

SIMPOSIO: FITOSANIDAD EN
1. MUSÁCEAS: SITUACIÓN ACTUAL Y
AMENAZAS POTENCIALES

1.1. *Fusarium* RAZA 4 TROPICAL Y OTRAS AMENAZAS FITOSANITARIAS PARA LOS PLÁTANOS Y BANANOS EN AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE

[*Fusarium* Tropical race 4 and other phytosanitary threats for banana and plantains in Latin American and the Caribbean]

Miguel Dita

Alianza Bioersity International - CIAT, Cali, Colombia. m.dita@cgiar.org

Análisis de riesgos indicaron desde hace más de 20 años que la llegada de la raza 4 tropical de *Fusarium oxysporum* f. sp. *ubense* (Foc R4T) a las Américas era cuestión de tiempo. Estas previsiones se cumplieron y en 2019 y 2021 se registraron brotes de Foc R4T en Colombia y Perú, respectivamente. En Colombia, después de tres años del primer reporte, el patógeno no solo se ha reportado en todas las fincas de banano de exportación en La Guajira (11 fincas), sino también en dos fincas en el Magdalena, a unos 300 km del primer brote. En Perú, Foc R4T ya está afectando a más de 40 fincas de pequeños productores en tres distritos diferentes (Salitral, Querecotillo y Marvelica) en la provincia de Sullana. Se están realizando importantes esfuerzos por parte de las Organizaciones

Nacionales y Regionales de Protección Fitosanitaria (ONPF/ORPF) en estos países para contener el patógeno. Sin embargo, la complejidad de la enfermedad, unido a las características de la mayoría de los sistemas de producción de plátanos y bananos en ALC, indican que la contención del Foc R4T requiere de un enfoque regional con alianzas públicas y privadas efectivas, pero sobre todo con una mayor participación de los gobiernos. En este trabajo se discuten algunos de los desafíos de detección temprana y contención de incursiones Foc R4T en ALC utilizando los brotes de Colombia y Perú como casos de estudio, así como las experiencias de acumuladas en el manejo de Foc R4T en el mundo. Adicionalmente, se discuten otras enfermedades de las musáceas consideradas amenazas fitosanitarias para estos cultivos en ALC.

1.2. VIGILANCIA EPIDEMIOLÓGICA FITOSANITARIA DE ENFERMEDADES POTENCIALES PARA LAS MUSÁCEAS EN MÉXICO

[Epidemiological Phytosanitary Surveillance of potential diseases for musaceae in Mexico]

Verónica Espínola-Arriaga, Guillermo Santiago-Martínez, Francisco Ramírez-y Ramírez
Centro Nacional de Referencia Fitosanitaria Dirección General de Sanidad Vegetal, Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA)-. Tecámac, Estado de México.
veronica.espinola.i@senasica.gob.mx.

Con el fin de detectar de oportunamente plagas que afecten a las Musáceas y otros cultivos de importancia económica, en México, el Gobierno Federal, a través del SENASICA, mantiene en operación desde el año 2010 a la fecha a el Programa de Vigilancia Epidemiológica Fitosanitaria. A partir de una priorización de plagas que afectan a las musáceas en México, se vigila la Marchitez por fusarium (*Fusarium oxysporum* f.sp. *cubense* raza 4 Tropical), Cogollo racimoso del banano (Banana bunchy top virus) y Marchitez bacteriana del banano (*Xanthomonas vasicola* pv. *musacearum*); no obstante, el resto de los problemas fitosanitarios se atienden como atención a alertas ciudadanas, principalmente en 16 entidades federativas, donde se han implementado acciones operativas de vigilancia en sitios con alto potencial de introducción,

dispersión y establecimiento. Durante 2010-2022 se tienen 343,220 observaciones de las cuales han ingresado a diagnóstico 135 sospechosos. Con base en lo anterior, y de acuerdo a lo establecido en la Norma Internacional para Medidas Fitosanitarias NIMF No. 8 Determinación de la situación de una plaga en un área, el estatus de Marchitez por fusarium, Cogollo racimoso del banano y Marchitez bacteriana del banano, se mantiene como Ausente: no hay registros de la presencia de las plagas. Asimismo, conforme a la NIMF No. 5, Glosario de término fitosanitarios, cumplen con la definición de plagas cuarentenarias, ya que se encuentran ausentes en el país y pueden potencialmente causar pérdidas económicas en musáceas.

1.3. ESTUDIO PARA DETERMINAR EL IMPACTO ECONÓMICO DE FOC R4T EN MÉXICO

[Study to determine the economic impact of FOC R4T in Mexico]

Natividad Moreno Honorato y Juan Manuel Pérez Curiel

Dirección de Sistematización y Análisis Sanitario del SENASICA. natividad.moreno@senasica.gob.mx; juan.perez.i@senasica.gob.mx

El banano es un alimento básico de importancia económica y social, apreciado como parte de la dieta diaria en países desarrollados, además de proporcionar ingresos y empleos a las poblaciones rurales. Asimismo, contribuye de forma decisiva en las economías, al ser considerada como la fruta fresca más exportada del mundo en cuanto a volumen y valor (Arias *et al.*, 2004). En México, la producción de plátano genera más de 300 mil empleos anuales y representa el 1.2% del valor de la producción agrícola (Figura 1) (SIAP, 2022), esto sin

considerar la derrama económica de las exportaciones nacionales del cultivo, que en los últimos 10 años incrementaron su volumen en 63.3% (SIAVI, 2022).

Actualmente a nivel mundial existe alerta sanitaria en el plátano, a causa de la marchitez del banano por *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense* Raza 4 Tropical, considerada entre las enfermedades más devastadoras de las plantas. El objetivo del presente fue enmarcar la relevancia económica del plátano de manera general en el mundo y de forma

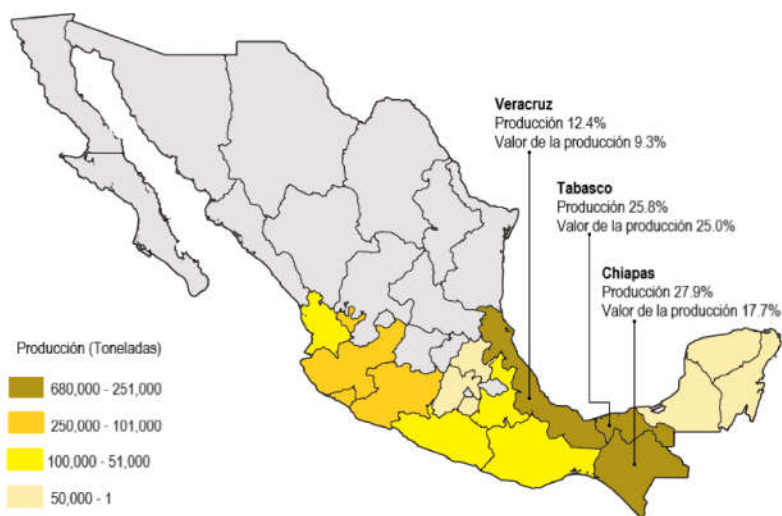


Figura 1. Región productora de plátano en México 2021. Fuente: SIAP, 2022.

particular en México, posteriormente calcular las posibles pérdidas que se tendrían en su producción de incursionar *Foc* R4T en el país. Primero se identificó el parámetro técnico de la enfermedad que incide sobre el cultivo, el cual recae en un índice de dispersión interna (IDI), debido a que el hongo inhabilita el suelo durante décadas para el desarrollo fenológico de musáceas.

Para calcular las pérdidas, se recurrió a la simulación de escenarios con presencia de *Foc* R4T, los cuales se comparan con un escenario libre del patógeno. La diferencia entre los escenarios proporciona las pérdidas en la producción de plátano, en su derrama económica y en la generación de empleos del cultivo.

Resultados, para un periodo de 25 años, con un IDI de *Foc* R4T de 1.25%, se perdería el 17% de superficie sembrada de plátano en México, con un índice del 25% se disiparía el 79% de superficie y con un índice al 50%, se inhabilitaría el 98%. Como consecuencia, bajaría la oferta nacional del fruto, incrementarían los precios del plátano para los consumidores y se prevé una mayor demanda en importaciones de bananos.

Literatura citada. Arias Pedro, Dankers C, Liu P y Pilkauskas P. 2004. La Economía Mundial del Banano 1985-2002. <http://www.fao.org/3/y5102s/y5102s00.htm#Contents>. Organismo Internacional Regional de Sanidad Agropecuaria (OIRSA). 2009. América Latina discute programa para la protección del cultivo del banano y plátano. Mirador Agro-sanitario. No. 3. Septiembre, 2009. San Salvador, El Salvador. 12 pág. Sabine, Altendorf. 2019. La marchitez del banano por Fusarium Raza 4 Tropical: ¿Una creciente amenaza al mercado mundial del banano? La reciente difusión y el posible impacto futuro de esta calamidad en el comercio mundial del banano, FAO, 2019. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2022. Estadísticas agrícolas de plátano y del sector agrícola obtenidas y depuradas del Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta (SIACON). Disponible en: <https://www.gob.mx/siap/documentos/siacon-ng-161430>. Secretaría de Economía. 2022. Información estadística comercial del cultivo de plátano obtenida y depurada del Sistema de Información Arancelaria Vía Internet (SIAVI). Disponible en: <http://www.economia-snci.gob.mx/>

1.4. MOKO DEL PLÁTANO: SITUACIÓN ACTUAL Y MANEJO

[Banana moko disease: Currently status and Management]

Luciano Martínez-Bolaños

Universidad Autónoma Chapingo. URUSSE. CIBEAO. lmartinezb@chapingo.mx

Los plátanos y bananos se cultivan en más de 130 países, y se consideran como uno de los principales cultivos a nivel mundial. México, cuenta con una superficie de 81,081 hectáreas cultivadas en 16 estados, de donde se genera la producción de este fruto para el consumo nacional y de exportación; sin embargo, el cultivo es afectado por *Ralstonia solanacearum* raza 2, patógeno cuarentenario causante del Moko bacteriano, cuya distribución se encuentra restringida en México. *R. solanacearum* raza 2 induce infecciones sistémicas vasculares en las plantas, provocando diferentes síntomas tanto

en el cormo, pseudotallo, hojas, así como en frutos, y finalmente, causa la muerte de la planta. El desafío fitosanitario es implementar programas de manejo integral sostenible de la enfermedad, con base en estrategias profilácticas y epidemiológicas, dentro de las que destacan las medidas cuarentenarias, desinfección de equipos y herramientas, así como el uso de material vegetal libre de fitopatógenos. Además de la aplicación de tratamientos de bajo impacto ambiental como el uso de extractos vegetales y bioaceites esenciales, microorganismos antagonicos o supresores, y nanomoléculas de cobre.

1.5. 50 AÑOS DE SIGATOKA NEGRA EN AMÉRICA LATINA Y EL CARIBE: APRENDIZAJE Y PERSPECTIVAS

[50 years of black Sigatoka in Latin America and the Caribbean: Learning and perspectives]

Mario Orozco-Santos¹, Gilberto Manzo-Sánchez², Luciano Martínez-Bolaños³,
Mauricio Guzmán-Quezada⁴.

