

ANALISIS DE LOS EFECTOS EN EL EMPLEO DE MICROORGANISMOS PARA EL
TRATAMIENTO DEL TIZÓN DE LA HOJA EN CULTIVOS DE ZANAHORIA (*Daucus
carota*) PRODUCIDO POR *Alternaria dauci*.

DIEGO ANDRÉS BARRERA DELGADO

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSE DE CÚCUTA

2023

ANALISIS DE LOS EFECTOS EN EL EMPLEO DE MICROORGANISMOS PARA EL
TRATAMIENTO DEL TIZÓN DE LA HOJA EN CULTIVOS DE ZANAHORIA (*Daucus
carota*) PRODUCIDO POR *Alternaria dauci*.

DIEGO ANDRÉS BARRERA DELGADO

Trabajo de grado presentado como requisito para optar al título de:

Ingeniero Biotecnológico

Director:

Msc. EDWIN JAVIER DUARTE GÓMEZ

UNIVERSIDAD FRANCISCO DE PAULA SANTANDER
FACULTAD CIENCIAS AGRARIAS Y DEL AMBIENTE
PLAN DE ESTUDIOS DE INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA
SAN JOSE DE CÚCUTA

2023



ACTA DE SUSTENTACION DE UN TRABAJO DE GRADO

FECHA: 06 marzo de 2023

HORA: 03:00 P.M.

LUGAR: UFPS - CUCUTA, NORTE DE SANTANDER – SC 302

PLAN DE ESTUDIOS: INGENIERÍA BIOTECNOLÓGICA

TITULO: “ANÁLISIS DE LOS EFECTOS EN EL EMPLEO DE MICROORGANISMOS PARA EL TRATAMIENTO DEL TIZÓN DE LA HOJA EN CULTIVOS DE ZANAHORIA (*Daucus carota*) PRODUCIDO POR *Alternaria dauci*.”

MODALIDAD: MONOGRAFIA

JURADO
DANNY WALDIR IBARRA VEGA
ADRIANA ZULAY ARGUELLO NAVARRO
LILIAN TRINIDAD RAMIREZ CAICEDO

ENTIDAD: UFPS

DIRECTOR: EDWIN JAVIER DUARTE GÓMEZ

| NOMBRE DE LOS ESTUDIANTE | CODIGO | CALIFICACION |
|--------------------------|---------|--------------|
| Andrés Barrera Delgado | 1611469 | 4.0 |

OBSERVACIONES: APROBADO.

FIRMA DE LOS JURADOS

Danny Ibarra V.

Adriana Zulay Arguello Navarro

Lilian Trinidad Ramirez Caicedo

Danny Waldir Ibarra Vega

Adriana Zulay Arguello Navarro

Lilian Trinidad Ramirez Caicedo

Vo. Bo Coordinador Comité Curricular

Edwin Javier Duarte Gómez

Agradecimientos

Me gustaría expresar mis más sinceros agradecimientos, a todas las personas involucradas en el desarrollo de este proyecto, así como también a la Universidad Francisco de Paula Santander, por permitirme acceder a sus diferentes fuentes de información, tal como lo es la Biblioteca Eduardo Cote Lamus y sus bases de datos.

En primer lugar, me gustaría expresar mi más sincero agradecimiento a mi principal asesor y director de proyecto el MSc. Edwin Javier Duarte Gómez, por brindarme la oportunidad de trabajar con él, de ser no tan solo un apoyo académico sino un también ser como un compañero, por mostrarse abierto a nuevas y diferentes ideas, su disponibilidad para discutir asuntos científicos y personales, por alentarme y motivarme durante mi carrera universitaria.

Expreso mi agradecimiento a los señores del comité curricular, al programa de Ingeniería Biotecnológica y mis evaluadores por permitirme seguir adelante con el presente proyecto, por hacerme comentarios constructivos, por mostrarme sus puntos de vista con respecto a temas puntuales dentro del proyecto.

Por último, pero no menos importante, quiero agradecer a mi madre y a mi familia por el apoyo durante el desarrollo del proyecto, también me gustaría agradecer a mis compañeros y profesores que me acompañaron en el transcurso de la carrera profesional, con sus enseñanzas y consejos.

Contenido

| | pág. |
|--|-------------|
| Introducción | 12 |
| 1. Problema | 14 |
| 1.1 Titulo | 14 |
| 1.2 Objetivos | 14 |
| 1.2.1 Objetivo general | 14 |
| 1.2.2 Objetivos específicos | 14 |
| 2. Marco Referencial | 15 |
| 2.1 Antecedentes | 15 |
| 3. Diseño Metodológico | 16 |
| 3.1 Tipo de Investigación | 16 |
| 3.2 Recolección de Información | 16 |
| 3.3 Clasificación de la Información | 17 |
| 3.4 Información Acerca de los Microorganismos Endófitos | 18 |
| 3.5 Planteamiento de Tratamientos | 18 |
| 4. Resultados | 20 |
| 4.1 Factores que Influyen el Rendimiento de Tratamientos | 31 |
| 4.1.1 Temperatura | 32 |
| 4.1.2 PH | 32 |
| 4.1.3 Humedad | 32 |
| 4.1.4 Clima | 32 |
| 4.2 Estado de Arte | 32 |
| 4.2.1 Internacionales | 33 |

| | |
|--|----|
| 4.2.2 Nacionales | 41 |
| 4.2.2.1 Importancia en Norte de Santander | 46 |
| 4.3 Metodología Propuesta | 47 |
| 4.3.1 Toma de muestras | 47 |
| 4.3.2 Aislamiento de microorganismos | 47 |
| 4.3.3 Identificación de microorganismos | 48 |
| 4.3.4 Planteamiento de tratamientos | 48 |
| 4.3.4.1 Tratamiento en semillas | 49 |
| 4.3.4.2 Tratamiento en el sustrato | 49 |
| 4.3.4.3 Tratamiento por aspersión | 49 |
| 4.3.4.4 Tratamiento de semillas y aspersión | 50 |
| 4.3.4.5 Tratamiento en el sustrato y aspersión | 50 |
| 5. Conclusiones | 51 |
| Referencias Bibliográficas | 53 |
| Anexos | 61 |

Lista de Tablas

| | pág. |
|--|-------------|
| Tabla 1. Revisión de antecedentes | 15 |
| Tabla 2. Producción de zanahoria en Norte de Santander durante el segundo semestre de 2022 | 46 |

Lista de Figuras

| | pág. |
|---|-------------|
| Figura 1. Búsqueda de información acerca del tizón foliar en la zanahoria | 17 |
| Figura 2. Información acerca de microorganismos endófitos | 18 |
| Figura 3. Tratamientos planteados para combatir el tizón foliar de la zanahoria | 19 |
| Figura 4. Cultivo de zanahoria en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander | 21 |
| Figura 5. Cultivo de zanahoria en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander | 44 |
| Figura 6. Plantación de semillas de zanahoria en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander | 44 |
| Figura 7. Cultivo de zanahoria (3-4 semanas) en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander | 45 |
| Figura 8. Cultivo de zanahoria (listo para cosechar) en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander | 45 |
| Figura 9. Cosecha de zanahoria en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander | 46 |

Lista de Anexos

| | pág. |
|--|-------------|
| Anexo 1. Respuesta de la secretaria de agricultura de Norte de Santander | 62 |

Resumen

La presente investigación plantea, estimular el sistema inmunitario innato de una planta, para aumentar la resistencia sistémica inducida (ISR) contra los patógenos, se plantea por otra parte “matar” de hambre o superar a los patógenos, limitando disponibilidad de nutrientes empleando microorganismos antagonistas, de hecho estas propuestas se pueden ajustar al empleo de microorganismos endófitos, para mitigar los efectos de la infección con el hongo *Alternaria dauci*. Santoyo, Moreno afirma que, se han encontrado endófitos colonizando todas las especies de plantas estudiadas hasta la fecha, incluidos cultivos de campo, cultivos hortícolas, árboles perennes y plantas medicinales, asegura que, los endófitos forman una relación mutualista con las plantas ayudándolas a tolerar el estrés biótico y abiótico y, a cambio, las plantas brindan a los endófitos protección y un hábitat adecuado para colonizar y reproducirse, y se ha teorizado que las plantas y sus simbioses microbianos evolucionaron uno al lado del otro para beneficio mutuo, y deberían considerarse como un "superorganismo" u "holobionte". En algunos los estudios revisados, dicen que las semillas y las raíces pivotantes de la zanahoria (*Daucus carota*), están colonizadas por un conjunto abundante y diverso de taxones microbianos endófitos; se sugiere que muchos de estos endófitos, favorecen el crecimiento y desarrollo de la planta, pudiendo suprimir la infección por un patógeno clave de la zanahoria, como lo es *Alternaria dauci*, demostrando su potencial para mantener la salud y la productividad de la zanahoria. Dar a conocer los diferentes puntos de vista, ideas y conceptos tanto de anteriores autores como propios, plasmándolos en un solo documento, representa una gran ventaja, dado a que, se hace más fácil el estudio de cada uno de ellos, así pudiendo evaluar los pro y contras de cada, buscando optimizar dichos métodos o emplearlos como guía, para de esta manera plantear nuevos y mejores tratamientos.

