad en frutos con o sin heridas.
- ❖ *T. longibrachiatum* logró competir por espacio y nutrientes sobrecreciendo a los hongos fitopatógenos en dos y tres días, tiempo menor comparado con las otras dos especies de *Trichoderma*, por esto se considera la mejor alternativa de control biológico dentro del cultivo de yaca y principalmente contra *Fusarium solani*, *Aspergillus flavus* y *Aspergillus niger*.

CAPÍTULO VII. LITERATURA CITADA

- Abd El-Zaher. 2009. Studies on micropropagation of jackfruit. 2-A comparative histological studies on *in vitro* and *ex vitro* plants of jackfruit. World J. Agric. Sri., 4: 255-262.
- APAARI. 2012. Jackfruit Improvement in the Asia-Pacific Region – A Status Report. Asia-Pacific Association of Agricultural Research Institutions, Bangkok, Thailand. 182p.
- Azad, A.K. 2000. Genetic diversity of jackfruit in Bangladesh and development of propagation methods. Ph. D Thesis, University of Southampton, UK. 200 p.
- Bailey, L.H. 1949. Manual of cultivated plants. McMillan Co. New York. 338 p.
- Barua, A.G. y Boruah, B.R. 2004. Minerals and functional groups present in the jackfruit seed: a spectroscopic investigation. J Food Sci Nutr 55:479–83.
- Biworo. A. 2015. Antidiabetic and Antioxidant Activity of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) Extract, J Med Bioeng, 4(4): 318-323.
- Borines, L. M., Palermo, V. G., Guadalquiver, G. A., Dwyer, C., Drenth, A., Daniel, R., y Guest, D. I. 2014. Jackfruit decline caused by *Phytophthora palmivora* (Butler). Australasian Plant Pathology, 43 (2):123-129.
- Butani, D.K. 1978. Pests and diseases of jackfruit in India and their control (a review). Fruits, 33(5): 351-357.
- Chowdhury, M. S. M. y Hossain, I. 2011. Effects of temperature, rainfall and relative humidity on leaf spot of jackfruit seedling and its eco-friendly management. The Agriculturists, 9 (1-2): 126-136.
- Chowdhury, M. S. M., Mazed, H. K., Irin, I. J., Rahman, M. H., y Moonmoon, J. F. 2015. Study on seedling diseases of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.) in Bangladesh. International Journal of Applied Research, 1(4): 24-29.
- Crane, J.H. y Balerdi, C.F. 2000. La jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) en Florida. Departamento de Ciencias Hortícolas, Servicio de extensión cooperativa de Florida, Instituto de alimentos y ciencias agrícolas, Universidad de Florida.

Devaraj, T. L. 1985. Speaking of Ayurvedic remedies for common disease, New Delhi, Sterling.

Elevitch C. R. y Manner H. I. 2006. *Artocarpus heterophyllus* (jackfruit). Species profiles for Pacific Island agroforestry, pp. 1-17.

Ferrao, J. E. M. 1999. Fiticultura tropical: especies com frutos comestiveis, Vol I. Lisbon: Instituto de Investigacao Cientifica Tropical.

Gapasin M. R., Garcia P. R., Advincula T. C., De la Cruz S. C. y Borines M. L. 2014. Fruit Bronzing: a new disease affecting jackfruit caused by *Pantoea stewartii* (Smith) mergaert *et al.* Annals of Tropical Research, 36(1):17-31.

Goldenberg, S. 2014. Jackfruit heralded as 'miracle' food crop. *The Guardian*. 23 April, p. 55.

Ghosh, G.H. 1994. Studies on flowering and prevalence of fruit drop in jackfruit. Annual Report (1993-94). Horticulture Research Center, BARI, Gazipur, Bangladesh, pp. 4-9.

Ghosh, S.P. 1998. Fruit wealth of India. In: Arora RK and Rao VR (eds.). Tropical Fruits in Asia, Diversity, Maintenance and Use. IPGRI South Asia, New Delhi, India: 3-15.

Ghosh, S.P. 1998. Status Report on Genetic Resources of Jackfruit in India and South-East Asia. In: Bhag Mal, Ramanatha Rao V and Arora RK (eds.) IPGRI South Asia, New Delhi.

Ghosh, R., Barman, S., Mukhopadhyay, A., and Mandal, N. C. 2015. Biological control of fruit-rot of jackfruit by rhizobacteria and food grade lactic acid bacteria. Biological control 83: 29-36.

Haq, N. 2006. Jackfruit: *Artocarpus heterophyllus* Crops for the Future. Vol.10.

Haque, M. M.; Mridha, M. A. U.; Bhuiyan, M. K.; Huda, S. M. S.; Uddin, M. B. 2005. Studies on the occurrence and severity of leaf blight of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) caused by *Botryodiplodia theobromae* Pat. Journal of Mycopathological Research, v.43, n.1, p.91-94.