¹INIFAP, Campo Experimental Tecomán-México. ²Universidad de Colima, FCBA-México. ³Universidad Autónoma Chapingo-México. ⁴Cropland Bioscience-Costa Rica. orozco.mario@inifap.gob.mx

La sigatoka negra (*Pseudocercospora fijiensis*) es la enfermedad más importante que afecta la producción de bananos y plátanos (*Musa* spp.) en la mayoría de las regiones productoras del mundo. En el continente americano, se reportó por primera vez en Honduras en el año de 1972. En cuatro décadas, se dispersó a todos los países de América Central, México, América del Sur y el Caribe. La enfermedad no solo ocasiona daños directos al cultivo, sino que ha provocado cambios en el manejo de las plantaciones, principalmente los programas de aspersión de fungicidas, lo cual trae consigo un incremento en los costos de producción. Actualmente, su combate depende del uso de productos químicos apoyado por prácticas de cultivo. Bajo condiciones de trópico seco (Ecuador y México), puede ser controlada con 20 a 35 ciclos de aplicación, mientras que en trópico húmedo (México, Costa Rica y Panamá) se requieren de 45 a 52 aplicaciones,

llegando en algunos casos hasta 65-70 aspersiones por año. En climas subtropicales (Brasil), son necesarios de 6 a 12 ciclos de aplicación. La alta variabilidad de *P. fijiensis* y la fungoresistencia ha requerido que en los 50 años de convivencia con sigatoka negra, se hayan desarrollado nuevas moléculas para su control, sistemas de muestreo y diagnóstico, mejoramiento de prácticas de cultivo y manejo de fungicidas. En algunas áreas productoras (Cuba, República Dominicana y Costa Rica), algunas variedades consideradas resistentes (Yan-gambi y FHIAs) han sido seriamente afectadas. En este trabajo se describen aspectos históricos de la sigatoka negra, haciendo énfasis en tecnologías disponibles para el manejo sostenible de la enfermedad. Se describen además áreas que requieren mayor esfuerzo de investigación, que incluyen epidemiología molecular, biotecnología e intensificación agroecológica.

2. SIMPOSIO: PATOLOGÍA DE SEMILLAS

2.1. ENFERMEDADES BACTERIANAS ORIGINADAS EN SEMILLAS

[Seed-borne bacterial diseases]

Rosa Navarrete Maya

Unidad de Investigación en Granos y Semillas, Facultad de Estudios Superiores Cuautitlán, Universidad Nacional Autónoma de México. Av. J. Jiménez Cantú s/n, Col. Atlamica, Cuautitlán Izcalli, Edo. de México, C.P. 54728. rosa_navarrete@hotmail.com

Resumen. Se presentan aspectos de importancia acerca de las enfermedades bacterianas asociadas a semillas con énfasis en las que ocurren en México y se mencionan algunas cuarentenas impuestas por la Unión Europea y otras cuarentenas impuestas por las Normas Oficiales Mexicanas de observancia obligatoria, parciales o totales. Se sugieren algunas estrategias para el manejo integrado de estas enfermedades.

Introducción. Las semillas de calidad permiten obtener rendimientos adecuados y alimentos en cantidad suficiente para abastecer los requerimientos de la población. Aproximadamente el 90 % de las plantas cultivadas se propagan por semillas y éstas en muchas ocasiones presentan patógenos, que pueden desarrollarse sobre o dentro de ellas. Cuando se siembran semillas de cereales, leguminosas, hortalizas u ornamentales infectadas por bacterias, las cosechas del ciclo siguiente pueden tener bajo rendimiento, menor calidad nutritiva, baja calidad de las flores, frutos y semillas, disminución de la calidad industrial, y en general repercusiones a nivel económico. Se calcula que el uso de semillas infectadas podría reducir el rendimiento de cultivos de un 15 a 90%. En México se han estimado pérdidas de 40 millones de dólares por cáncer bacteriano del tomate provocado por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*, especialmente en producción protegida en Sinaloa,

Jalisco, SLP, Baja California Sur, Baja California y Sonora.

Las bacterias son transmitidas por semillas cuando están sobre o dentro de éstas, penetran en sus tejidos y permanecen en estado de reposo, las semillas ofrecen a las bacterias zonas de resguardo por mayor tiempo que el suelo o los residuos de cosecha así que, al iniciar la germinación de la semilla se estimula el crecimiento bacteriano y la infección en la nueva planta, como sucede en el tizón común del frijol (*Xanthomonas axonopodis* pv. *phaseoli*), en la pudrición del grano de arroz (*Burkholderia glumae*) y en la pudrición de la vaina en arroz (*Pseudomonas syringae* pv. *syringae*).

Otras bacterias contaminan la semilla a nivel superficial como *Clavibacter tritici* en trigo o *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* en el melón; sin que esto signifique que se inicie la enfermedad en la siguiente generación de plantas, aunque puede favorecer su desarrollo en las áreas en las que se siembren esas semillas.

El desarrollo de la enfermedad en el nuevo cultivo depende de la cantidad de inóculo presente en la semilla, de su capacidad de invasión a la planta en cualquier etapa de su desarrollo, de la infección que cause a las semillas de la siguiente generación, del genotipo del hospedante, de las condiciones climáticas existentes, del tiempo en el que ocurra la infección, del sitio donde se ubica el patógeno, de las condiciones y curso de la infección.

Las enfermedades bacterianas asociadas a semillas pueden presentarse de forma endémica como el tizón común del frijol (*X. a. pv. phaseoli*) que se encuentra prácticamente en todos los estados que producen frijol y en ocasiones como epidemias en áreas inicialmente libres de ellas, como el cáncer bacteriano (*C. michiganensis* subsp. *michiganensis*) en años recientes en Puebla. Las bacterias pueden alojarse al interior de las semillas y en muchas ocasiones permanecen sin desarrollar síntomas, lo que las hace más peligrosas dado que al transportar a las semillas de un lugar a otro se transporta también a las bacterias. Si el nuevo sitio en el que se inicia la siembra tiene un ambiente favorable para el desarrollo de la enfermedad y la variedad es susceptible, se podría presentar una epifitía. Con la globalización el riesgo de transportar bacterias se incrementa, por lo que es indispensable, previo a la movilización de las semillas, realizar análisis para asegurar que los lotes de semillas estén libres de bacterias y con ello evitar su dispersión.

Las bacterias pueden asociarse a las semillas durante el proceso de producción o en la cosecha. El patógeno pasa de la planta madre a las semillas que ésta produce, y queda como: acompañante, en la superficie externa, en las partes florales y frutos; o bien en el sistema vascular. Puede pasar de semilla a semilla por el uso de maquinaria e implementos contaminados, y por la mezcla de semilla sana e infectada. De semilla a plántula como acompañante de la semilla. De planta a planta durante el proceso de producción con el paso de personas, animales o implementos, sobre todo cuando hay alta humedad relativa y exudados bacterianos, o por medio de los residuos de cosechas anteriores.

Las bacterias penetran a través de la pared del ovario, pericarpio y tegumentos como en el tizón común del frijol (*Xanthomonas a. pv. phaseoli*) o en el tizón del arroz (*Xanthomonas oryzae pv. oryzae*). Por medio de la testa en el tizón bacteriano

del chícharo (*Pseudomonas syringae pv. pisi*), por medio de los haces vasculares en el tizón común del frijol (*X. a. pv. phaseoli*) y en el del arroz (*X. oryzae pv. oryzae*), a través del micropilo en el tizón de halo en frijol (*Pseudomonas syringae pv. phaseolicola*). Por estomas en el lema y palea del arroz *B. glumae*.

Una vez dentro de la semilla las bacterias se ubican en la zona intraembrional o extraembrional y provocan infecciones locales o sistémicas como manchas foliares y manchas en vainas por *X. a. pv. phaseoli*. Infechan el embrión como en el cáncer del tomate por *Clavibacter michiganensis* subsp. *michiganensis*; infectan el endospermo como en la mancha angular del melón por *P. syringae pv. lachrymans*; otras infectan la testa, el pericarpio y el rafe como en el tizón bacteriano del chícharo por *P. s. pv. pisi*.

Entre las alteraciones inducidas por bacterias asociadas a semillas está el manchado de semillas por *P. syringae pv. phaseolicola* y *X. a. pv. phaseoli* en frijol, *P. s. pv. syringae* en cebada y *X. translucens* en trigo y cebada. Reducción de la viabilidad y vigor de las semillas *X. a. pv. phaseoli*. Si el nivel de inóculo es abundante y las condiciones ambientales favorables puede ocasionar la muerte de plántulas (60%) por tizón común del frijol (*X. a. pv. phaseoli*) y de plantas por tizón de halo del frijol (*P. s. pv. phaseolicola*), o bien la no producción de semillas o producción de semillas de mala calidad.

Las bacterias asociadas a semillas pueden favorecer el desarrollo de enfermedades al sembrar semillas infectadas, en el mismo campo o en campos lejanos, debido a que tienen los siguientes atributos: a) prolongada transmisibilidad, b) forma de supervivencia protegida e inóculo primario potencial, c) diseminación a grandes distancias y dispersión al azar, d) selección preferencial a cepas o razas de patógenos y e) posibilidad de infecciones sinérgicas.

En muchas ocasiones las bacterias asociadas a semillas no se pueden detectar a simple vista, por ello cuando se moviliza semilla de una región a otra, sin que se someta el material a cuarentena y sin que se efectúen las pruebas de sanidad correspondientes, se propicia el desarrollo de nuevas enfermedades. Estas enfermedades pueden ser explosivas y severas si los hospedantes son susceptibles y las condiciones ambientales son propicias. Un ejemplo que ilustra el peligro potencial de algunos patógenos para iniciar una epifitía es *X. campestris* pv. *campestris* que con dos semillas de col infectadas en 10,000 semillas pueden causar la pierna negra de la col.

Recomendaciones. Cuando se detecta la presencia de la enfermedad en un período crítico, tendrán que tomarse las medidas de control pertinentes. Para el control de las bacterias transmitidas por semillas se deben efectuar inspecciones de campo, para determinar la sanidad de los lotes, especialmente cuando existan condiciones que propicien el desarrollo de enfermedades que puedan afectar drásticamente la producción de semilla.

Es recomendable el manejo integrado del cultivo, que incluya diferentes estrategias: 1.- Evitar y eliminar el inóculo: a) cuarentenas y b) eliminar fuentes de inóculo. 2.- Reducción del inóculo establecido con prácticas culturales dirigidas: a) suelo, b) residuos de cosecha, c) hospedantes colaterales y d) semilla. 3.- Abatir el incremento y dispersión del inóculo: a) aprovechamiento de diferencias climáticas, b) microclima influyente, c) evitar la dispersión del inóculo y d) emplear germoplasma resistente. 4. Producción de semilla en áreas libres de la enfermedad, con riego y en áreas en donde no se produzca el cultivo a nivel comercial.