Introducción

El buen manejo de las enfermedades foliares, es un proceso muy importante el cual llega a influir en el rendimiento del cultivo, así como también en la calidad de este cuando sea cosechado, el agricultor es el primer ecologista que tenemos en nuestros campos, por lo tanto, es de suma importancia que se tengan buenas prácticas en los cultivos. El tratamiento de enfermedades con agentes biológicos es un tema interesante, el cual se puede abordar de muchas formas, pero principalmente como una alternativa más ecológica de tratamiento en contraste con los agroquímicos comunes, debido a esto se consideró que es un tema del cual vale la pena profundizar, en las diferentes metodologías que pueden emplearse para el desarrollo de tratamientos más eficaces para la prevención y/o recuperación de plantas de zanahoria (*Daucus carota*), que estén infectadas con la fitopatología de El tizón de la hoja por *Alternaria* (ALB), y de la misma manera, prevenir futuras infecciones.

El tizón de la zanahoria por *Alternaria*, es una enfermedad devastadora, ya que esta causa diminutas manchas de color marrón o negro en las hojas de la planta, lesiones comúnmente en los márgenes y puntas de los folíolos, rodeadas por un halo amarillo, además de la generación de podredumbre en las hojas; esta infección se propaga rápidamente y si no se aplican controles, en un corto periodo puede producir epifitosis en uno o más cultivos (Krishna, 2018; Zafar, 2018). El agente causal (*Alternaria dauci*) es definido por Abdelrazek (2018), como un patógeno vegetal, incluido en el grupo de especies porri de *Alternaria* y se caracteriza por tener un conidio grande y un pico filiforme largo y delgado, es altamente contagioso, el micelio y esporas se pueden propagar a través de las salpicaduras de lluvia, las herramientas de cultivo o los suelos contaminados, además tiene la capacidad de contagiar otros cultivos como la chirivía (*Pastinaca sativa*), el apio (*Apium graveolens*) y el perejil silvestre (*Petroselinum crispum*), lo que dificulta

su control; la infección con este patógeno, es más común durante el otoño y el invierno, o bien cuando la humedad del cultivo supera el 60%, la temperatura se encuentra entre 20 - 25°C, y cuando el pH del suelo se encuentra en el rango de 6 - 6.5. Debido a que este es un tema en el que no se ha explorado, ni profundizado lo suficiente, cabe la posibilidad que allí pueda haber muchas y mejores alternativas a los productos agroquímicos convencionales.

La importancia de este estudio radica en proporcionar información de diferentes tesis, artículos y proyectos, dirigidos a el tratamiento de tizón foliar por *Alternaria*, en los cultivos de zanahoria (*Daucus carota*), además de plantear una metodología de prevención y tratamiento de la infección con *Alternaria dauci*. Dicha metodología se logró estructurar, tomando en consideración los avances realizados en proyectos anteriores, dichos proyectos se extrajeron de las diferentes bases de datos y revistas científicas, a continuación se examinaron con cuidado, para determinar si estos proporcionan información relevante, que pueda ser tomada en cuenta a la hora de la estructuración de dicho tratamiento, además de cómo se mencionó anteriormente, realizar una compilación de documentos, la cual pueda ser utilizada como referencia y fuente de información en futuras investigaciones y proyectos.

1. Problema

1.1 Título

ANÁLISIS DE LOS EFECTOS EN EL EMPLEO DE MICROORGANISMOS PARA EL TRATAMIENTO DEL TIZÓN DE LA HOJA EN CULTIVOS DE ZANAHORIA (*Daucus carota*) PRODUCIDO POR *Alternaria dauci*.

1.2 Objetivos

1.2.1 Objetivo general. Proponer un tratamiento biológico empleando microorganismos endófitos, en el tratamiento del Tizón de la hoja o Tizón foliar, causado por *Alternaria dauci* en el cultivo de zanahoria.

1.2.2 Objetivos específicos. Definir cuáles son los factores que podrían afectar el rendimiento del tratamiento del tizón de la hoja en el cultivo de zanahoria.

Evaluar por medio de un estado del arte el tratamiento del tizón foliar provocado por *Alternaria dauci* en el cultivo de zanahoria con la ayuda de endófitos.

Establecer una nueva metodología de tratamiento con los lineamientos para lograr la mayor efectividad en el tratamiento del tizón de la hoja en la zanahoria empleando microorganismos endófitos.

2. Marco Referencial

2.1 Antecedentes

Tabla 1. Revisión de antecedentes

| Autor. | Título del proyecto. | Conceptos tomados. |
|--|---|--|
| Abdelrazek, Simon, Colley, Mengiste & Hoagland (2020a) | Crop management system and carrot genotype affect endophyte composition and <i>Alternaria dauci</i> suppression. | Aislamiento e identificación de microorganismos. |
| Álvarez, Santoyo & Rocha (2020) | <i>Pseudomonas fluorescens</i> : Mecanismos y aplicaciones en la agricultura sustentable. Revista Latinoamericana De Recursos Naturales | Potencial de <i>P. fluorescens</i> . |
| Álvarez, Blandón, Ceballos, Mejía & Buriticá (2017). | Aislamiento de Microorganismos en diferentes ambientes (Suelo, Agua y Aire). | Aislamiento de <i>P. fluorescens</i> |
| Hammamia, Hsouna, Hamdi, Gdoura & Triki (2013) | Isolation and characterization of rhizosphere bacteria for the biocontrol of the damping-off disease of tomatoes in Tunisia. | Desinfección de muestras. |

3. Diseño Metodológico

3.1 Tipo de Investigación

El empleo de microorganismos endófitos y de Rizobacterias representa una excelente alternativa, para el desarrollo de un tratamiento contra el tizón foliar en la zanahoria (*Daucus carota*), causada por *Alternaria dauci*, en consecuencia, en esta metodología se realizó un estudio de las condiciones necesarias a tener en cuenta a la hora de aplicar el tratamiento, de esta forma sacar el máximo rendimiento, mejorando considerablemente los resultados.

3.2 Recolección de Información

La información recolectada comprende investigaciones tales como artículos, proyectos, tesis entre otros, los cuales se extrajeron de las bases de datos de Google académico, Scielo, Scimedirect, entre otras revistas científicas de renombre, cabe aclarar que las investigaciones tomadas en cuenta, son aquellas cuya fecha de publicación esté comprendida entre los años 2017 y 2022 (figura 1).

Cualquier momento
Desde 2023
Desde 2022
Desde 2019
Intervalo específico...

2017 — 2022

Buscar

Ordenar por relevancia
Ordenar por fecha

Cualquier idioma
Buscar solo páginas en español

Cualquier tipo
Artículos de revisión

Incluir patentes
 Incluir citas
 Crear alerta

Detection of fungicidal activities against **Alternaria dauci** causing **Alternaria leaf spot in carrot** and monitoring for the fungicide resistance [PDF] koreascience.or.kr
J Do, J Min, Y Kim, Y Park, HT Kim - Research in Plant Disease, 2020 - koreascience.or.kr
... on the mycelial growth of **Alternaria dauci** KACC42997 causing **Alternaria leaf blight of carrot**.
Showing the ... Screening of seed treatment agents against leaf blight and black root rot for ...
☆ Guardar ⓘ Citar Citado por 3 Artículos relacionados Las 7 versiones ⓘ

[HTML] Link between **carrot leaf** secondary metabolites and resistance to **Alternaria dauci** [HTML] nature.com
C Koutouan, VL Clerc, R Baltenweck, P Claudel... - Scientific reports, 2018 - nature.com
... **Alternaria leaf blight** (ALB), the most damaging **foliar disease** affecting this crop 19, has been identified, all existing resistant cultivars are only partially resistant and fungicide treatments ...
☆ Guardar ⓘ Citar Citado por 17 Artículos relacionados Las 17 versiones

[PDF] Effect of different culture media on growth and sporulation of **Alternaria dauci** causing **carrot leaf blight** [PDF] phytojournal.com
VP Krishna, AP Suryawanshi, S Prajapati... - Journal of ..., 2018 - phytojournal.com
... **Alternaria leaf blight** is most common and devastating **disease** in **carrot** plant caused by deuteromycotina fungi, **Alternaria dauci**. A total of 11 solid culture media were tested to assess ...
☆ Guardar ⓘ Citar Citado por 3 Artículos relacionados ⓘ

[PDF] Effect of various fungicides in the control of **Alternaria Leaf Blight in carrot** crops [PDF] biologico.sp.gov.br
JG Tofoli, RJ Domingues, MPL Tortolo - Biol. São Paulo, 2019 - biologico.sp.gov.br
... **disease** in **carrot** crops in Brazil and worldwide. To evaluate the effectiveness of different fungicides in controlling **Alternaria leaf blight**, we ... was significantly reduced in all treatments ...
☆ Guardar ⓘ Citar Citado por 2 Artículos relacionados Las 6 versiones ⓘ

Carrot disease management
V Le Clerc, M Briard - Carrots and Related Apiaceae Crops, 2020 - books.google.com
-off **foliar blight** and umbel **blight** similar to **Alternaria leaf blight** **blight** and Santoria leaf

Figura 1. Búsqueda de información acerca del tizón foliar en la zanahoria

3.3 Clasificación de la Información

Una vez recolectada la información, se hizo un tamizaje de información, donde se tomaron aquellas investigaciones más relevantes, es decir aquellas que se compaginaran o se adaptarían de mejor manera al tema central del proyecto; la clasificación de estos documentos se realizó tomando en cuenta palabras clave tales como: microorganismos endófitos, *Alternaria dauci*, tratamiento, entre otras, así como su fecha de publicación, en este caso se seleccionaron trabajos publicados entre los años 2017 y 2022; los potenciales archivos se leyeron y estudiaron a razón de determinar si tenían relevancia y se ajustaban al tema expuesto; seleccionados los documentos, se toma la información relevante, por supuesto dando créditos a su respectivo autor, además de reestructurar la idea sin cambiar su sentido.