- John, J. 2014. Homestead Farming in Kerala: A Multi-Faceted Land-Use System. A review of agrarian studies, 4(1): 80-91.
- Jonathan, H. C., Carlos, F. B. y Maguire, I. 2013. Jackfruit Growing in the Florida Home
- Joshi, L., Wibawa, G., Ilang, F., Akiefnawati, R., Mulyoutami. E., Wulandari, D. y Penot, E. 2006. Diversified rubber agroforestry for smallholder farmers – a better alternative to monoculture workshop on “Rubber Development in Lao PDR: Exploring Improved Systems for Smallholder Rubber Production”, Vientiane, Lao PDR, 9-11 May.
- Kanfade, A. M. y Raju, G. S. 2014. Implementation of Agroforestry for Poverty Alleviation and Livelihood improvement in the state of Tripura: India, World Congress on Agroforestry, 10 - 14 February, New Delhi, India.
- Khan, M. R., Omoloso, A. D. y Kinara, M. 2003. Antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*. *Fitoterapia*, 74: 501–505.
- Joshi, P. V. y Kadam, J. J. 2015. Symptomatology, pathogenicity, host range and cultural study of *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Penz. & Sacc. causing tip blight of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.). *Periodic Research*, 4(1).
- Khan, M.R., Omoloso, A.D. and Kihara, M. 2003. Antibacterial activity of *Artocarpus heterophyllus*. *Fitoterapia*, 74: 501-505.
- Long H. B., Sun Y. F. y Bai C. 2015. First report of the root-knot nematode *Meloidogyne enterolobii* infecting jackfruit tree in China. *Plant Disease*, 99(12): 1868.
- Love, K. y Paull, E. R. 2011. Jackfruit. Fruits and Nuts. College of tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawaii at Manoa. F-N-19.
- Lin, C. N., Lu, C. M. y Huang, P. L. 2000. Flavonoids from *Artocarpus heterophyllus*. *Phytochem*, 39(6): 1447–1451.
- Luna, E. G., Alejo, S. C., Ramírez, G. L. G y Arévalo, G. M L. 2013. La yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) un fruto de exportación. *Agro Productividad* 6(5):65-70.

- Magcale-Macandog, D. B., Ranola, R. F., Ani, P. A. B. y Vidal, N. B. 2010. Enhancing the food security of upland farming households through agroforestry in Claveria, Misamis Oriental, Philippines, *Agrofor Syst*, 79: 327-342.
- Mani, M. y Krishnamoorthy, A. 1997. Suppression of spherical mealybug, *Nipaecoccus viridis* (Newstead) (Homoptera: *Pseudococcidae*) on jack fruit. *Entomon*, 22(2): 161-163.
- Mukherjee, B. 1993. Traditional medicine, New Delhi: Mohan Primalani for Oxford and IBH Publishing Co.
- McMillan, R.T., 1974. *Rhizopus artocarp* rot of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*). *Bull. Florida State Hortic. Soc.*, 392–393.
- Ni, H. F., Chen, R. S., Chang, S. F. y Yang, H. R. 2008. First report of *Lasiodiplodia* fruit rot of jackfruit in Taiwan. *Plant Disease* 92(7): 1137-1137.
- Nova, A.J. y L.E. Arrambide. 1994. El cultivo de Jaca *Artocarpus heterophyllus* en el Ejido El Llano, municipio de San Blas, Nayarit. Tesis de Licenciatura. Unidad Académica de Agricultura. Universidad Autónoma de Nayarit. 46 p.
- Patil, A. D., Freyer. A. J., Killmer, L., Offen, P., Taylor. P. B., Votta, B. J. y Johnson, R. K. 2002. A new *dimeric dihydrochalcone* and a new prenylated flavone from the bud covers of *Artocarpus atilis*: Potent inhibitors of cathepsin. *J Nat Prod*, 65: 624–627.
- Pushpakumara, D. K. N. G. 2006. Foral and fruit morphology and phenology of *Artocarpus heterophyllus* Lam. (Moraceae). *Sri. Lankan Journal of Agricultural Science* 43: 82-196.
- Prakash, O., Kumar, R., Mishra, A. y Gupta, R. 2009. *Artocarpus heterophyllus* (Jackfruit): An overview. *Phcog Rev*, 3(6): 353–358.
- Priya Devi, S., Talaulikar, S., Gupta, M. J., Thangam, M. y Singh, N. P. 2014. A Guide on Jack Fruit - Cultivation and Value Addition. Technical Bulletin No. 41, ICAR (RC), Goa. P. 7.
- Ragazzo, S. J.A., Gutiérrez, E. A., Luna, S. G., Gómez, L. J. F. y Calderón S. M. 2011. Identificación molecular del hongo causante de la pudrición postcosecha de la jaca. *Revista Mexicana de Micología* 34: 9-15.