Debido al constante transporte de semillas de una región a otra deben tenerse en cuenta las regulaciones establecidas por las diferentes áreas, por

ejemplo, la Unión Europea indica cuarentena de bacterias que no están presentes en esa área EPPO A1: *Xanthomonas axonopodis* pv. *allii*, *X. axonopodis* pv. *citri*, *X. oryzae* pv. *oryzae*, *X. oryzae* pv. *oryzicola*. Otras que están presentes en esa área, pero sin amplia distribución EPPO A2: *Clavibacter michiganensis* subsp. *insidiosus*, *C. michiganensis* subsp. *michiganensis*, *C. michiganensis* subsp. *sepedonicus*, *Curtobacterium flaccumfaciens* pv. *flaccumfaciens*, *Pantoea stewartii*, *Ralstonia solanacearum*, *X. axonopodis* pv. *phaseoli*, *X. axonopodis* pv. *vesicatoria*, *X. vesicatoria* y *X. translucens* pv. *translucens*. En México las Normas Oficiales Mexicanas indican cuarentenas para bacterias patógenas de maíz NOM-018-FITO-1995: *Burkholderia andropogonis*, *C. michiganensis* subsp. *nebraskensis*, *Pantoea stewartii* y la NOM-017-FITO-1995 en trigo y triticale: *P. syringae* pv. *atrofaciens*.

Conclusiones. Por lo anterior, para lograr un buen rendimiento del cultivo de interés es fundamental iniciarlo con semillas de alta calidad física, fisiológica y sanitaria.

Literatura citada. Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. Fifth ed. Elsevier Academic Press. New York. An, S. et al. 2020. FEMS Microbiol. Rev. fuz024, 44: 1–3. Borboa, F. J. et al. 2009. Rev. Fitotec. Mex 32 (4):319-326. EPPO. 2008. EPPO A1 and A2 Lists of pests recommended for regulation as quarantine pests. European and Mediterranean Plant Protection Organization Paris, France. http://www.priorcontrol.com/files/docs/eppo_standards.pdf. Félix-Gastelum, R. et al. 2016. Phytoparasitica 44. 10.1007/s 12600-016-0530-5. Gómez, J. R. et al. 2011. INIFAP, CIRPAC. CESantiago Ixcuintla. Foll. Téc. 19, Santiago Ixcuintla, Nay., México. Guigón-López, C. y González-González, P.A. 2001. Rev. Mex. Fitopatol. 19 (1): 49- 56. Hernández-Huerta, L, et al. 2021. PeerJ

9: e10913 DOI 10.7717/peerj.10913. Janse, J. D. 2005. *Phytobacteriology principles and practice*. CABI. Oxfordshire, U.K. 360 p. Navarrete-Maya, R. 2000. Patología de semillas. *En*. Fuentes, D. G. y G. Castillo P.(eds.). *Fitosanidad de cultivos tropicales*. Sociedad Mexicana de Fitopatología. p.155-161. Navarrete-Maya, R. et al. 2014. *Rev. Mex. Fitopatol.* 32: 75-88. Navarrete-Maya, R. et al. 2021. Los tizones bacterianos de frijol en México. *En*: Ayala-Garay A.V., Acosta-Gallegos J.A. y Reyes-Muro Luis (eds.) 2021. *El Cultivo del Frijol*

Presente y Futuro para México. INIFAP. CIRCE. CEBAJ. Celaya Gto. México, Libro Téc.1. pp. 57-80. DOF. 1995. NOM-013.FITO-1995, NOM-017.FITO-1995 y NOM-029.FITO-1995. Rivera-Sosa, L. M. et al. 2022. *Rev. Mex. Fitopatol.* 40 (1):18-39. Velásquez-Valle, R. et al. 2013. *Foll. Téc.* 50. CEZAC CIRNOC – INIFAP. Velásquez-Valle, R. et al. 2017. *Foll. Téc.* 89. CEZAC. CIRNOC – INIFAP. Zhao, T. et al. 2009. *Seed Sci. Technol.* 37 (2): 337-349.

2.2. IDENTIFICACIÓN DE MICROORGANISMOS FITOPATÓGENOS EN SEMILLAS MEDIANTE SECUENCIACIÓN DE NUEVA GENERACIÓN

[Identification of plant pathogenic microorganisms in seeds through next-generation sequencing]

Hilda Victoria Silva-Rojas¹, Ángel Rebollar-Alviter², Paulino Pérez-Rodríguez¹,
José Eduardo Godínez-Alemán¹, Horacio Rair Carbajal-Caballero¹

¹Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo. Texcoco, Estado de México, México, C.P. 56230. ²Centro Regional Morelia. Universidad Autónoma Chapingo. hsilva@colpos.mx

Introducción. La semilla es uno de los recursos genéticos más importantes para la producción de alimentos a nivel mundial. Por esta razón, la calidad de la semilla se convierte en uno de los requisitos fundamentales para el inicio de nuevos ciclos agrícolas, los cuales están sujetos a diversos factores adversos causados por los cambios en las condiciones climáticas regionales. La semilla también representa un medio de dispersión de las comunidades de microorganismos que constituyen el microbioma y que influyen en el proceso de germinación de las semillas y el establecimiento de las plántulas, así como en la ecología y dinámica evolutiva de la transmisión vertical de microorganismos al conectar el entorno materno con el de la descendencia.

Materiales y métodos. Durante los últimos años, los avances en las tecnologías de secuenciación de nueva generación como la secuenciación de genomas completos y metagenómicos han permitido un número creciente de estudios en el conocimiento de la microbiota y los microbiomas de fitopatógenos pertenecientes a las diferentes categorías taxonómicas de bacterias, fitoplasmas, hongos, nematodos y virus asociados a la semilla.

Resultados. En México, se han identificado fitopatógenos que se encuentran en el suelo (e.g. *Fusarium oxysporum*), dentro -o adheridos- a la semilla botánica (e.g. *Pantoea agglomerans* y *Stenotrophomonas indicatrix*) o vegetativa (e.g. *Xylella fastidiosa*), que son capaces de incorporarse como parte del microbioma de la planta y albergarse en la semilla para luego ser dispersados a través de este medio a nuevas áreas, especialmente en cultivos que están en expansión como las berries. Asimismo, la identificación de fitopatógenos en las semillas permite rediseñar el enfoque de las estrategias de manejo de enfermedades considerando los patógenos dentro de su entorno y descifrando las complejas interacciones entre los microorganismos y los cultivos.

Conclusiones. Las nuevas herramientas de secuenciación de alto rendimiento facilitan la comprensión de enfermedades sintomáticas y asintomáticas, causadas por fitopatógenos cultivados o no cultivados (e.g. *Candidatus Liberibacter*) haciendo más fácil de descubrir nuevos genes como objetivos potenciales para una identificación precisa de patógenos nuevos o emergentes.

2.3. HISTORIA DE LOS ESTUDIOS DE PATOLOGÍA DE SEMILLAS EN MÉXICO

[History of studies on seed pathology in Mexico]

Abiel Sánchez-Arizpe

Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro.

abielsanchez@hotmail.com

La patología de semillas, existe desde hace más de 100 años y el término fue acuñado por primera vez en la década de 1940 por Mary Noble y Paul Neergaard. El objetivo de esta presentación es un recorrido histórico del pasado y presente de la patología de semillas y su situación en México. En países europeos es donde da inicio la patología de semillas, debido principalmente a sus relaciones comerciales y transporte o movimiento de semillas entre ellos. Del año 1974 al 2020, la población humana aumentó casi en un 100 por ciento, es decir de 4000 millones de personas a 8000 millones. El desarrollo y relaciones comerciales en México con

otros países, principalmente en el apartado agrícola, traen para nuestro país un riesgo fitosanitario. La dependencia de semillas de diferentes cultivos, que tiene México, hace que el riesgo fitosanitario se agrave, aunada a la situación geográfica y climática. Todo lo anterior ha traído un desarrollo importante y un gran reto para la patología de semillas en sus diferentes áreas de conocimiento. La interacción de Instituciones de Gobierno, Privadas, Universidades entre otras, en la capacitación, actualización, investigación y validación de la problemática de la patología de semillas debe apoyarse.

2.4. DETECCIÓN DE *Fusarium verticillioides* Y SU BIOCONTROL EN GENOTIPOS DE MAÍZ

[Detection of *Fusarium verticillioides* and its biocontrol in maize genotypes]

Epifanio Castro-del Ángel^{1*}, Abiel Sánchez-Arizpe¹.

¹Departamento de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Antonio Narro, Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. epifaniocastrodelangel@hotmail.com

Introducción. *Fusarium verticillioides* es un hongo que afecta diferentes cultivos destacándose su daño en el cultivo de maíz. En su infección se producen toxinas que son dañinas para la salud del humano y animales que consumen alimentos contaminados con estos metabolitos. El objetivo de esta investigación fue la detección de *Fusarium verticillioides* y el control biológico con cepas de *Trichoderma* en diferentes genotipos de maíz.

Materiales y métodos. Se utilizaron tres especies de *Trichoderma* (*T. harzianum*, *T. asperellum* y *T. longibrachiatum*) y cuatro genotipos de maíz (H520, Mestizo, Criollo blanco, UAAAN-ISP-173). Se realizaron ensayos para determinar el antagonismo *in vitro* de *Trichoderma* spp. frente a *F. verticillioides*. Los genotipos se establecieron en la Huasteca Veracruzana y se protegieron con las cepas de *Trichoderma* aplicadas con tres métodos diferentes, el experimento se estableció en un diseño de bloques al azar con arreglo factorial en condiciones de temporal e infección natural. Al finalizar el ciclo de producción se cosecharon 20 mazorcas seleccionadas al azar de tres surcos centrales de cada parcela. En el laboratorio se realizaron pruebas en placa para la detección del fitopatógeno en

medio de cultivo MGA. Se determinó la incidencia de *F. verticillioides* de las semillas colonizadas por el patógeno.

Resultados. La cepa con resultados prometedores fue *Trichoderma harzianum*. El método con resultados favorables fue tratamiento de semilla más aplicación foliar.

Conclusiones. Las cepas de *Trichoderma* spp redujeron la incidencia del fitopatógeno.