3.4 Información Acerca de los Microorganismos Endófitos

A partir de la información en las bases de datos, se seleccionaron aquellos artículos y trabajos, dirigidos hacia los microorganismos endófitos, es decir aquellos trabajos con información relevante acerca de este tema, como morfología, las condiciones idóneas para su crecimiento y reproducción, ya que con esta información se pueden plantear diferentes puntos, y de esta manera se abren diferentes rutas de acción, para al final determinar cuál opción es la más idónea para obtener el máximo de provecho estos microorganismos, sin que se afecten demasiado, los demás factores del microcosmos.

Cualquier momento
Desde 2023
Desde 2022
Desde 2019
Intervalo específico...

2017 — 2022
Buscar

Ordenar por relevancia
Ordenar por fecha

Cualquier idioma
Buscar solo páginas en español

Cualquier tipo
Artículos de revisión

Incluir patentes
 Incluir citas
 Crear alerta

Endophytic microorganisms in fundamental research and agriculture
EN Vasileva, GA Akhmetova, VA Zhukov... - Ecological ..., 2019 - journals.eco-vector.com
... -endophytic symbiosis as biodiversity of legume and non-legume endophytes, ecology of endophytes and some ways which are commonly in use by studying these microorganisms. ...
☆ Guardar 99 Citar Citado por 17 Artículos relacionados Las 3 versiones 🔗

[PDF] eco-vector.com

Endophytic microorganisms for biocontrol of the phytopathogenic fungus *Botrytis cinerea*
HJ Bolívar-Arillo, C Garrido, IG Collado - Phytochemistry Reviews, 2020 - Springer
... There is therefore a need to search for new microorganisms ... and species of endophytic microorganisms which have been ... isolated from endophytic microorganisms and characterized ...
☆ Guardar 99 Citar Citado por 46 Artículos relacionados Las 6 versiones

[PDF] unisimon.edu.co

[HTML] Harnessing the phytotherapeutic treasure troves of the ancient medicinal plant *Azadirachta indica* (Neem) and associated endophytic microorganisms
RN Khanwar, VK Sharma, A Mishra, J Kumar ... - Planta ..., 2020 - thieme-connect.com
... microorganisms, especially a class of mutualists called endophytic microorganisms (or endophytes). ... " compounds, have been reported from endophytes harbored in the neem trees in ...
☆ Guardar 99 Citar Citado por 30 Artículos relacionados Las 6 versiones

[HTML] thieme-connect.com

Entry, colonization, and distribution of endophytic microorganisms in plants
A Kumar, S Drobny, VK Singh, SK Singh, JF White - Microbial endophytes, 2020 - Elsevier
... , transmission, and multiplication of endophytic populations within the host plant. In ... endophytic behavior and functions that will aid in the advancement and application of endophytes ...
☆ Guardar 99 Citar Citado por 25 Artículos relacionados Las 3 versiones

Figura 2. Información acerca de microorganismos endófitos

3.5 Planteamiento de Tratamientos

En el planteamiento de los tratamientos, se realizó una investigación para conocer algunos ya planteados (figura 3), para definir su viabilidad, o bien si se puede mejorar el planteamiento ya establecido.

Cualquier momento
Desde 2023
Desde 2022
Desde 2019
Intervalo específico...

2017 — 2022

Buscar

Ordenar por relevancia
Ordenar por fecha

Cualquier idioma
Buscar solo páginas en español

Cualquier tipo
Artículos de revisión

Incluir patentes
 Incluir citas
 Crear alerta

[PDF] Effect of different culture media on growth and sporulation of *Alternaria dauci* causing **carrot leaf blight**
VP Krishna, AP Suryawanshi, S Prajapati... - Journal of ..., 2018 - phytojournal.com
... from **leaf blight** infected **carrot leaves** is needed to be developed for suitable management strategies of the disease and may help in taxonomical and physiological study of the fungus. ...
☆ Guardar 📄 Citar Citado por 3 Artículos relacionados 🔍

[HTML] Link between **carrot leaf** secondary metabolites and resistance to *Alternaria dauci*
C Koutouan, VL Clerc, R Baltenweck, P Claudel... - Scientific reports, 2018 - nature.com
... **Alternaria leaf blight** (ALB), the most damaging foliar disease affecting this crop 19, has been identified, all existing resistant cultivars are only partially resistant and fungicide **treatments** ...
☆ Guardar 📄 Citar Citado por 17 Artículos relacionados Las 17 versiones

[PDF] Screening of different **carrot** varieties against *Alternaria leaf blight* and its chemical management.
MM Zafar, M Abrar, M Umar, MA Bahoo, N Ahmad - Researcher, 2017 - researchgate.net
... **Carrot** plants **treated** with Cuprofix dispress showed 11.2% incidence. Kocide **treatment** showed 13.53% disease incidence and **treatment** of champ ... **Carrot leaf blight** diseases and their ...
☆ Guardar 📄 Citar Citado por 1 Artículos relacionados 🔍

[PDF] Effect of various fungicides in the control of *Alternaria Leaf Blight* in **carrot** crops
JG Tófoli, RJ Domingues, MPL Tortolo - Biol. São Paulo, 2019 - biologico.sp.gov.br
... in **carrot** crops in Brazil and worldwide. To evaluate the effectiveness of different fungicides in controlling *Alternaria leaf blight*, we ... **leaf blight** was significantly reduced in all **treatments** ...
☆ Guardar 📄 Citar Citado por 2 Artículos relacionados Las 6 versiones 🔍

[PDF] phytojournal.com

[HTML] nature.com

[PDF] researchgate.net

[PDF] biologico.sp.gov.br

Figura 3. Tratamientos planteados para combatir el tizón foliar de la zanahoria

4. Resultados

La zanahoria (*Daucus carota*) pertenece a la familia Apiaceae. Es originaria de Asia Central, se extendió a los climas templados de Europa, y luego a los climas tropicales; Es una planta herbácea, que tiene dos etapas de desarrollo y requiere de dos años para completar su ciclo de vida, aunque comercialmente solo se cultiva en su etapa de crecimiento vegetativo, es decir su primera etapa de desarrollo; El cultivo debe realizarse en suelos profundos y sueltos, arcillo-arenosos o francos, con buen drenaje, con una concentración de materia orgánica mayor al 3,5 %, y con un pH entre los 5,8 y 7 (figura 4); a la hora de comenzar con la siembra, se debe arar la tierra cerca de 25 cm de profundidad y posteriormente realizar una segunda labranza para reducir el tamaño de los terrones y nivelar la superficie del suelo, seguidamente se debe crear una “cama” de tierra fina donde se deposita la semilla y esta última pueda germinar (Galindo Pacheco. 2020).

El tizón de la hoja por *Alternaria* (ALB) es una de las principales enfermedades, que afecta los cultivos de zanahoria (*Daucus carota*) en todo el mundo, es más propenso a presentarse durante el otoño o invierno; se puede identificar la infección debido a la presencia pequeñas lesiones comúnmente en los márgenes y puntas de los folíolos de la planta, podredumbre en el tejido, manchas irregulares de una coloración oscura que varía desde un marrón a negro, o bien se puede observar un color “pardo” y pueden presentar halos concéntricos amarillentos además de reduce drásticamente el volumen foliar de la planta afectada (Töfoli, 2019).

Generalmente el microbioma vegetal incluye toda la comunidad de microbios que viven en la rizosfera, filosfera y endosfera de las plantas; algunos microbios asociados a las plantas llaman la atención ya que promueven el crecimiento de las plantas, mediante la secreción de fitohormonas, así como también brindan resistencia a los diferentes estreses ambientales, químicos y biológicos,

mediante la producción de diferentes sustancias como por ejemplo las enzimas (Ali & Charles, 2017).



Figura 4. Cultivo de zanahoria en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander

Para tener más claridad en el desarrollo de los resultados, definiremos algunas palabras claves que fueron tenidas en cuenta para la búsqueda de la información y que nos permitieron entender y analizar mejor la información consultada en las bases de datos:

Alternaria. Es un género dictiospórico grande y ubicuo que pertenece al filo Ascomycetes y al orden Hyphomycetes (Freire, Mussi, Mattoso, Henk, Mendes, Macedo et al., 2017), El género *Alternaria*, está ampliamente distribuido en los suelos alrededor del mundo, también se encuentran presentes en la materia orgánica, este género de hongos es conocido por su alta patogenicidad contra muchos cultivos de importancia económica en todo el mundo, se ha descrito una gran variedad de metabolitos diferentes; algunos de los metabolitos descritos son los

terpenoides, piranonas, quinonas, fenoles y algunos metabolitos que contienen Nitrógeno (Leyte, Richomme & Peña, 2021).

Alternaria dauci. Es un hongo *Dothideomycete*, está incluida en el grupo de especies porri de *Alternaria*; *Alternaria dauci* también ha sido clasificada como *formae specialis* de zanahorias, o *A. porri f. sp. Dauci* (Abdelrazek, 2018), y este es el agente causal del tizón de la hoja de zanahoria, la cual probablemente sea la patología más destructiva hacia los cultivos de zanahoria (Ahmad, L. 2019). Este hongo presenta cepas algodonosas con micelios septados de un color marrón a gris, también presentan conidióforos no ramificados y alargados, estos de un color café-oliva, con una longitud medida en 80 μm , aproximadamente y un ancho de 10 μm aproximadamente además puede sintetizar toxinas específicas y no específicas de la planta huésped, esto desempeña un papel crucial en cuanto a la gran patogenicidad de este microorganismo, *A. dauci* puede sintetizar dichas toxinas a partir de algunos metabolitos secundarios (Cruz, 2018; Courtial, Helesbeux, Oudart, Aligon, Bahut, Hamon et al. 2022).