- Rahman, M. M. E., Dey, T. K., Hossain, D. M., Nonaka, M., y Harada, N. 2015. First report of white mould caused by *Sclerotinia sclerotiorum* on jackfruit. *Australasian Plant Disease*, 10 (1): 1-3.
- Reddy, P.P. 1998. Nematodes and their control in Tropical Fruit Crops. In: Arora RK and Rao VR (eds.) *Tropical Fruits in Asia, Diversity, Maintenance and Use*. IPGRI- South Asia, New Delhi, India. 246-250.
- Rodríguez-Palomera, M., Cambero-Campos, J., Luna-Esquivel, G., Robles-Bermúdez, A. y Cambero-Nava, K. G. 2017. Entomofauna asociada al cultivo de yaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) en Nayarit, México. *Entomología mexicana* 4: 220-225.
- Samaddar HM. 1985. Jackfruit. In: Bose TK, Mishra SK, editors. *Fruits of India: tropical and subtropical*. Culcutta, India: Naya Prokash. p 638–49.
- Sathyavathi G. V., Gupta, A. K. y Tandon, N. 1987. *Medicinal plants of India*. New Delhi, India: Indian Council of Medical Research, p. 57.
- Servicio de Información Agroalimentaria y pesquera (SIAP) 2016. Cierre de la producción agrícola por cultivo. En línea. Consultado en octubre de 2015. Disponible en: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>.
- Soeksmanto, A., Hapsari. Y. y Simanjuntak, P. 2007. Antioxidant content of parts Mahkota dewa, *phaleria macrocarpa* (scheff) boerl (thymelaceae). *Biodiversitas*, 8(2): 92-95.
- Soepadmo, E. 1992. *Artocarpus heterophyllus* Lam. In: Verheij EWM and Coronel RE (eds.) *Plant Resources of Southeast Asia No. 2: Edible Fruits and Nuts*. PROSEA, Wageningen, Netherlands pp. 86-91.
- Su, B.N., Cuendet, M., Hawthorne, M. E., Kardono, L. B. S., Riswan, S., Fong, H. H. S., Mehta, R. G., Pezzuto, J.M. y Kinghorn, A. D. 2002. Constituents of the bark and twigs of *Artocarpus dadah* with cyclooxygenase inhibitory activity. *J Nat Prod*, 65: 163–169.

Theivasanthi T, Alagar M. 2011. An insight analysis of nano sized powder of jackfruit seed. *Nano Biomed Eng* 3(3):163–8.

USDA. National Nutrient Database for Standard Reference. Release 28 slightly revised may, 2017. software. The National Agricultural Library.V. 3.8.6.1.

Van Tri, M., Van Hoa, N., Chau, N. M., Pane, A. N., Faedda, R., De Patrizio, A. y Cacciola, S. O. 2015. Decline of jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*) incited by *Phytophthora palmivora* in Vietnam. *Phytopathologia Mediterranea*, 54(2): 275.

Zulperi, D., Manaf, N., Ismail, S. I., Karam Singh, D. S. y Yusof, M. T. 2017. First report of *Pantoea stewartii* subspecies *stewartii* causing Fruit Bronzing of Jackfruit (*Artocarpus heterophyllus*), a New Emerging Disease in Peninsular Malaysia. *Plant Disease*, (ja)

ANEXO

Cuadro 1. Conformación de las confrontaciones de cepas de *Trichoderma* spp y hongos patógenos aislados de inflorescencias y frutos de yaca.

Confrontación	Antagonista	Patógeno
1	<i>Trichoderma asperellum</i>	<i>Fusarium solani</i>
2		<i>Aspergillus niger</i>
3		<i>Aspergillus flavus</i>
4		<i>Rhizopus stolonifer</i>
5		<i>Cunninghamella clavata</i>
6		<i>Lasiodiplodia theobromae</i>
7	<i>Trichoderma harzianum</i>	<i>Fusarium solani</i>
8		<i>Aspergillus niger</i>
9		<i>Aspergillus flavus</i>
10		<i>Rhizopus stolonifer</i>
11		<i>Cunninghamella clavata</i>
12		<i>Lasiodiplodia theobromae</i>
13	<i>Trichoderma longibrachiatum</i>	<i>Fusarium solani</i>
14		<i>Aspergillus niger</i>
15		<i>Aspergillus flavus</i>
16		<i>Rhizopus stolonifer</i>
17		<i>Cunninghamella clavata</i>
18		<i>Lasiodiplodia theobromae</i>