Literatura citada. Blacutt, A. A., Gold, S. E., Voss, K. A., Gao, M., and Glenn, A. E. 2018. *Fusarium verticillioides*: Advancements in Understanding the Toxicity, Virulence, and Niche Adaptations of a Model Mycotoxigenic Pathogen of Maize. *Phytopathology*.108:312-326. doi.org/10.1094/PHYTO-06-17-0203-RVW. Cisneros, L. Ma. E., Mendoza, O. L. E., Mora, A. G. 2007. Cold tolerant sorghum hybrids and parental lines. III: Quality of seeds harvested from plants infected with *Fusarium verticillioides* (sacc.) Nirenberg. Disponible en: *Agrociencia*. 41:405-415. http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_abstract&pid=S140531952007000400405&lng=es&nrm=iso&tln

2.5. HONGOS TRASMITIDOS POR SEMILLAS DE MAÍZ

[Maize seed borne fungi]

José Luis Arispe-Vázquez^{1*}, Abiel Sánchez-Arizpe², Ma. Elizabeth Galindo-Cepeda²,
Juan Mayo-Hernandez², Adriana Antonio-Bautista³, Susana Elizabeth Ramírez Sánchez⁴

¹Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Km 2.5 Carretera Iguala Tuxpan, Colonia Centro Tuxpan. Iguala de la Independencia, Guerrero, México. ²Departamento de Fitomejoramiento, ³Departamento de Parasitología, Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro, Antonio Narro. Buenavista, Saltillo, Coahuila, México. ⁴Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Av. Biodiversidad, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. arispe.jose@inifap.gob.mx

Introducción. El cultivo de maíz representa una de las fuentes más valiosas para México en lo social, económico y cultural, sin embargo, las enfermedades de maíz transmitidas por semilla juegan un papel importante, ya que ocasionan daños directos e indirectos sobre el cultivo, lo que conlleva a pérdidas para el productor, así como posibles contaminaciones para el consumidor. Los patógenos en semillas se transmiten como contaminantes adheridos a la cubierta de la semilla o internamente (Neergaard, 1977) y asociados a las semillas producen efectos como: pérdida de su calidad, ya que afectan la viabilidad y reducción de su germinación (Ghangaokar y Kshirsagar, 2013). El objetivo de esta investigación fue identificar los hongos presentes en 18 genotipos de maíz.

Materiales y Métodos. Los patógenos se aislaron en medio de cultivo PDA e identificaron mediante criterios morfológicos. Los patógenos se purificaron por cultivos monoconidiales y se resguardaron a $4\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$. Se hizo un análisis de varianza utilizando el software estadístico SAS[®] 9.1.

Resultados. De los 18 genotipos de maíz se identificó a *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Trichothecium roseum* y *Fusarium verticillioides* (Figura 1). Cabe mencionar que *F. verticillioides* y *Penicillium* sp. fueron los patógenos más presentes en los genotipos de maíz, con incidencia del 63.68 y 6.57%, respectivamente, además, junto con el género de *Aspergillus* son considerados los hongos toxicológicos más importantes.

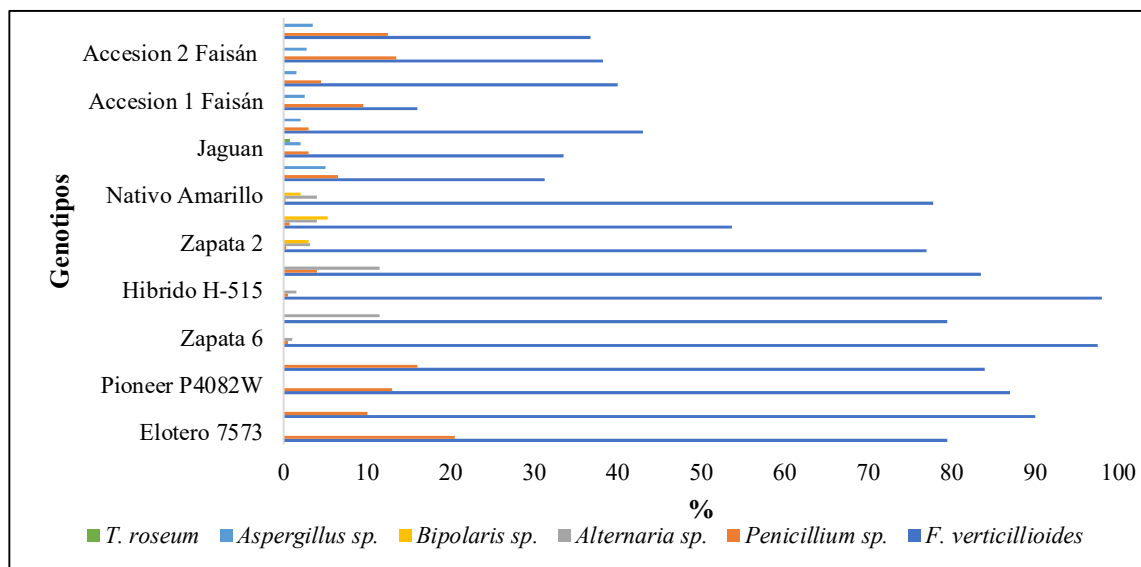


Figura 1. Incidencia de géneros y especies de hongos en los 18 genotipos de maíz en estudio.

Conclusiones. Se identificaron hongos correspondientes a los géneros y especies: *Aspergillus*, *Penicillium*, *Alternaria*, *Bipolaris*, *Trichothecium roseum* y *Fusarium verticillioides*.

Literatura citada. Neergaard, P. 1977. Quarantine policy for seed in transfer of genetic resource. Plant health and quarantine in international transfer of genetic resources. William B. Hewit and Luigi Chiarappa Eds. CRC Press, Cleveland, USA. Ghangaokar, N.M. and Kshirsagar, A.D. 2013. Study of seed borne fungi of different legumes. Trends in Life Sciences 2(1): 32-35.

SIMPOSIO: CALIDAD
3. MICROBIOLÓGICA DE LOS
BIOPRODUCTOS

3.1. CONTROL BIOLÓGICO DE FITOPATÓGENOS: UN CASO DE ÉXITO

[Biological control of phytopathogens: a case of success]

Enrique Galindo Fentanes
Instituto de Biotecnología, UNAM

En esta ponencia se relatará la experiencia para poner en el mercado el biofungicida Fungifree AB[®], el cual fue completamente desarrollado en México y es el primero de su clase en llegar al mercado. Es un polvo humectable, formulado con esporas de *Bacillus* sp. cepa 83 y que puede ser almacenado por más de dos años a temperatura ambiente, sin menoscabo de su calidad.

El desarrollo de Fungifree AB[®] es producto de más de una década de trabajo de investigadores mexicanos e involucró, desde los primeros estudios de ciencia básica, hasta el otorgamiento de los registros de uso por parte de autoridades mexicanas. Lo anterior requirió que los investigadores enfrentaran el proyecto con una visión más tecnológica que académica, lo que permitió proteger el desarrollo mediante una patente y la creación de la empresa que finalmente licenciaría la tecnología y llevaría el biofungicida al mercado. Lanzado comercialmente en noviembre de 2012, para el control de antracnosis en mango, cuenta actualmente con los registros de uso para el control de tres enfermedades ocasionadas por hongos en casi una veintena de cultivos.

Fungifree AB[®] tiene su origen en un proyecto desarrollado por el Instituto de Biotecnología de la UNAM (IBt) y el Centro de Investigación en Alimentación y Desarrollo (CIAD, Unidad Culiacán), que tuvo como finalidad aislar y caracterizar cepas de bacterias y levaduras antagonistas al hongo fitopatógeno *C. gloeosporioides*, elegir la concen-

tración óptima de microorganismos a aplicar y los intervalos de aplicación. Fueron estas instituciones quienes solicitaron la patente y posteriormente transfirieron la tecnología.

La publicación de los primeros experimentos a escala semicomercial en una revista de divulgación consultada por los profesionales en agronegocios, permitió que la compañía exportadora de mangos “El Rodeo Fruit” contactará a los investigadores, para llevar a cabo pruebas a nivel comercial, evaluando su eficacia a lo largo de varios ciclos agrícolas. Con estas pruebas, se demostró que utilizando Fungifree AB[®], los productores obtenían una cosecha con hasta un 80 % de los frutos con calidad de exportación, comparado con un sistema de control químico, donde sólo el 25 % presentaba esta calidad. Con estos resultados y la solicitud de patente, se llevaron a cabo negociaciones para transferir la tecnología, sin embargo, no se lograron concretar.

Ante los intentos fallidos por transferir la tecnología, dos de los investigadores tomaron la decisión de fundar la empresa Agro&Biotecnia S de RL de CV (A&B), la cual desarrolló un proceso de producción del microorganismo a escala piloto y que posteriormente llevó a escala comercial. Fue A&B quien realizó los trámites ante las autoridades mexicanas para registrar el producto para su uso en el control de antracnosis en mango y firmó un acuerdo de comercialización y distribución con FMC Agroquímica de México S. de R.L. de C.V.,

quien lanzó comercialmente el producto en la Expo-Agroalimentaria Guanajuato, en noviembre de 2012.

Desde su lanzamiento comercial, Fungifree AB® y Agro&Biotecnía han recibido importantes reconocimientos (Premio ADIAT 2014 a la Innovación Tecnológica, categoría PyME y el Premio Innovadores de América 2014), obtuvo la certificación como producto orgánico y ha ampliado su uso al control de antracnosis en aguacate, papaya, limón, mandarina, naranja, toronja, fresa, frambuesa, zarzamora y arándanos (*C. gloeosporioides*, *C. acutatum* y *C. fragariae*), cenicilla polvorienta en cucurbitáceas, solanáceas y berries (*L. taurica*, *E. chichoracearum* y *S. humili*), así como moho gris en berries (*B. cinerea*).

En este proyecto, el trabajo conjunto de instituciones públicas y privadas, permitió llevar al mercado un biofungicida eficaz para la producción de

frutas y hortalizas de alta calidad, inocuas y susceptibles de ser exportadas a países en donde el uso de pesticidas químicos está fuertemente regulado. También muestra que en México se pueden generar esquemas exitosos de emprendimiento de base científica y de transferencia tecnológica.