Antagonista. Los microorganismos antagonistas (bacterias, levaduras y hongos) son aquellos que tienen la capacidad para inhibir el desarrollo de otros microorganismos de su comunidad (Feichtmayer, 2017), por lo tanto, pueden ser empleados como control biológico sobre diferentes patógenos de interés, existen tres formas de antagonismo; la antibiosis que consiste en la segregación de antibióticos, competencia interespecífica y el hiperparacitismo.

Biofertilizante. Los biofertilizantes son sustancias que contienen diversos microbios capaces de mejorar la absorción de nutrientes por las plantas colonizando la rizosfera y facilitando el acceso de los nutrientes a los pelos radiculares de las plantas (Dasgupta, Kumar, Miglani, Mishra, Panda & Bisht, 2021). Estos son una gran alternativa a los fertilizantes sintéticos ya que estos son

más amigables con el suelo de cultivo y de esta manera no alteran el balance existente en la rizosfera.

Biopesticida. Son productos utilizados en el control de plagas principalmente de la agricultura cuyo origen es procedente de algún organismo vivo, tienen un papel muy importante en el control integrado de plagas; en los últimos años están recibiendo mucha más atención ya que se espera que con la ayuda de estos se pueda reducir el uso extendido que tienen los pesticidas sintéticos, no se contempla que suplanten los pesticidas tradicionales, sino con el fin de rotar los pesticidas, de esta forma reduciendo las posibilidades de que las plagas y patógenos desarrollen una resistencia a estos productos.

Cultivo. El cultivo es la práctica de sembrar semillas en la tierra y realizar las labores necesarias para obtener frutos de las mismas.

Dothideomycetes. Es una de las clases de hongos más grande y diversa del grupo Ascomycota, comprende hongos endófitos, epífitas, sapróbes, patógenos tanto animales como vegetales, líquenes al asociarse con fotobiontes, también pueden emplearse como trampas de nematodos, incluso se han identificado como taxones que habitan rocas (Hongsanan, Hyde, Phookamsak, Wanasinghe, McKenzie, Sarma & Xie, 2020). En términos ecológicos pueden encontrarse en hábitats terrestres como acuáticos; son organismos saprófitos y descomponedores de material vegetal como lo son restos de troncos y hojas (Dong, Wang, Hyde, McKenzie, Raja, Tanaka et al. 2020).

Enfermedad. Se denomina enfermedad, a la alteración leve o grave del funcionamiento normal de un organismo, cuyo efecto negativo es consecuencia de una alteración estructural o funcional de alguna de sus partes debido a una causa interna o externa.

Fitopatógeno. Se denomina fitopatógeno a un organismo, en general microorganismo, que genera enfermedades en las plantas a través de disturbios en el metabolismo celular, al secretar enzimas, toxinas, fitorreguladores y otras sustancias y, además, absorbiendo nutrientes de la célula para su propio crecimiento.

Fungicida. Los fungicidas son sustancias que se emplean para eliminar o impedir el crecimiento de hongos y mohos perjudiciales para las plantas, o animales. Se aplican mediante rociado, pulverizados, por revestimiento, o por fumigación de locales.

Infección. Se define como la invasión de un anfitrión por un microorganismo patógeno, su multiplicación en los tejidos y la reacción del anfitrión a su presencia y a la de sus posibles toxinas. Se conocen dos tipos de infección; la lítica que consisten en un virus ingresando a una célula, donde se reproduce y destruye la célula, y la lisógena donde un virus integra su ADN al ADN de una célula, allí la información genética del virus se replica con el ADN de la célula anfitriona.

Microbiota. Es un ecosistema complejo, conformado por microorganismos como bacterias, virus, protozoos y hongos; este complejo en la mayoría de los casos determina la disponibilidad de nutrientes en el sustrato, esto se debe a que la microbiota del suelo participa activamente en el metabolismo de los cultivos, ya sea en la absorción de nutrientes, en el ciclo del nitrógeno, carbono y biogeoquímicos, fomentan la fertilidad, estructura y detoxificación de los suelos (Ojito, 2020).

Microorganismo. También llamados microbios, son un sistema biológico el cual cuenta con una organización biológica muy básica, entre estos organismos se cuentan bacterias, hongos, protozoos y algunas algas, solo pueden visualizarse con el microscopio, debido a que son

organismos dotados de individualidad es decir son organismos unicelulares que se caracterizan por presentar numerosas variaciones de forma y tamaño.

Microorganismos endófitos. Los microorganismos endófitos, son un grupo de microorganismos endosimbióticos generalizados entre las plantas. Dichas comunidades microbianas endófitas se alojan en el interior de las plantas, estas no causan síntomas de enfermedad o efectos nocivos en el huésped, así mismo estas comunidades pueden estar conformadas por bacterias, hongos y arqueas; en las últimas décadas, los microbios endófitos se han utilizado ampliamente en la agricultura sostenible como biofertilizantes, biocontroles o inductores de tolerancia al estrés abiótico, (Kumar, Droby, Singh, Singh & White, 2020). El microbioma endófito forma parte de una comunidad microbiana del suelo más grande, que es susceptible a los efectos directos o indirectos de las prácticas agrícolas: la labranza del suelo, el riego y el uso de pesticidas y fertilizantes, los cuales tienen efectos significativos en la función y estructura del suelo, así como también en las poblaciones microbianas endófitas, (Tamosiune, Baniulis & Stanys 2017). Las comunidades microbianas endófitas no se regeneran como las comunidades microbianas epífitas, pero ambas juegan un papel muy importante en las diferentes funciones de las plantas huésped como por ejemplo, promoción del crecimiento de las mismas; Los microorganismos endófitos son únicos tanto en abundancia como en funcionalidad, por lo tanto estos microorganismos, pueden llegar a emplearse como un biofertilizante único en los campos agrícolas, estas comunidades microbianas están asociadas con varios atributos de las plantas, debido a esto, los microorganismos endófitos puede que influyen de forma directa o indirecta, en el rendimiento de los cultivos agrícolas (Kumar, 2017).

Según lo descrito por Vasileva (2019), se conoce la amplia distribución de los microorganismos en el medio ambiente, y las estrechas relaciones entre estos organismos y

otros habitantes de la biosfera, dichas relaciones interesan a los científicos, fomentando tanto el estudio de las bases de la simbiosis entre los microorganismos y las plantas superiores, así como la oportunidad de utilizar interacciones planta-microorganismo en la agricultura, debido a que estas juegan un papel importante en el desarrollo de una planta huésped y en su resistencia a diferentes “estreses”, tales como enfermedades, el frío, sequía, salinidad y contaminación por metales pesados, debido a esto la aplicación de microorganismos endófitos para mejorar el rendimiento de los cultivos, presenta un potencial importante para la producción agrícola sostenible. Los métodos para determinar la localización de bacterias endófitas en los tejidos vegetales se pueden dividir en cuantitativos y cualitativos.

Métodos cuantitativos:

Para determinar con precisión el número de células bacterianas en la planta, generalmente se emplea el método de qPCR (quantitative polymerase chain reaction) o también conocida como PCR a tiempo real, esto permite a el investigador, realizar el conteo de células microbianas dentro de cada celda, (Orozco, 2018).

Métodos cualitativos:

Se investigan los microorganismos que contienen un plásmido con un gen informador. En particular, GFP (Green Fluorescent Protein), RFP (Red Fluorescent Protein), y células que son marcadas con GUS, (Mitter, Pfaffenbichler, Flavell, Compant, Antonielli, Petric et al. 2017). No obstante, el uso de la GFP como molécula señalizadora se encuentra limitado debido a la propia autofluorescencia, presente en los tejidos vegetales. Por otra parte, se puede trabajar con bacterias marcadas con inmunomarcadores, así mismo se puede trabajar con la hibridación fluorescente in situ, en combinación con microscopía confocal de barrido láser. En este último

caso, se emplean sondas oligonucleótidas marcadas, que se basan en una secuencia del gen 16S rRNA, por lo que es posible detectar el rRNA en células morfológicamente intactas.

También se pueden utilizar instrumentos inmunológicos para localizar y contar los endófitos; estos métodos implican una evaluación cualitativa y/o cuantitativa de las interacciones de tipo antígeno-anticuerpo, para esto se puede emplear un fluorocromo como “molécula señal”, ya que la interacción de este marcador, con los anticuerpos de las células, permite la visualización de las últimas. El uso de prácticas agrícolas que preservan la diversidad natural de los microorganismos endófitos de las plantas, se está convirtiendo en una parte importante de la agricultura sostenible que asegura la productividad de las plantas y la calidad de los productos agrícolas. Por otro lado, el microbioma endófito tiene múltiples efectos en su planta huésped, incluida la modulación de la señalización de hormonas vegetales (fitohormonas), el metabolismo y las vías de defensa del huésped.

Organismo. Son el conjunto material de organización compleja, en la que intervienen sistemas de comunicación molecular que lo relacionan internamente y con el medio ambiente en un intercambio de materia y energía de una forma ordenada, teniendo la capacidad de desempeñar las funciones básicas de la vida que son la nutrición, la relación y la reproducción.