Literatura citada. Galindo E, Serrano L, Gutiérrez CR, Allende R, Balderas K, Patiño M, Trejo M, Wong MA, Rayo E, Isauro D, Jurado C. 2013. The challenges of introducing a new biofungicide to the market: A case study. *Electronic Journal of Biotechnology* 16 (6). <http://dx.doi.org/10.2225/vol16-issue3-fulltext-6>. E. Galindo, L. Serrano-Carreón, C. R. Gutiérrez, K. A. Balderas Ruíz, A. L. Muñoz Celaya, M. Mezo Villalobos, J. Arroyo Colín. 2015. Desarrollo histórico y los retos tecnológicos y legales para comercializar Fungifree AB®, el primer biofungicida 100% mexicano, *TIP Revista Especializada en Ciencias Químico-Biológicas* 18(1):52-60. <http://tip.zaragoza.unam.mx/index.php/tip/article/view/94>

3.2. BIOPROSPECCIÓN DE MICROORGANISMOS PARA PRODUCTOS BIOLÓGICOS

[Bioprospection of microorganisms for bioproducts]

Sergio de los Santos Villalobos

Instituto Tecnológico de Sonora (ITSON), Centro, Ciudad Obregón, Sonora, México.

sergio.delossantos@itson.edu.mx

Resumen. COLMENA (www.itson.mx/COLMENA) es una colección de microorganismos enfocada en la conservación, clasificación, caracterización, y transferencia de microorganismos nativos aislados de diversos agro-sistemas, y otros hábitats. El objetivo de esta colección es preservar la diversidad microbiana asociada a los cambios de uso de suelo, disminuyendo la degradación de los suelos. Hasta el momento, microorganismos del suelo de dos importantes regiones agrícolas en México han sido aislados, el Valle del Yaqui, Sonora y el Valle del Fuerte, Sinaloa. Actualmente, COLMENA conserva aproximadamente 1,464 cepas de microorganismos edáficos asociadas a diversos cultivos agrícolas, tales como: trigo (448), maíz (313), alfalfa (54), brócoli (51), frijol (35), entre otros. Recientemente, la clasificación taxonómica de 353 cepas bacterianas y fúngicas -mediante la amplificación de los genes 16S RNAr y 5.8S RNAr- ha sido concluida, observando que los géneros bacterianos más abundantes son *Bacillus* (27%), *Pseudomonas* (8%) y *Stenotrophomonas* (6%); mientras que los géneros fúngicos más abundantes fueron *Aspergillus* (8%), *Penicillium* (3%) y *Myrothecium* (3%). Por otra parte, también se llevó a cabo la caracterización metabólica de una fracción de la colección, encontrando que el 3% de la colección microbiana tiene la capacidad de producir de índoles (> 5 mg/L), la solubilización de fósforo y producción de sideróforos fue observa-

da en el 36% y 61% de las cepas analizadas (396), respectivamente. Solamente el 3% de la colección microbiana total ha sido identificada como productora de celulasas, y el 11% de un total de 258 cepas analizadas presentaron β -hemólisis. Estos resultados muestran la versatilidad de estas cepas microbianas como alternativas potenciales costo-efectivas para prácticas agro-industriales, enfocadas a contribuir a la seguridad alimentaria global.

Introducción. Uno de los retos más apremiantes a los que nos enfrentamos actualmente es la seguridad alimentaria mundial, la cual se encuentra amenazada por los efectos del cambio climático, el alto costo de los fertilizantes, la degradación del suelo y la pérdida de fertilidad (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2021). El cambio climático provoca alteraciones en el crecimiento de las plantas y aumenta la incidencia de plagas y enfermedades; estas últimas son responsables de la disminución entre el 20 y 40% de la producción agrícola (Cerdeira *et al.*, 2017).

Por otro lado, se proyecta que la población mundial aumentará a casi 10 mil millones de personas para el año 2050, lo que requerirá un aumento de más del 50% en la producción de cultivos para satisfacer la demanda de alimentos (FAO, 2017). Históricamente, la aplicación de agroquímicos ha impulsado la productividad agrícola; sin embargo, su uso incrementado ha generado daños ambientales,

económicos y a la salud humana. Una de las principales causas de la degradación de los suelos son las prácticas agrícolas intensivas no sostenibles utilizadas para la producción de alimentos, desde labranza mecánica hasta el uso excesivo y constante de fertilizantes y plaguicidas sintéticos (Díaz-Rodríguez *et al.*, 2019). Esta degradación de los suelos conduce a la disminución de sus propiedades físicas (humedad e intercambio de gases), químicas (pH y capacidad de intercambio catiónico) y biológicas (modificaciones en las comunidades microbianas involucradas en el ciclaje de nutrientes) (Friedrich, 2014). La diversidad de los microorganismos edáficos son un componente importante involucrado en el mantenimiento de la fertilidad del suelo, dicha diversidad incluye más de 10^5 especies (Bodelier, 2011), las cuales son responsables de llevar a cabo entre 80-90% de los procesos observados en el suelo (Nannipieri *et al.*, 2003). Actualmente, sólo una pequeña fracción de las comunidades microbianas del suelo (1- 10%) ha podido ser cultivada, por lo cual el estudio de este recurso microbiano permitirá entender el impacto de las actividades antropogénicas y naturales sobre la diversidad y ecología de los microorganismos, representando una herramienta para aumentar la productividad de los cultivos agrícolas de forma sostenible.

En los últimos años, el uso de microorganismos benéficos como base de los inoculantes microbianos o bioplaguicidas, ha adquirido gran relevancia en el sector agrícola, ofreciendo una alternativa sostenible enfocada a incrementar la producción de los cultivos, la fertilidad y sanidad de los suelos (Zelaya-Molina *et al.*, 2021). Éstos comprenden un grupo heterogéneo de microorganismos de vida libre o asociados a diversas partes de la planta, con la capacidad de estimular el crecimiento vegetal, proteger a las plantas contra el ataque de patógenos o tolerar condiciones de estrés abiótico (Valenzuela-Aragón *et al.*, 2019). De esta manera, el desarrollo

de inoculantes microbianos bioseguros y de fácil acceso (económicos y en existencia) representa una estrategia promisorio para sustituir parcial o totalmente la fertilización química y el uso de plaguicidas sintéticos en la agricultura, contribuyendo a la seguridad alimentaria de forma sostenible, mediante el aumento de los rendimientos agrícolas y la salud de los agro-ecosistemas (Santoyo *et al.*, 2021).

Sin embargo, en México, sólo se encuentran disponibles 230 inoculantes microbianos con registro ante COFEPRIS (Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios), donde el 55% son a base de bacterias del género *Bacillus* y únicamente el 10% son bioproductos multi-especie (Córdova-Albores *et al.*, 2021). Esto refleja una limitada variedad de estos bioproductos para su uso en el campo mexicano, lo cual incrementará el consumo de inoculantes microbianos producidos en otros países. El uso de estos bioproductos formulados a base de cepas exógenas puede ocasionar la obtención de resultados poco favorables en la productividad agrícola, ya que los microorganismos contenidos en ellos pudieron ser aislados bajo condiciones edafoclimáticas y de cultivos diferentes a las encontradas en México, propiciando el descontento y rechazo de los productores. Además, su uso representa un potencial riesgo dentro de los agro-ecosistemas debido a que la introducción de cepas microbianas exógenas, las cuales pueden competir y desplazar microorganismos nativos con nichos ecológicos determinantes para el equilibrio agroecológico (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2021).

Las principales limitantes para el éxito en campo de la aplicación de los inoculantes microbianos, se resumen en: 1) identificar una cepa o consorcio microbiano con impacto significativo sobre la característica deseada en el cultivo agrícola de interés, considerando las condiciones agro-climáticas; 2) la tendencia de producción de inoculantes

microbianos a base de una cepa lo cual limita la diversidad de mecanismos de promoción de crecimiento vegetal; 3) la falta de estándares de calidad y optimización en el proceso de producción; y 4) la selección de materiales de soporte adecuados para la bioformulación, lo cual permita transportar los microorganismos en cantidad suficiente y viable (Cruz-Cardenas *et al.*, 2021).

En este sentido, el gran esfuerzo de la comunidad científica para la aplicación de inoculantes microbianos de calidad al campo ha conducido al aislamiento de miles de cepas microbianas asociadas a diversos cultivos agrícolas de gran importancia para nuestro país. Una pequeña cantidad de cepas se han estudiado a nivel laboratorio y solo algunas han llegado a formar parte de inoculantes microbianos comerciales. Por lo anterior, uno de las primeras etapas para la bioprospección de microorganismos benéficos es que la microbiota aislada debe estar resguardada en colecciones microbianas certificadas para preservar *ex situ* la diversidad microbiana nativa asociadas a los cultivos de interés, así como el potencial recurso agro-biotecnológico que éstos representan para la comunidad científica, productores y sector público-privado, lo que permitirá explorar aún más su ecología en la agricultura actual y futura de nuestro país (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2021).

Colección de microorganismos edáficos y endófitos nativos. La colección de microorganismos edáficos y endófitos nativos (COLMENA) (www.itson.mx/colmena) es una colección microbiana dedicada a la preservación de microorganismos como estrategia de conservación de suelos, a través del aislamiento, resguardo, caracterización y tipificación de los recursos microbianos del suelo cultivable (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2018; 2021). La colección también cuantifica los beneficios ambientales y económicos de la reincorpora-

ción de estas cepas a los agro-ecosistemas. La visión de COLMENA es liderar la revolución de los inoculantes microbianos utilizados en la agricultura mexicana, transfiriendo al campo microorganismos nativos bajo condiciones bióticas y abióticas específicas.

Actualmente, COLMENA ha criopreservado 1464 microorganismos (donde el 70% de estos son cepas bacterianas y el 30% restante son cepas fúngicas) de suelos asociados a cultivos de importancia económica para México, como el trigo (556), maíz (381), alfalfa (73), papa (59), frijol (44) y otros (de los Santos-Villalobos *et al.*, 2018). El aislamiento de los microorganismos se realizó en dos regiones agrícolas principales de México: el Valle del Yaqui, ubicado en el estado de Sonora (26°53' y 28°37' N, 108°53' y 110°37' E), y el Valle Fuerte, ubicado en Sinaloa (25°53' y 26°38' N, 108°16' y 109°04' O). Estas dos regiones son de gran importancia por su aporte a la producción de trigo y maíz, a nivel nacional.

A la fecha, el 24% de las cepas microbianas conservadas en COLMENA han sido caracterizadas molecularmente mediante la amplificación del gen 16S rRNA para bacterias y 5.8S rRNA para hongos. Se han identificado 28 géneros bacterianos, donde *Bacillus* (27%), *Pseudomonas* (8%) y *Stenotrophomonas* (6%) fueron los más abundantes; además se encontraron 24 géneros de hongos, siendo *Aspergillus* (8%), *Penicillium* (3%) y *Myrothecium* (3%), los más representativos.

COLMENA en el desarrollo de alternativas agrobiotecnológicas sostenibles. COLMENA se ha especializado en la identificación y caracterización de cepas microbianas con capacidades metabólicas relacionadas con la promoción del crecimiento vegetal y el biocontrol de microorganismos fitopatógenos. Así, hasta la fecha se han analizado 396 cepas de la colección, donde el 12% es capaz

de solubilizar fósforo, y el 20% es capaz de sintetizar varios tipos de sideróforos. Además, 50 cepas de la colección tienen la capacidad de producir indoles, un grupo de fitohormonas que incluye al ácido indolacético, la principal auxina natural de las plantas. Además, se han identificado 60 cepas microbianas con la capacidad de producir enzimas celulolíticas, estas enzimas pueden tener un papel en varios mecanismos de biocontrol (Ibarra-Villarreal *et al.*, 2021). Asimismo, COLMENA identifica cepas potencialmente patógenas para humanos, esto lo realiza mediante estudios taxonómicos y de actividad β -hemolítica. A la fecha, se han evaluado 258 cepas microbianas, donde el 11% presenta actividad de β -hemólisis, restringiendo su uso como inoculantes microbianos para su aplicación en cultivos. Además de la evaluación del potencial metabólico de las cepas criopreservadas, COLMENA realiza pruebas de tolerancia al estrés hídrico, térmico y salino, y fungicidas, como el clorotalonil, fungicida utilizado de acuerdo con la Norma Oficial Mexicana sobre semillas de trigo para controlar el carbono parcial en trigo por el hongo *Tilletia indica*. La realización de estudios de susceptibilidad al estrés biótico y abiótico en conjunto con las pruebas metabólicas es fundamental en el desarrollo de inoculantes microbianos para asegurar el éxito en su implementación en los sistemas agrícolas (Díaz-Rodríguez *et al.*, 2019).