Plaga. Se llama plaga a cualquier ser vivo que resulta perjudicial para otro ser vivo de interés para el ser humano. Existen plagas de interés sanitario, tales como los vectores de enfermedades humanas, y las plagas agrícolas que afectan las plantas cultivadas, así como las cosechas, ya sean frescas o almacenadas.

Pseudomonas fluorescens. Es una especie bacteriana, Gram-negativa, con forma de bacilo, ubicua e incapaz de formar esporas, tiene dimensiones que están entre 0.5-1.0 x 1.5-5 μm ,

presentan movilidad debido a que poseen varios flagelos polares, tienen un metabolismo energético estrictamente aerobio y una nutrición quimiorganotrofa que no requiere factores de crecimiento. Sintetizan gránulos de polihidroxialcanoatos que sirven de reserva de material celular (Álvarez, Santoyo & Rocha, 2020). En algunas especies de *Pseudomonas*, existen diversos mecanismos de recombinación genética, los cuales garantizan que exista una variabilidad en los organismos de reproducción asexual. Entre estos mecanismos está la transformación que consiste en la entrada de fragmentos de ADN exógeno al citoplasma de las bacterias, la transducción o intercambio de ADN entre bacterias mediante la intervención de un virus y la conjunción que es la transferencia de ADN procedente de una bacteria donadora a una receptora. La característica más llamativa de esta especie es la producción de compuestos fluorescentes, de ahí el porqué de su nombre. Estas, producen pioverdina, el cual es un pigmento que se caracteriza por ser soluble en agua, además de presentar fluorescencia bajo luz ultravioleta, y su producción es estimulada cuando el hierro es limitante en el medio. Generalmente, las condiciones idóneas para su crecimiento óptimo son temperaturas entre 25 y 30°C a un pH neutro, el proceso de colonización de este género de bacterias se debe principalmente a su movimiento flagelar, gracias a esto, estas bacterias tienen gran motilidad lo que se traduce en una mejor colonización del sistema radicular de la planta, *P. fluorescens* se adapta fácilmente al suelo, para sobrevivir y colonizar el sistema radicular (Santoyo, Moreno, Orozco & Clic, 2016). *Pseudomonas fluorescens* poseen efecto antagónico a los hongos *Curvularia sp*, *Fusarium sp* y *Alternaria*, constituyendo un efecto esencial con bacterias asociadas a las plantas, al aplicar estas bacterias como agentes de control biológico, reduce la incidencia de enfermedades e influye en las características agronómicas de planta, tales como la altura, el diámetro, la longitud de la raíz y rendimiento en el cultivo (Aviléz, 2021). *P. fluorescens* se desarrolla de manera eficiente en presencia de sales minerales, estas últimas acompañadas por

una o varias fuentes de carbono (Sharma, Saini, Kaushik, Aldawsari, Al Balawi & Alam, 2021), como solución para los compuestos de fosfato que se encuentran disueltos en los suelos, el empleo de bacterias solubilizadoras de fosfato (PSB), es una gran opción, dado a que estas, liberan en consecuencia ácidos orgánicos beneficiosos para las plantas (Kour, Rana, Yadav, Yadav, Kumar, Kumar et al. 2020). Debido a la gran adaptabilidad al suelo, que presentan las cepas de *P. fluorescens*, se investigan a fondo para sus aplicaciones incluidas enfermedades, biocontroles en cultivo y biorremediación de diferentes compuestos orgánicos en el suelo, así como también la tasa de supervivencia de las cepas cuando estas son liberadas en el suelo (Qessaoui, Bouharroud, Furze, El Aalaoui, Akroud, Amarraque et al., 2019). *P. fluorescens* actúa en beneficio de las plantas, debido a la producción de sustancias estimuladoras del crecimiento como son las auxinas, giberelinas, aminoácidos, citoquininas y otros promotores del crecimiento, además de que presentan una gran capacidad para solubilizar fósforo de esta forma liberando fosfatos que serán aprovechados por las plantas del cultivo (Rodríguez, 2022). La bacteria puede realizar esta actividad a través de dos vías:

Producción de ácidos orgánicos:

Estos ácidos son, el ácido cítrico ($C_6 H_8 O_7$), ácido oxálico ($C_2H_2O_4$), ácido glucónico ($C_6H_{12}O_7$), estos rompen los enlaces de los cationes Ca^{+2} , Mg^{+2} , unidos a las arcillas presentes en el suelo y a los aniones fosfatos, en consecuencia, el sustrato (suelo) se ve favorecido ya que estos son liberados y en última instancia esto apoya la solubilización del fósforo inorgánico, que finalmente se liberan en forma de fosfatos al suelo; los ácidos actúan sobre el pH del suelo (Ayubb, Cerra, Chamorro & Pérez, 2017).

Vía fosfatasas:

Las fosfatasas son enzimas hidrolasas, es decir sustancias capaces de catalizar la hidrólisis de un enlace químico, en este caso son dos tipos monoesterasas y diesterasas fosfóricas, las cuales actúan en las uniones ésteres, lo que ocasiona la liberación de los grupos fosfatos de la materia orgánica, y estos se agregan a la solución suelo (Ayubb et al., 2017). Un estudio revela que *P. fluorescens* puede llegar a ser empleado en los diferentes procesos de biorremediación de suelos ya que estos pueden producir biosurfactantes llamados ramnolípidos, los cuales pueden unirse a iones de metales pesados, acelerando el proceso de extracción de esta manera optimizando la biorremediación del suelo contaminado; además que estas bacterias favorecen el aumento de la biomasa vegetal gracias al aumento del volumen radicular, incrementar la disponibilidad y transferencia de metales solubles en la rizosfera (Castebianco, 2018).

Rizosfera. Considerada como el ecosistema terrestre más grande, esta comprende la capa del suelo que se encuentra más próxima a las raíces de la planta, esta se extiende desde la superficie del tejido radicular, hacia el interior del suelo; está compuesta esencialmente por suelo, agua y materia orgánica, y es allí donde las raíces de la planta interactúan con los microorganismos circundantes y por ende donde ocurren la mayoría de procesos de intercambio por parte de las raíces. Esta se divide en tres partes; la endorizosfera que comprende la corteza de la raíz, el rizoplano que consiste en la superficie de la raíz y la ectorizosfera o suelo rizosferico.

Tizón foliar. Esta enfermedad fúngica, llega a infectar diferentes tipos de plantas, tales como hortalizas, cereales y árboles frutales, la infección ocurre no solo durante su producción y, sino que también puede llegar a ocurrir durante su almacenamiento. Hay cuatro componentes

principales en el manejo de la enfermedad, a saber, la resistencia del huésped, el control cultural, el control biológico y el control químico (Kgatle, 2020; Kumar, 2022).

Resistencia del huésped. Esta es la opción más deseable, recomendable y la más amistosa con el medio ambiente.

Control de cultivos. Se deben seguir las buenas técnicas de cultivo, como desinfectar los utensilios, las semillas y/o plántulas, mejorar el entorno del cultivo.

Control biológico. El uso de agentes biológicos para el control de patógenos puede ser el mejor enfoque para combatir la infección.

Control químico. Proporciona un control eficaz, pero la efectividad de este método depende del método de aplicación, la dosis y del clima, aun así, este es el último recurso en la gestión de enfermedades debido al alto impacto hacia la rizosfera.

4.1 Factores que Influyen el Rendimiento de Tratamientos

Dado a que el tratamiento que se va a proponer se basa en el uso de microorganismos endófitos, existen diferentes factores que afectan el desarrollo de estos últimos; dando contexto, los microorganismos endófitos son un grupo de organismos, los cuales tienen por hábitat el interior de las plantas independientemente de la relación que guarden con la misma, generalmente se genera una simbiosis entre especímenes, mientras que la planta provee alimento, hospedaje y protección, los endófitos proporcionan estímulos que confieren un mejor desarrollo y resistencia del espécimen vegetal ante diferentes estreses. Entre los factores que afectan directa e indirectamente la efectividad de los tratamientos, se destacan:

4.1.1 Temperatura. Este juega un papel importante al ser uno de los parámetros más importantes para el desarrollo y efectividad de los tratamientos biológicos, dependiendo del microorganismo en cuestión, varía la tolerancia de temperatura, pero a grandes rasgos esta influye es un factor crucial y determinante en el desarrollo del microbio.

4.1.2 PH. La acidez o basicidad del suelo es un factor a tener en cuenta, a la hora de realizar el tratamiento, ya que el pH afecta directamente con las funciones metabólicas de los microbios, perjudicando los resultados.

4.1.3 Humedad. El porcentaje de humedad es un factor a tomar en cuenta, puesto que este afecta la biología de los endófitos como la de la planta anfitriona, en esta última causando podredumbre en las raíces o propiciando el crecimiento de mohos, que terminan destruyendo el cultivo.

4.1.4 Clima. Dependiendo del clima se puede realizar o no la aplicación de tratamientos, de ahí que la efectividad de estos últimos se vea afectada, por ejemplo, en tiempo lluvioso es imposible aplicar los tratamientos, debido a que estos suelen ser “lavados” del cultivo por el agua de lluvia, por esto se recomienda que los tratamientos se apliquen en tiempo soleado y de bajas precipitaciones.