Además de los análisis metabólicos, taxonómicos, de patogenicidad y de compatibilidad agroquímica, se estudian otros rasgos durante el proceso de selección para el desarrollo de inoculantes microbianos. Las cepas seleccionadas para su bioformulación deben ser capaces de crecer en medios sintéticos, sobrevivir en acarreadores, superar los procesos tecnológicos de producción, tener estabilidad genética y la capacidad de producir efectos beneficiosos en los cultivos. Actualmente, en COLMENA se han identificado diferentes ce-

pas potenciales promotoras del crecimiento vegetal y controladoras de enfermedades fitopatógenas (Rojas-Padilla *et al.*, 2020; Villa-Rodríguez *et al.*, 2021). Algunas de las cepas más estudiadas son *B. paralicheniformis* TRQ65, *B. megaterium* TRQ8, *B. subtilis* TSO9 y *B. cabrialesii* TE3^T. Se ha reportado que estas cepas pueden solubilizar fósforo, producir indoles, y producir sideróforos. Además, todas estas cepas han sido reportadas con la capacidad de tolerar estrés salino, térmico e hídrico y tolerar el fungicida clorotalonil. El potencial de las cepas de COLMENA como agentes de biocontrol también ha sido evaluado.

Debido a las características promotoras del crecimiento, tolerancia al estrés, capacidad de biocontrol y potencial genético de estas cepas, COLMENA ha realizado ensayos *in vivo* en plantas de trigo para evaluar su capacidad para promover el crecimiento vegetal. Robles-Montoya *et al.* (2020) reportaron que la inoculación del consorcio bacteriano de *Bacillus* (TRQ8, TRQ65, TE3^T y TSO9) incrementó la longitud de la parte aérea (28%), la longitud de la raíz (25%), el desarrollo del tallo (50%), el peso seco (72%) y el índice de biovolumen (57%) en plantas de trigo. Para sustentar el potencial observado *in vitro* e *in vivo* y conocer la factibilidad de diseñar un inoculante microbiano para su uso en la agricultura, se han llevado a cabo ensayos de inoculación en condiciones de campo. Se evaluó la inoculación de diferentes consorcios de *Bacillus* en trigo logrando un incremento en el rendimiento (+1 ton ha⁻¹) con una reducción del 50% en el fertilizante nitrogenado aplicado. Además, la eficiencia en el uso del nitrógeno del cultivo aumentó en un 10.8% bajo la inoculación del consorcio con 50% de fertilización nitrogenada recomendada (Ibarra-Villarreal *et al.*, in prep).

Por otro lado, se ha realizado un análisis transcriptómico en el trigo por la co-inoculación de *B. paralicheniformis* TRQ65 y *B. megaterium* TRQ8

bajo condiciones de temperatura óptima y aumentada (+2 °C). Los patrones de expresión génica sugieren que el consorcio de *Bacillus* estudiado inhibió parcialmente la maquinaria del estrés oxidativo y promovió la división celular y los eventos de crecimiento asociados con la progresión de las etapas de desarrollo (Chaparro-Encinas *et al.*, 2021). Hasta el momento, COLMENA ha secuenciado el genoma completo de las cepas *Priestia megaterium* (antes *B. megaterium*) TRQ8, *Bacillus paralicheniformis* TRQ65 y la cepa tipo *Bacillus cabrialesii* TE3^T. Los 3 genomas revelaron la presencia de genes involucrados en la tolerancia a factores abióticos en los agro-ecosistemas, biocontrol de fitopatógenos (biosíntesis de lipopéptidos y antibióticos), y promoción del crecimiento vegetal.

En la actualidad, COLMENA se encuentra desarrollando diferentes proyectos de investigación, enfocados a la innovación de estrategias de fermentación y bioformulación, así como realizando ensayos de campo con el consorcio desarrollado para diseñar alternativas que combinen el uso de microorganismos y menores dosis de fertilizantes para incrementar los rendimientos, calidad, la eficiencia del uso de nitrógeno y agua por parte de las plantas. Otros proyectos actuales se centran en identificar los mecanismos metabólicos y moleculares de los microorganismos involucrados en la promoción del crecimiento y el biocontrol, además del estudio de genómica evolutiva comparativa, metagenómica, metabolómica y transcriptómica.

Literatura citada. Bodelier, P. 2011. Toward understanding, managing, and protecting microbial ecosystems. *Front. Microbiol.* 2, 80. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2011.00080>. Cerda, R.; Avelino, J.; Gary, C.; Tixier, P.; Lechevallier, E.; Allinne, C. 2017. Primary and Secondary Yield Losses Caused by Pests and Diseases: Assessment and Modeling in Coffee. *PLoS ONE* 2017, 12, e0169133. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0169133>. Chaparro-Encinas, L.A.; Santoyo, G.;

Peña-Cabriales, J.J.; Castro-Espinoza, L.; Parra-Cota, F.I.; de los Santos-Villalobos, S. 2021. Transcriptional Regulation of Metabolic and Cellular Processes in Durum Wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*) in the Face of Temperature Increasing. *Plants*, 10: 2792. <https://doi.org/10.3390/plants10122792>. Córdova-Albores, L.C.; Zelaya-Molina, L.X.; Ávila-Alistac, N.; Valenzuela-Ruiz, V.; Cortés-Martínez, N.E.; Parra-Cota, F.I.; Burgos-Canul, Y.Y.; Chávez-Díaz, I.F.; Fajardo-Franco, M.L.; de los Santos-Villalobos, S. 2021. Omics sciences potential on bioprospecting of biological control microbial agents: the case of the Mexican agro-biotechnology. *Mexican Journal of Phytopathology*, 39(1): 147-184. <https://doi.org/10.18781/rmex.fit.2009-3>. Cruz-Cardenas, C.I.; Zelaya-Molina, L.X.; Sandoval-Cancino, G.; de los Santos-Villalobos, S.; Rojas-Anaya, E.; Chávez-Díaz, I.F.; Ruiz-Ramirez, S. 2021. Using Microorganisms for a Sustainable Agriculture in Mexico: Considerations and Challenges. *Revista Mexicana De Ciencias Agrícolas*, 12(5): 899-913. <https://doi.org/10.29312/remexca.v12i5.290>. de los Santos-Villalobos, S. Parra-Cota, F.I.; Herrera-Sepúlveda, A.; Valenzuela-Aragón, B.; Estrada-Mora, J.C. 2018. Colección de Microorganismos Edáficos y Endófitos Nativos, para contribuir a la seguridad alimentaria nacional. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 9(1):191-202. <https://doi.org/10.29312/remexca.v9i1.858>. de los Santos-Villalobos, S.; Díaz-Rodríguez, A.M.; Ávila-Mascareño, M.F.; Martínez Vidales, A.D.; Parra-Cota, F.I. 2021. COLMENA: A Culture Collection of Native Microorganisms for Harnessing the Agro-Biotechnological Potential in Soils and Contributing to Food Security. *Diversity*, 13:337. <https://doi.org/10.3390/d13080337>. Díaz-Rodríguez, A.M.; Parra-Cota, F.I.; Santoyo, G.; de los Santos-Villalobos, S. 2019. Chlorothalonil tolerance of indole producing bacteria associated to wheat (*Triticum turgidum* L.) rhizosphere in the Yaqui Valley, Mexico. *Ecotoxicology*, 28(5): 569-577. <https://doi.org/10.1007/s10646-019-02053-x>. FAO. The Future of Food and Agriculture—Trends and Challenges; Food and Agriculture Organization of the United Nations: Rome, Italy, 2017. Friedrich, T. La seguridad alimentaria: retos actuales. *Cuba. Revista Cubana de Ciencia Agrícola* 2014, 48(4), 319-322. Ibarra-Villarreal, A. L.; Gándara-Ledezma, A.; Godoy, A.; Herrera-Sepúlveda, A.; Díaz-

- Rodríguez, A.M.; Parra-Cota, F.I.; de los Santos-Villalobos, S. 2021. Salt-tolerant *Bacillus* species as a promising strategy to mitigate the salinity stress in wheat (*Triticum turgidum* subsp. *durum*). *Journal of Arid Environments*, 186:104399. <https://doi.org/10.1016/j.jaridenv.2020.104399>. Nannipieri, P.; Ascher, J.; Ceccherini, M.T.; Landi, L.; Pietramellara, G.; Renella, G. 2003. Microbial Diversity and Soil Functions. *Eur. J. Soil Sci.* 54, 655–670. Robles-Montoya, R.I.; Chaparro-Encinas, L.A.; Parra-Cota, F.I.; de los Santos-Villalobos, S. Improving Biometric Traits of Wheat Seedlings with the Inoculation of a Consortium Native of *Bacillus*. *Rev. Mex. Cienc. Agric.* 2020, 11, 229–235. <https://doi.org/10.29312/remexca.v11i1.2162>. Rojas-Padilla, J.; Chaparro-Encinas, A.; Robles-Montoya, R.; de los Santos-Villalobos, S. 2020. Growth promotion on wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*) by co-inoculation of native *Bacillus* strains isolated from the Yaqui Valley, Mexico. *Nova Scientia*, 12(24): 1 – 27. <https://doi.org/10.21640/ns.v12i24.2136>. Santoyo, G.; Guzmán-Guzmán, P.; Parra-Cota, F.I.; de los Santos-Villalobos, S.; Orozco-Mosqueda, M.C.; Glick, B.R. 2021. Plant Growth Stimulation by Microbial Consortia. *Agronomy*, 11:219. <https://doi.org/10.3390/agronomy11020219>. Valenzuela-Aragon, B.; Parra-Cota, F.I.; Santoyo, G.; Arellano-Wattenbarger, G.; de los Santos-Villalobos, S. 2019. Plant-assisted selection: a promising alternative for in vivo identification of wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *Durum*) growth promoting bacteria. *Plant and Soil*, 435(1-2):367-384. <https://doi.org/10.1007/s11104-018-03901-1>. Villa-Rodríguez, E.; Moreno-Uloa, A.; Castro-Longoria, E.; Parra-Cota, F.I.; de los Santos-Villalobos, S. 2021. Integrated omics approaches for deciphering antifungal metabolites produced by a novel *Bacillus* species, *B. cabrialesii* TE3^T, against the spot blotch disease of wheat (*Triticum turgidum* L. subsp. *durum*). *Microbial Research*, 251:126826. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2021.126826>. Zelaya-Molina, L.X.; Chávez-Díaz, I.F.; Córdova-Albores, L.C. 2021. Microbial genetic resources in food security to face COVID-19 pandemic. *Mexican Journal of Phytopathology* 39(4):1-28. <http://dx.doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2021-7>