4.2 Estado de Arte

En la actualidad, a nivel mundial en diferentes investigaciones, tesis y trabajos de grado, se proponen en encontrar diferentes mecanismos de control contra las enfermedades como el tizón foliar; se han realizado múltiples investigaciones en relación a *Alternaria dauci*, en donde se busca caracterizar, estudiar su reacción ante diferentes sustancias y microorganismos, la

resistencia que pueda tener el cultivo de zanahoria (*Daucus carota*) contra el patógeno, así como los beneficios que los microorganismos endófitos aportan a la planta, de esta manera se plantea que estos microbios pueden ser una opción favorable para combatir el tizón foliar, desarrollando tratamientos a base de los mismo.

4.2.1 Internacionales. Liu, Zhao, Ou, Hao, Zhang, He et al. (2022), en su artículo titulado “Draft Genome Sequence of Carrot Alternaria Leaf Blight Pathogen *Alternaria dauci*.” Concluye que El tizón de la zanahoria, causado por *Alternaria dauci*, es una de las enfermedades más comunes y destructivas de la zanahoria. Durante el desarrollo de este estudio, el autor junto con sus colaboradores, aisló muestras de *Alternaria dauci*, estas muestras fueron tomadas en las principales zonas productoras de zanahoria en china, una vez que tenía las muestras aisladas se procedió a secuenciar y ensamblar el genoma de *A. dauci*, de esa secuenciación según los investigadores se lograron ensamblar un total de 65 contigs, y el tamaño del genoma fue estimado en 34,9 Mb. Adicionalmente esta es la primera secuenciación del genoma de una muestra de *A. dauci* aislada en territorio chino, la cepa se aisló de un cultivo de zanahorias en la ciudad de Ulanqab, Región Autónoma de Mongolia Interior, China; para la extracción del ADN genómico de las muestras se empleó un kit de extracción de ADN, así mismo con la guía de los postulados de Koch se confirmó la patogenicidad del aislamiento, las cualidades morfológicas y la secuencia genética de las muestras analizadas, coincidían con algunas muestras que fueron aisladas y analizadas anteriormente en Estados Unidos, finalmente la secuencia ya ensamblada se depositó en la base de datos de GenBank del National Center for Biotechnology Information (NCBI); el fin de este trabajo, según el mismo autor, es proporcionar información genética para futuras investigaciones sobre las interacciones entre plantas y patógenos.

Do, Min, Kim, Park & Kim (2020), en su artículo de revisión denominado “Detection of fungicidal activities against *Alternaria dauci* causing Alternaria leaf spot in carrot and monitoring for the fungicide resistance”; se pusieron a prueba 32 fungicidas divididos en 9 grupos y los efectos que estos causaban a *A. dauci*, el autor con sus colaboradores, extrajo las muestras de tejido micelial de las hojas de un cultivo de zanahorias ubicado en Corea del sur, las muestra micelias se inoculó en agar PDA (agar papa dextrosa), allí se incubó por 7 días a 27°C. Para investigar el efecto inhibitor del crecimiento micelial, se empleó el método de dilución de agar, donde las muestras de patógenos se cultivaron en caldo V-8 y se incubó a 25°C por 10 días, para finalmente volver a inocular en agar PDA los cuales habían sido suplementado cada uno con un diferente fungicida de los 32 estudiados, resultados arrojados muestran que 5 de los grupos de fungicidas estudiados con algunas excepciones, inhibieron exitosamente el crecimiento micelial, pero tuvieron un bajo rendimiento a la hora de inhibir la germinación de esporas, por otra parte, la mayoría de los fungicidas en los grupos restantes mostraron el efecto contrario.

Zafar, Abrar, Umar, Bahoo & Ahmad (2017), en su investigación “Screening of different carrot varieties against Alternaria leaf blight and its chemical management”, realizó un experimento donde se sembraron 5 variedades de zanahoria (Gold Mines, Mah Rani, Long Red, Deep Red y Red Core) bajo RCBD (Randomized Complete Block Design por sus siglas en inglés), realizando tres repeticiones con cada variedad. El experimento se llevó a cabo en el Departamento de Patología Vegetal, Universidad de Agricultura, Faisalabad, específicamente en el área de investigación, las muestras fueron tomadas de una zona de cultivo no especificada, se tomaron las muestras y se realizó una prueba de patogenicidad de las plantas para comprobar si el patógeno en cuestión estaba presente o no, posteriormente se procedió a aislar el hongo *A. dauci* en el laboratorio de fitopatología por medio del uso de medio PDA, seguidamente se purificó el

cultivo y se multiplicó para la preparación del inóculo. De los ensayos realizados arrojaron como resultado que la variedad de zanahoria “Long red” mostro una resistencia al patógeno mientras que la variedad “Red core” mostró una respuesta moderadamente resistente; por otra parte la variedad “Deep red” se mostró medianamente susceptible y las variedades “Gold Mines” y “Mah Rani” probaron ser las variedades más susceptibles, los efectos patógenos se contrarrestaron con 5 productos químicos, los cuales se aplicaban en tres pulverizaciones; al final se concluyó que una manera efectiva de combatir el ALB, es sembrar aquellas variedades que muestran resistencia y complementar con la aplicación de productos químicos para mitigar la infección.

Chrapačienė (2021), en su trabajo llamado “Biocontrol of Carrot Disease-Causing Pathogens Using Essential Oils” propone como el nombre lo indica, el uso de aceites esenciales como un método de control, por lo tanto, el objetivo de este trabajo fue el evaluar la eficacia de los aceites esenciales de *Origanum vulgare subsp. vulgare* y *Origanum vulgare subsp. hirtum* en la inhibición del crecimiento de *Alternaria spp.* Para la extracción de los aceites se utilizó la hidrodestilación tipo Clevenger, se tomaron muestras frescas las cuales fueron cultivadas en el campo experimental del Instituto de Horticultura del Centro Lituano de Investigación Agrícola y Forestal, una vez obtenido el aceite, se empleó la cromatografía de gases y la espectrofotometría de masa para la determinación de los metabolitos secundarios responsables de las actividades antifúngicas; los aislados de *Alternaria spp.*, se obtuvieron raíces de zanahoria podridas, de estas se tomaron fragmentos que se esterilizaron por 3 minutos en etanol al 70% y se enjuagaron cinco veces con agua destilada estéril y se incubaron en agar PDA, y posteriormente se purificaron a una sola espora y se llevaron a incubación por 7 días a 25°C; se utilizó la técnica de crecimiento radial para evaluar la eficacia de los aceites esenciales sobre *Alternaria spp.* in vitro, allí se añadieron muestras de cada aceite al agar PDA antes de verterlo en las cajas Petri a 40-45 °C y

para se colocaron tapones de micelio de 5 mm (boca abajo) se obtuvieron buenos resultados donde hubo pocas diferencias entre cada aceite; para finalizar el autor concluye que sus hallazgos pueden ayudar a controlar los patógenos causantes de las distintas enfermedades de la zanahoria, pero se debe seguir profundizando.

En el artículo titulado “**Changes in the core endophytic mycobiome of carrot taproots in response to crop management and genotype.**” Dirigido por Abdelrazek, Choudhari, Thimmapuram, Simon, Colley, Mengiste et al. (2020b), señala que los endófitos fúngicos pueden influir en la producción y plantean desafíos en la postcosecha de la zanahoria, por lo tanto en este trabajo se buscó caracterizar el microbioma endófito en las raíces pivotantes de tres genotipos de zanahoria, que varían en resistencia, el desarrollo del proyecto se desarrolló con el cultivo de zanahorias a largo plazo, esto fue realizado en la Granja de Investigación Hortícola Meigs de Purdue, al sur de Lafayette, la prueba se realizó organizando los cultivos en un diseño de bloques, con tres replicas para cada sistema de cultivo, tres de genotipos de zanahoria fueron seleccionados para que se realizaran las pruebas de resistencia a nemátodos y al patógeno *A. dauci* así como también un análisis más detallado del microbioma endófito de los ejemplares, se aplicaron fertilizantes como compost a una parcela y a la otra fosfato de diamonio; en la cosecha se seleccionaron muestras al azar de cada genotipo, se desinfectaron con lejía al 5.25% por 3 minutos y se lavaron con agua destilada, finalmente los trozos de zanahoria se sembraron en tres medios selectivos (Agar de soja trípico, R2A y PDA) por duplicado a 25-27°C por 48 a 72 horas; El ADN de la comunidad de endófitos fue extraído mediante duplicado de cada muestra de tejido de zanahoria, la cual fue liofilizada utilizando los Mini Kits de Planta Qiagen DNeasy (Qiagen, EE. UU.), siguiendo el protocolo del fabricante; los resultados obtenidos en este estudio confirmaron los resultados obtenidos en trabajos anteriores, los cuales concluyen en que las

raíces de la zanahoria están colonizadas por una variedad diversa de endófitos fúngicos donde la mayor parte pertenecen al filo Ascomycota, y la gran mayoría de los aislamientos de endófitos presentan una actividad antagónica contra *A. dauci* muy favorable. Finalmente, la autora concluyo que, a pesar de los buenos resultados, se necesitan más y mejores estudios a futuro, asociados con el aislamiento de endófitos.

Dorna (2021), en su trabajo titulado “The Effect of Acetic Acid Treatments on the Quality of Stored Carrot (*Daucus carota L.*) Seeds.” Señala el uso del ácido acético como un medio preventivo a las infecciones con patógenos como *Alternaria dauci*; así que el objetivo principal de este estudio fue evaluar los efectos de los tratamientos con ácido acético en la calidad de las semillas de zanahoria, el experimento inició seleccionando semillas de zanahoria con diferente nivel de infestación con hongos, y estas se dividieron en tres grupos, uno de los cuales se sembrarían sin ningún tratamiento, el segundo sería tratado con un fungicida, estos dos grupos se tomaron como control, mientras que las semillas del tercer grupo fueron sumergidas por 30 minutos en ácido acético al 0.5, 1 y 2 %, pasados los 30 minutos las semillas se enjuagaron con agua destilada y se secaron, en las pruebas de germinación y vigorización, los investigadores realizaron pruebas separadas en 6 repeticiones con 50 semillas cada una, por cada tratamiento; el porcentaje de germinación se calculó 7 y 14 días después de la incubación, los resultados arrojados fueron que las semillas remojadas en ácido acético al 0.5 y 1% redujeron considerablemente la infección con *A. dauci*, además de mejorar la capacidad de germinación de estas semillas, en comparación de las otras de los otros tratamientos.

Elansary (2019), en su investigación titulada “5-Aminolevulinic acid and soil fertility enhance the resistance of rosemary to *Alternaria dauci* and *Rhizoctonia solani* and modulate plant biochemistry.” Propone el uso de ácido 5-aminolevulínico (ALA), aplicándolo tanto en

suelos fértiles como en suelos pobres, el proceso se inició con el aislamiento de los patógenos (*A. dauci* y *R. solani*) estos fueron aislados de un cultivo de plantas de romero que mostraban síntomas de tizón, allí se esterilizó con hipoclorito de sodio al 0.1 la superficie de la planta, se cortaron y colocaron trozos infectados de hojas o raíces en placas de Petri con medio de agar PDA y se incubaron durante 2 semanas a 25 ° C, el inóculo se preparó introduciendo muestras de los patógenos en matraces esterilizados y que contenían líquido de Richard y se incubó por 2 semanas, emplearon un diseño experimental factorial de 3 bloques con 24 tratamientos cada uno; el tratamiento lo realizaron en un invernadero donde se aplicaba el ALA semanalmente de 3 a 10 ppm hasta la caída; después del tratamiento aquellas plantas infectadas por *A. dauci* y *R. solani* tratadas con altas dosis de ALA, desarrollaron gran cantidad de ramas, por otra parte las plantas sanas es decir el control, mostraron el mayor crecimiento vegetativo entre las plantas tratadas con ALA. Al final se concluyó que el ácido 5-aminolevulínico, podría aliviar el estrés biótico de las plantas de romero causado por *Alternaria dauci*/ *Rizotocnia solani*.

Abdelrazek et al., (2020a) en su trabajo “Crop management system and carrot genotype affect endophyte composition and *Alternaria dauci* suppression.” Estipula que el tratamiento de enfermedades en zanahoria son difíciles de tratar, pero también se ha demostrado que los microorganismos endófitos pueden ser una gran opción a la hora de combatir los patógenos, mejorar la salud y el rendimiento de los cultivos, El objetivo de este estudio fue determinar cómo el sistema de manejo del cultivo y el genotipo de la zanahoria interactúan para afectar la composición y el potencial de los endófitos para mitigar la enfermedad causada por *Alternaria dauci* se seleccionaron 9 genotipos de zanahoria, de las cuales se tomaron 6 raíces sanas de cada una de las variedades, los ejemplares se desinfectaron sumergiéndolos en lejía al 5,25% por 3 minutos y luego enjuagar; para confirmar se tomaron muestras de las raíces y se inocularon en

medios semi selectivos por 14 días a 27°C, posteriormente se hace una solución madre con 5 gramos de muestra y 25 ml de agua destilada y se hacen diluciones seriadas, de las que se toman 100 µl y se inoculan en medios selectivos (agar de soja Tryptic, R2A, agar PDA) por duplicado; las muestras se reactivaron con agar PDA o agar Luria-Bertani y se procedió con la extracción de ADN se realizó utilizando kits de extracción de ADN microbiano, siguiendo las indicaciones del fabricante, las secuencias de nucleótidos obtenidas mediante secuenciación SANGER se analizaron utilizando la herramienta Basic Local Alignment Search Tool (BLAST); se obtuvieron 22 bacterias y 6 hongos, para examinar los endófitos fúngicos, se colocaron tapones miceliales de 5 mm de diámetro de *A. dauci* y del aislado fúngico a 4,5 cm de distancia uno del otro en la misma placa de Petri, mientras que para los bacterianos se colocó un disco de 5 mm de diámetro de *A. dauci* en el centro de la placa PDA, y después se esparcieron los aislados bacterianos individuales a 2,25 cm del disco, la totalidad de las placas se incubo a 25°C hasta que el cultivo de *A. dauci* en el control cubrió toda la placa. La totalidad de los endófitos mostró capacidad de reducir el crecimiento de *A. dauci*; al final la autora junto con sus colaboradores concluyó que los microbios endofíticos tienen potencial para ayudar a mejorar el rendimiento del cultivo, a resistir una amplia gama de estreses bióticos y abióticos, y reducen la necesidad de recurrir a productos agroquímicos.

De acuerdo con Gayithri (2021), en su artículo titulado “Effect of physical parameters on the growth of *Alternaria alternata* causing *Alternaria* leaf blight of carrot” realizado en Afganistán, dice que, entre las enfermedades foliares de la zanahoria (*Daucus carota*), el tizón de la hoja por *Alternaria* es una de las principales y más dañinas afecciones, que se presenta en todo el mundo. El género *Alternaria*, hongos ascomicetos comúnmente alérgenos en los humanos, sus esporas

son transportadas por el aire hasta la nariz y pueden causar rinitis alérgica o reacciones de hipersensibilidad que, en ocasiones, pueden producir ataques de asma.

Marcuzzo (2019), en su artículo titulado “Development of a weather-based forecasting model for *Alternaria* leaf blight of carrot” Estudio realizado en el "Instituto Federal Catarinense - IFC"/ Campus Rio do Sul, SC. Semillas de zanahoria cultivar Brasilia. Dice que el establecimiento de una enfermedad depende de la interacción entre el entorno, el huésped y el patógeno, los factores ambientales, como la temperatura y la humedad de las hojas, estos últimos son fundamentales para el proceso epidemiológico; El tizón de la hoja de la zanahoria (*Daucus carota*) causado por *Alternaria dauci* es una enfermedad importante en Brasil, para la cual se han desarrollado muchos modelos matemáticos, en un intento de predecir las condiciones ideales para el surgimiento de dicha enfermedad; estos modelos están destinados a proporcionar una ventaja contra la infección, a pesar del desarrollo de estos modelos, aún no se utilizan en el campo; debido a esto, hasta el momento son modelos teóricos, pero si están bien desarrollados, ofrecen nuevas oportunidades y nuevas formas de combatir diferentes enfermedades de las plantas.

Según la National Agricultural Statistics Service Information (2016), los biofertilizantes y los biopesticidas), se consideran productos más respetuosos con el medio ambiente, por lo cual pueden sustituir a los productos sintéticos comúnmente utilizados en los sistemas agrícolas convencionales y Hardoim, Van, Berg, Pirttilä, Compant, Campisano et al. (2015), deja ver que los microorganismos de la especie bacteriana *Pseudomonas sp* son los más utilizados en la formulación de estos productos orgánicos, esto se debe a que los miembros de especie pueden producir fitohormonas y aumentar la adquisición de nutrientes; estudios realizados en Afganistán, arrojaron resultados favorables en cuanto al uso de endófitos como biocontrol, además de que se

identificó una especie de *Pseudomonas* (*Pseudomonas fluorescens*) como potencial agente controlador ya que esta favorece el sistema inmunitario de la planta.

4.2.2 Nacionales. En la sabana de Bogotá se realizó una investigación titulada “Especies de *alternaria* de la sabana de bogotá, colombia” dirigida por Rodríguez (2013), en este estudio se realizó con el fin de incrementar el conocimiento de la diversidad del género *Alternaria* en Colombia, la importancia de este trabajo radica en el planteamiento de las técnicas de caracterización y descripción de las cepas, caracterización morfométrica de los conidios, además de una descripción del patrón de esporulación del microorganismo, a pesar de que existen reportes de enfermedades producidas por *Alternaria* en cultivos de importancia como solanáceas y cítricos, los diagnósticos frecuentemente no incluyen la determinación de las especies que las producen; el problema principal con este tema es que, a pesar, que existe mucha información, generalmente se abarca a grandes rasgos el género *Alternaria*, es decir sin profundizar en alguna especie, además de que la mayoría de estas investigaciones van dirigidas, a las medidas preventivas más eficaces, para evitar la contaminación con *Alternaria*; es poco usual el encontrar información específica acerca del tratamiento biológico para combatir las infecciones causadas por *Alternaria dauci*; gran parte de la escasa información disponible, está dedicada a la identificación del patógeno o bien a tratamientos preventivos, y en los casos donde se plantea un tratamiento, este apenas está en desarrollo o en suposiciones teóricas.

Saboyá (2019), en su trabajo titulado “Asistencia técnica y transferencia de tecnologías en el sistema productivo de zanahoria (*Daucus carota*), integrando la metodología participativa (pipa) en el municipio de villapinzón Cundinamarca”, promueve la adopción de nuevas tecnologías en los productores de zanahoria (*Daucus carota L.*), busca reunir las ventajas de cada uno de los métodos de control dependiendo de las condiciones específicas del caso y el cultivo, esto se

realizó a fin de mejorar las condiciones agropecuarias de los suelos de cultivos aumentando la producción y rentabilidad de los productos agrícolas, se hizo un seguimiento de la producción de un cultivo de zanahoria, realizando monitoreos al cultivo acorde al manejo integrado de plagas y enfermedades, también se sembraron variedades de zanahorias más resistentes a frente a patógenos especialmente *Alternaria dauci*, como resultado se obtuvo un mayor rendimiento del cultivo, esto se vió especialmente en el tamaño y grosor de las raíces.