3.3. LOS PROCESOS DE PRODUCCIÓN A PEQUEÑA Y MEDIANA ESCALA EN EL CONTROL BIOLÓGICO DE ENFERMEDADES

[Small and medium-scale production processes in biological control of plant diseases]

Alberto J. Valencia-Botín

Laboratorio de Fitosanidad, Universidad de Guadalajara, Centro Universitario de la Ciénega.
Av. Universidad 1115. Col. Lindavista, Ocotlán Jalisco. C.P. 47820. julian.valencia@academicos.udg.mx

Inducido por la alta resistencia de fitopatógenos a productos fitosanitarios y por la generación de riesgos en humanos y de alta contaminación ambiental por el uso intensivo de los mismos, se están integrando con mayor énfasis bioproductos de control microbiano. Más de 600 especies entre hongos, bacterias, nematodos y virus se han reportado como antagonistas, entomopatógenos, mejoradores de suelos o solubilizadores de nutrientes. La variación es mayor a miles si se consideran cepas dentro de esas mismas especies. Desarrollar un programa de control microbiano o microbiológico de enfermedades es un proceso de ensayo y error, es multifactorial. Lo que en laboratorio bajo condiciones controladas funciona correctamente podría no expresar su máximo potencial biocontrolador en campo. En todo caso los procesos de producción a pequeña y mediana escala siempre deben partir de una cepa o cultivo puro, monospórica, caracterizada e identificada con técnicas tradicionales y moleculares y su posterior en ensayos de confrontación o cultivos duales. En los procesos de producción en sustrato sólido se diferencian las etapas de obtención de tubos cepa, crecimiento en medio de cultivo

líquido en este caso es considerable la utilización de medios artesanales adicionados con levadura comercial, inoculación en sustrato, el sustrato más utilizado es el arroz quebrado, crecimiento en cuarto de incubación con homogenizaciones frecuentes, fase de secado, pruebas de control de calidad, obtención de polvo conidial, formulación, pruebas de viabilidad, concentración y calidad, envasado y etiquetado. En la producción en líquido a pequeña y mediana escala también se parte de cepa madre con alta pureza genética, inoculación, incremento en bioreactor o matraz y concentración en medio líquido o sólido, control de calidad, formulación según sea hongo o bacteria, envasado y etiquetado. Posteriormente, se prueban a campo y se evalúa se capacidad antagonista con base en incidencia y la escala de severidad apropiada. La combinación de cepas en la formulación es relevante para obtener mezclas o cocteles microbianos con diferentes mecanismos de acción en un solo producto con el fin de prevenir o curar patologías con mayor rapidez. En todo caso, se requiere aplicar microorganismos activos y de alta agresividad patogénica.

3.4. IMPORTANCIA DE LA PRESERVACIÓN DE CEPAS MICROBIANAS EN PROCESOS BIOTECNOLÓGICOS

[Importance of the preservation of microbial strains in biotechnological processes]

Juan Carlos Estrada Mora

Unidad de Servicios de la Colección Nacional de Cepas Microbianas y Cultivos Celulares,
CINVESTAV - IPN, Av. IPN 2508 Zacatenco, México, D.F.

La microbiología es una de las ciencias que tiene más que ofrecer a los países en desarrollo, por su trascendencia en diferentes áreas de la salud pública, medicina, agricultura, mejoramiento del ambiente e industria y actualmente, debido a que las exigencias de la investigación y tecnología más estrictas en lo referente al empleo de cultivos de procedencia conocida para garantizar la pureza y conservación, son las colecciones de microorganismos los responsables de esta actividad. Sin cultivos microbianos, sus constituyentes celulares o enzimáticos no podrían existir la microbiología aplicada y por consecuencia la Biotecnología, que se encarga de transformar los resultados obtenidos de la ciencia básica (microbiología, biología molecular, bioquímica, etc.) en productos y procesos de valor comercial.

El alto costo de selección de cepas, investigación, desarrollo, aplicación de patentes, promoción de productos y aceptabilidad, significa la inversión de un capital considerable y esto, acoplado al hecho de que la factibilidad económica de algunas industrias biotecnológicas suelen ser ligeramente superiores a los procesos que se podrían considerar como una alternativa, hacen cada vez más importante la acción de mantener la eficiencia productiva de los cultivos microbianos involucrados en este tipo de industria, de ahí el creciente interés en la protección de los recursos genéticos de un territorio e incentivar su uso

para el desarrollo de innovaciones en biotecnología, han fortalecido la necesidad de preservar los cultivos microbianos mediante métodos confiables, para conservar la viabilidad y fundamentalmente la estabilidad por períodos prolongados, además de reducir al mínimo el riesgo de contaminación y permitir que la pureza del cultivo permanezca inalterable (García, 2000 y Floccari, 1998), una de las muchas funciones que una Colección de Cultivos Microbianos realiza para asegurar el recurso biológico para las generaciones presentes y futuras (Smith, 2000).

Existen métodos de conservación con diferente grado de labor, lo que hace factible la posibilidad de elegir el método que más convenga, existen ventajas y desventajas al elegir un método de conservación; por tanto, es necesario hacer una selección del método a utilizar a partir de un análisis de las características de cada técnica, factibilidad de su uso y las necesidades que se requieran, como lo es la optimización del espacio, la disminución de costos entre otros. (Uzunova-Doneva y Donev 2004-2005). El método de conservación ampliamente usado en la Colección del CINVESTAV para la preservación del acervo microbiano es el uso del nitrógeno líquido para llegar a temperaturas criogénicas (-196°C). El almacenamiento de microorganismos por este método es muy simple y se ha logrado aplicar con éxito para la preservación de un amplio rango de microorganismos, con él, se obtiene la más reducida pérdida de viabilidad, un

alto grado de estabilidad y períodos de sobrevivencia de más de 30 años. El costo inicial del equipamiento puede ser alto pero la seguridad de este método justifica su costo, sobre todo en cultivos difíciles de preservar por otros métodos (Porter, 2000).

Literatura citada. Floccari M. Métodos de conservación de cultivos bacterianos. *Rev. Arg. Microbiol.* 1998, 30:42-51. García, M. D.; F. Uruburu: "La conservación de cepas microbianas". Colección Microbiana de Cultivos Tipo (CECT)

Universidad de Valencia, Act SEM 2000; 30:12-6. Porter J.R. The World View of Culture Collections en: *The Role of Culture Collections in the Era of Molecular Biology*. R.R.Colwell (ed.). American Society for Microbiology. Washington, 78-79, 2000. Smith D. Culture Collection Function and Quality Management. Curso de Gerencia y Mantenimiento de Colecciones de Cultivos, Cuba.18-23, 2000. Uzunova-Doneva, T.; T. Donev: "Anabiosis and Conservation of Microorganisms", *Journal of Culture Collections*. 4:17-28, Bulgaria, 2004- 2005. <http://hdl.handle.net/1807/5199>.

3.5. REGULACIÓN DE INSUMOS DE NUTRICIÓN VEGETAL NOM-077-FITO-2000 Y NOM-182-SSA1-2010

[Plant nutrition inputs regulation NOM-077-FITO-2000 and NOM-182-SSA1-2010]

César Francisco Lugo Montes

Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural. *cesar.lugo@sagarpa.gob.mx*

México cuenta con una normativa eficiente y transparente para regular la efectividad de los insumos de nutrición vegetal, con fundamento en la Ley Federal de Sanidad Vegetal (DOF 26/12/2017) en sus artículos 5 y 38, que establece que su regulación se realizará a través de normas oficiales mexicanas, que en este caso es vía la NOM-077-FITO-2000, Por la que se establecen los requisitos y especificaciones para la realización de estudios de efectividad biológica de los insumos de nutrición vegetal (DOF 19/12/11).

Por lo anterior, la Secretaría estableció en el Reglamento Interior (DOF 03-05-2021) en su Artículo 29 que la Dirección General de Suelos y Agua tiene la atribución en su numeral V, Promover y coordinar las acciones en materia de Normalización para los sistemas de riego, Fertilizantes Químicos y Biológicos, así como de los productos y tecnologías que mejoren la fertilidad, conservación y regeneración de los suelos agrícolas.

Los estudios de efectividad biológica permiten garantizar y avalar que un producto realmente ofrece los beneficios que la empresa establece en la etiqueta, y los beneficios que estos generan al utilizarse en campo por parte de los agricultores. Los estudios se realizan en condiciones de campo o invernadero, bajo criterios científicos y estadísticos, por lo que la Secretaría al revisar la información avalada por un investigador de un centro de investigación, emite un Dictamen Técnico, el cual, es un requisito indispensable para que posteriormente COFEPRIS otorgue el Registro Sanitario para su comercialización.

Los Dictámenes Técnicos de Efectividad Biológica, garantizan que en el mercado no se comercialicen productos “milagro”, que no cumplen con las especificaciones plasmadas en la etiqueta, o que pueden llegar a ocasionar fitotoxicidad o nulo efecto, impactando de forma negativa en la producción y economía del productor agrícola.

Es importante mencionar, que la efectividad biológica, no tiene relación con otras certificaciones o reconocimientos como el “Organic Materials Review Institute (OMRI)”; OMRI que solo garantiza que el producto no posea sustancias prohibidas para ser considerado para su uso en agricultura orgánica, pero no garantiza que realmente ejerza la función y efectividad biológica plasmada en la etiqueta. Diversos agricultores en foros orgánicos organizados por SENASICA, se han quejado que productos con registro OMRI y carecen del registro COFEPRIS, no funcionan al momento de aplicarlos.

Es importante mencionar que el trámite para obtener el Dictamen Técnico de Efectividad Biológica, en la Secretaría de Agricultura es totalmente gratuito y en promedio, a partir de la designación de cultivo, tiene una duración de 46 días hábiles aproximadamente dos meses y medio, una vez que el interesado cuenta con el Dictamen Técnico de Efectividad biológica (Fertilizante Orgánico, Órgano-Mineral, Inoculante, Regulador de Crecimiento (Tipo 1, 2 y 3), Mejorador de Suelo Orgánico y Humectante), está en condiciones de continuar la Gestión ante la COFEPRIS, para obtener el Registro Sanitario y pueda comercializarse a al interior y exterior del país.

4. SIMPOSIO: VIRUS Y FITOPLASMAS EN CULTIVOS

4.1. PLANT VIRUS IN AGRO AND NATURAL ECOSYSTEMS IN MEXICO

[virus de plantas en agro y ecosistemas naturales en México]

Jesús Méndez Lozano*, Edgar Antonio Rodríguez Negrete, Enrique Alejandro Guevara, Roque Sanchez Ángulo, Angela Paulina Árce Leal and Norma Elena Leyva López.
Instituto Politécnico Nacional, CIIDIR Unidad Sinaloa. Departamento de Biotecnología Agrícola,
Guasave, Sinaloa; México. *jmendezl@ipn.mx

Introduction. Plant viruses present a serious threat to global horticultural production, especially considering climate change. It is important to characterize naturally existing viruses since viral genetic diversity in non-cultivated plants could lead to future disease epidemics in crops. Studies towards the understanding of the existing genetic diversity of plant viruses occurring in the agroecological ecosystems and the relationship with their corresponding vectors will contribute significantly to humankind's preparation to adapt to climate change. A large number of plant DNA and RNA viruses using high-throughput sequencing (HTS) to deep into the virome has improved our comprehension of the virus diversity in the world. Nonetheless, the identification of putative new virus sequences in plants raises questions on the real biological significance of those findings, and the importance of additional biological data to confirm the relevance of HTS for virus discovery.

Objective. To determine viral diversity in agro and natural ecosystems in Mexico.

Methodology. Molecular detection, genome cloning, virus infectious clones construction, and new generation sequence technology (Illumina, and PacBio) have been employed to determine viral diversity from Mexico. Additionally, Gene Gun (biolistic), agrobacterium and sap transmission were

used for virus infection in *Nicotiana benthamiana*, *Solanum lycopersicum*, *Capsicum annum* and cucurbits plants.

Results. Our findings revealed that viruses are present as a great and complex diversity and highlight the importance of genomics approaches to discover unpredicted novel viruses or mutation and recombination events originating from more pathogenic variants of the existent viral population. Nonetheless, awareness of the genetic diversity of those viruses in the context of agriculture is not enough, those findings need to be enhanced by the analysis of natural biological meaning. This work will present our research addressing the viral genome population (virome) in agroecological ecosystems, the discovery of new viruses, their biological properties, the potential risk for agricultural crops, and new technology to design viral control strategies.

Literatura citada. Barba, M., Czosnek, H., and Hadidi, A. (2014). Historical perspective, development and applications of next-generation sequencing in plant virology. *Viruses* 6, 106–136. doi:10.3390/v6010106. Elena, S. F., Fraile, A., and García-Arenal, F. (2014). "Evolution and emergence of plant viruses," in *Advances in Virus Research* doi:10.1016/B978-0-12-800098-4.00003-9. Rodríguez-Negrete, E. A., Morales-Aguilar, J. J., Domínguez-Duran, G., Torres-Devora, G., Camacho-Beltrán, E., Leyva-López, N. E., *et al.* (2019). High-Throughput Sequencing Reveals Differential Begomovirus

Species Diversity in Non-Cultivated Plants in Northern-Pacific Mexico. *Viruses* 11, 594. doi:10.3390/v11070594. Guevara-Rivera, E.A., Rodríguez-Negrete E.A., Aréchiga-Carvajal E.T., Leyva-López N. E., and Jesús Méndez-Lozano. From

metagenomics to the discovery of new viral species: Gallium leaf distortion virus, a monopartite begomovirus endemic of Mexico. 2022. *Frontiers in Microbiology- Virology*. doi: 10.3389/fmicb.2022.843035. ISSN 1664-302X

4.2. CRIOTERAPIA Y ÁCIDO SALICÍLICO PARA LA OBTENCIÓN DE PLANTAS LIBRE DE VIRUS

[Cryotherapy and salicylic acid for getting virus free plants]

Humberto Antonio López-Delgado¹, Diana Rocío Ruiz-Sáenz¹, Diana Daniela Ayala-Hernández¹, Takao Niino^{2,3}, Esmeralda J. Cruz-Gutiérrez².

¹Programa Nacional de Papa, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales Agropecuarias y Pecuarias, Metepec, Edo Méx., México. ²Centro Nacional de Recursos Genéticos, INIFAP, Tepatitlán de Morelos, Jalisco, México. ³Gene Research Center, University of Tsukuba, Tsukuba, Ibaraki, Japan. lopez.humberto@inifap.gob.mx

El cultivo de meristemas en combinación con termo, químico o crioterapia es una técnica común para obtener plantas libres de virus. El virus de la papa S (PVS) es uno de los más difíciles de eliminar por termoterapia debido a su punto de desactivación térmica. Pretratamientos con ácido salicílico (AS) han probado con éxito inducir tolerancia a estrés por termoterapia y a métodos criogénicos con fines de preservación de germoplasma, reduciendo el daño oxidativo aunado a un mayor porcentaje de plantas libres de virus mediante termoterapia. En la presente investigación, se estudió el efecto de AS como molécula señal, inductora de tolerancia al daño oxidativo debido a crioterapia en plantas de *Solanum tuberosum* infectadas con PVS y su efecto en la limpieza del virus. Previamente se realizó una selección de genotipos vulnerables al protocolo criogénico y su respuesta a dos concentraciones de AS, eligiéndose aquellos clones que no presentaron sobrevivencia al protocolo criogénico.

Dos clones de papa fueron cultivados *in vitro* en presencia de AS (0, 10^{-5} , and 10^{-6} M) por 28 días, se evaluó el desarrollo de las plantas y posteriormente se expusieron a crioterapia por el método de D-crioplaca, posteriormente se realizó la evaluación del desarrollo de las plantas y se probó la presencia de virus. Las plantas tratadas con AS aumentaron las variables evaluadas antes de la crioterapia, significativamente mayor porcentaje de sobrevivencia, longitud de raíz, altura y peso de planta. Después de la crioterapia, se obtuvo un 66.6–100% de plantas libres de virus en comparación con el testigo, que mostró una supervivencia del 0%. La combinación de crioterapia con una previa incubación en AS mejoró la supervivencia y, por lo tanto, facilitó la obtención de un mayor porcentaje de plantas libres del virus PVS. AS indujo efecto fisiológico a largo plazo de tolerancia al estrés por criogenia y en la limpieza de virus.

4.3. PLANT ENDORNAVIRUSES: PARASITES OR MUTUALISTS?

[Endornavirus en plantas: parásitos o mutualistas]

Rodrigo A. Valverde

Professor Emeritus, Plant Virology. Dept. of Plant Pathology and Crop Physiology
Louisiana State University Agricultural Center, Baton Rouge, LA 70803 USA

Based on the type of relationship with the host, plant viruses can be grouped as acute or persistent. Acute viruses cause symptoms and plant diseases. In contrast, persistent viruses do not appear to affect the phenotype of the host. The viral family *Endornaviridae* includes persistent viruses that infect plants without causing visible symptoms. Infections by endornaviruses have been reported in many economically important crops, such as avocado, barley, common bean, melon, pepper, and rice. However, little is known about the effect they have on their plant hosts. It is possible that these viruses are in a mutualistic relationship with the host and may provide tolerance to unknown biotic or abiotic factors. We have conducted comparative studies between endornavirus-infected and endornavirus-free common bean (*Phaseolus vulgaris*) and bell pepper (*Capsicum annuum*) plants. We evaluated physiological characteristics of eight lines of common bean, four of which were endornavirus-infected and four of which were endornavirus-free. Plants of all eight lines were morphologically similar and did not show statistically significant differences in plant height, wet weight, number of seeds per pod, and anthocyanin content. However, the endornavirus-infected lines had higher values of seed germination, radicle length,

and weight of 100 seeds. We developed two near-isogenic lines of the bell pepper cultivar Marengo, one infected with bell pepper endornavirus (BPEV) and the other endornavirus-free. The BPEV-negative line consistently yielded higher percentage of fruit weight and total dry matter than the BPEV-positive line; however, only the fruit weight value was statistically significant. Preliminary studies on differential gene expression between endornavirus-infected and endornavirus-free common bean lines were conducted. RNAseq data revealed that a total of 132 genes were differentially expressed. In the endornavirus-infected line 84 genes were down-regulated while 48 genes up-regulated. Gene ontology distribution showed that redox processes were the main processes associated with endornavirus infection. It is worth mentioning that among the list of differentially expressed genes, one gene, *Myzus persicae-induced lipase 1* (MPL1), was up-regulated 8-fold in the endornavirus-infected line. In Arabidopsis, this gene has been shown to play an important role in defense against the green peach aphid (*Myzus persicae*). The results of these investigations suggest that the type of symbiotic relationship between endornaviruses and the host depends on the character being evaluated and can range from mutualistic to parasitic.

4.4. EL AMARILLAMIENTO LETAL DEL COCOTERO Y SU MANEJO

[Coconut lethal yellowing disease and its management]

Oropeza C¹, Narvaez M¹, Sáenz L¹, Cordova I¹, Ortiz CF², Ramos E³

¹Centro de Investigación Científica de Yucatán, Mérida, Yucatán. ²Colegio de Postgraduados, Cárdenas, Tabasco. ³Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Huimanguillo, Tabasco.

El cocotero (*Cocos nucifera*) es una palma cuyos productos (agua, aceite virgen, etc.) están teniendo un gran auge comercial en todos los países productores, incluyendo a México. Desafortunadamente, la producción de esta arecácea ha sido afectada por diferentes problemas, uno de los más importantes es la enfermedad del amarillamiento letal (ALC). En esta ponencia se presenta una revisión de los estudios realizados para poder enfrentar al ALC, para lo cual se ha seguido una estrategia con tres objetivos: entender mejor al ALC, identificar germoplasma de cocotero resistente al ALC y desarrollar protocolos para la propagación in vitro de los genotipos seleccionados. Estos estudios han involucrado diferentes disciplinas como bioquímica, fisiología, biología molecular, epidemiología y biotecnología entre otras, así como técnicas y metodologías afines con estas disciplinas. Con respecto a entender mejor al ALC, se ha identificado la presencia de fitoplasmas del grupo 16SrIV en plantas con síntomas de más de 40 especies de arecáceas y también se ha reportado en menos de 10 especies no arecáceas en las que no se presentan síntomas o la infección no les es letal. Se conoce a una especie de homóptero, *Haplaxius crudus*, como vector de los fitoplasmas, pero también se conocen otros insectos en los que se han detectado

fitoplasmas del grupo 16SrIV. Adicionalmente, se han reportado otros estudios epidemiológicos, así como sobre cambios bioquímicos y fisiológicos en plantas enfermas que nos permiten conocer mejor al modo de acción de los fitoplasmas del ALC. En relación a resistencia al ALC, se han identificado en Jamaica y México diferentes genotipos de cocotero resistentes, que ya se están usando para fines de replantación. En cuanto a propagación in vitro, ya se cuenta con protocolos para la propagación eficiente de genotipos seleccionados de cocotero. Los avances mencionados permiten actualmente un manejo adecuado del ALC en Jamaica, México y otros países.

Literatura citada. Gur *et al.* 2016. Coconut lethal yellowing diseases: a phytoplasma threat of global economic and social significance. <https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01521>. Oropeza *et al.* 2020. Dealing with Lethal Yellowing and Related Diseases in Coconut https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-44988-9_9. Prades *et al.* 2016. New era for the coconut sector. What prospects for research? DOI:10.1051/OCL/2016048. Sáenz-Carbonell L, Quang Nguyen T, López-Villalobos A, Oropeza C. 2020. Micropropagation for Worldwide Replanting Growing Needs. https://link.springer.com/chapter/10.1007/978-3-030-44988-9_11.