Barrera, Ghiringhelli, Mosher, Caro, Massart & Belaich (2018), en su documento “Las ómicas en el control biológico”, presenta una recopilación de algunos estudios óhmicos, y se resalta su utilidad en la investigación y el desarrollo de agentes de control biológico para invertebrados plaga y fitopatógenos; Además, aporta información valiosa sobre la importancia de la implementación de la agricultura como un sistema productivo sostenible, amigable con el ambiente y resiliente, se dice que las disciplinas ómicas presentan un gran avance en el modelado de sistemas biológicos, que aportan ideas para la producción de nueva información a base de datos experimentales anteriores, esto permite describir el microbioma que favorece la fijación de nutrientes, también conocer la secuencia genómica de los patógenos, abre la posibilidad de implementar fácilmente un control biológico, comprender cómo atacan y cómo se defienden los organismos presentes en nuestros agroecosistemas, etc. Lo anteriormente mencionado es una gran fuente de información, ya que, en este caso en particular, esas técnicas genómicas se pueden desarrollar en *Alternaria dauci*, de esta manera facilitando la implementación de uno o varios controles bilógicos.

En el documento presentado por Cámara de Comercio de Bogotá (2015), denominado simplemente “Manejo Zanahoria”, plantea que para el manejo de *Alternaria sp*, se debe realizar desinfección de suelo antes de la siembra (solarización, amonios cuaternarios, etc) y usar semilla

certificada. Si la incidencia de la plaga lo requiere se debe realizar aplicaciones de fungicidas como por ejemplo utilizar el caldo bordelés es uno de los fungicidas bio racionales más usados o bien realizar aplicaciones preventivas de *Basillus subtilis*, *Trichoderma harzianum*, productos a base de levaduras, entre otros. Esto demuestra que si es posible realizar un tratamiento efectivo con el uso de endófitos propios de la zanahoria (*Daucus carota*), esto abre la posibilidad de que uno o más de estos microorganismos sean viables como antagonistas de *Alternaria dauci*.

Como aporte personal, se hizo una visita a un cultivo de zanahorias ubicado en la vereda de Sucre en el municipio de Mutiscua – Norte de Santander, Colombia, (figura 5), allí se explicó cómo era el proceso de producción de la zanahoria, desde el tipo de control de enfermedades y plagas, como el tiempo de cultivo y sus condiciones, normalmente se hace un arado del terreno, esto para “soltar” la tierra, y así depositar las semillas en la superficie, una vez hecho esto, se cultiva durante 4 o 5 meses para poder cosechar (figuras 6,7,8,9), debido principalmente a que la temperatura en la vereda oscila entre los 10 y 15°C, realizando riego una vez por día (la frecuencia depende del clima), durante las 3 primeras semanas, se aplica fertilizante particularmente “Crece 500”, además se agregan productos fungicidas como lo es “Trivia” o “Curathane”.



Figura 5. Cultivo de zanahoria en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander



Figura 6. Plantación de semillas de zanahoria en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander



Figura 7. Cultivo de zanahoria (3-4 semanas) en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander



Figura 8. Cultivo de zanahoria (listo para cosechar) en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander



Figura 9. Cosecha de zanahoria en el municipio de Mutiscua - Norte de Santander

4.2.2.1 Importancia en Norte de Santander. Consultado por medio del semillero de investigación **SIBIOAGRI**, a la secretaria de agricultura departamental, solicitando información concerniente a la extensión y producción de los cultivos perennes y transitorios en el departamento de Norte de Santander.

Tabla 2. Producción de zanahoria en Norte de Santander durante el segundo semestre de 2022

| Producción de zanahoria (<i>Daucus carota</i>). | | | | | |
|--|-------------------------|-------------------------------|--------------------------|-----------------------------|------------------------|
| Área sembrada. (HAS) | Cosechada. (HAS) | Rendimiento. (TON/HAS) | Producción. (TON) | Estado del producto. | No de unidades. |
| 161 | 149,5 | 20.0133779 | 2992 | Fresco. | 157 |

Fuente: Secretaría de agricultura de Norte de Santander (2018).

Actualmente a nivel del semillero, se pretende actualizar la información de los cultivos, solicitando el reporte mas reciente, relacionado con las actividades agrícolas del departamento.

4.3 Metodología Propuesta

Tomando en cuenta la información recopilada y analizada anteriormente se propone un tratamiento a base de un microorganismo endófito propio de la zanahoria (*Daucus carota*) como lo es la especie bacteriana *Pseudomonas fluorescens*, esta metodología se propone con el fin de que la actividad experimental, pueda desarrollarse en el semillero de investigación de Biotecnología Agrícola, del cual hago parte.

4.3.1 Toma de muestras. Para el diagnóstico del tizón foliar en la zanahoria (*Daucus carota*), se revisan los ejemplares de muestra, específicamente se revisa el tejido foliar si estas presentan manchas oscuras, húmedas, con un halo de color amarillo, para un análisis más certero las muestras se lleva al laboratorio; Siguiendo el protocolo descrito por Hammami et al. (2013), se toman las plantas con síntomas, se separan del cultivo, posteriormente estas se lavan con agua corriente del grifo, y se toman trozos de tejido infectado, seguidamente se depositan por 1 minuto en Hipoclorito de sodio al 1%, se lavan con agua destilada, seguido se sumergen en alcohol al 70% y se lavan nuevamente con agua destilada, se secan y se finaliza sembrando las muestras en medio de cultivo PDA (Potato dextrose agar), por 5 días a 25 – 28°C.

4.3.2 Aislamiento de microorganismos. Para el aislamiento de los microorganismos endófitos se sigue el proceso planteado por Abdelrazek et al. (2020b), en el cual se toman pequeños fragmentos (5 gramos) de la raíz de la zanahoria (*Daucus carota*), los cuales se muelen en 25 ml de agua estéril, la cual es la solución madre, a partir de esta se realizan diez diluciones seriadas, de las cuales se toman 100 µl de solución y estas se siembran de forma superficial y por duplicado en medios de cultivo selectivos como Agar de soja tróptico, R2A y medios PDA para hongos, los medios anteriormente mencionados, se incuban a 25 – 27°C por 48 a 72 horas. Las

placas con diluciones seriales de 10^3 o 10^4 y 10^5 o 10^6 se utilizaron para aislar colonias fúngicas y bacterianas individuales respectivamente, con morfologías únicas, posteriormente los aislamientos se inoculan en cajas Petri limpias, se hace bajo las condiciones anteriores; Los cultivos bacterianos y fúngicos individuales que eran morfológicamente distintos fueron seleccionados y almacenados en reservas de glicerol a -80°C para futuros ensayos de extracción de ADN y laboratorio.

4.3.3 Identificación de microorganismos. Para la identificación de los microorganismos se utiliza el análisis PCR, para ello se reactivan las cepas de los endófitos, sembrándolos en agar PDA o bien en agar Luria-Bertani; una vez realizada la extracción del ADN, el material se cuantifica con la ayuda de un Nanodrop, cuando se tienen las secuencias, se extraen las secuencias más viables y con la ayuda de cebadores se amplía dichas secuencias, culminando con la identificación del genoma, comparándolo con las secuenciaciones de genes en las diferentes bases de datos en la red. Según Abdelrazek et al. (2020a) estudio anteriormente mencionado, se identificaron 22 bacterias y 6 hongos, de los cuales el mejor microorganismo antagonista para combatir a *Alternaria dauci* es *Pseudomonas fluorescens*. Esta rizobacteria es un excelente candidato en el tratamiento del ALB y de otras enfermedades fúngicas, ya que esta proporciona beneficios directa e indirectamente a las plantas (Álvarez et al., 2020), como síntesis de fitohormonas e inhibición de hongos fitopatógenos.

4.3.4 Planteamiento de tratamientos. Para el tratamiento, se necesita producir un extracto de *P. fluorescens*, el cual se obtiene al aislar la bacteria de una muestra de suelo que no haya sido intervenida con químicos, para este aislamiento se toman 10 g de muestra y se disuelven en 90 ml de agua destilada, se realizan diluciones seriadas de 10^{-1} a 10^{-2} agregando 1 ml de solución madre en tubos de ensayo con 9 ml de agua destilada estéril, donde se toman las últimas 3 diluciones

(10^{-6} , 10^{-7} , 10^{-8}), de estas se toma 1 ml y se siembra en el medio selectivo King B por triplicado se lleva incubación (25 – 30°C por 24 a 48 horas), se realiza una solución de 50 ml de agua destilada, con la muestra de *P. fluorescens* una vez homogenizado, la propagación del microorganismo se realiza agregando la solución a un recipiente con una mezcla de agua con un sustrato que sirva de alimento para el microorganismo, esto se hace en una relación 1:100, por ejemplo, 50 ml de solución a 5 L de agua con 150 g de sustrato alimentario, este último puede ser un azúcar como la melaza. Por otra parte, también se pueden emplear biofertilizantes o fungicidas a base de *P. fluorescens*. Sin embargo, los tratamientos más adecuados para su implementación a los cultivos, debido a su facilidad de aplicación son los siguientes.

4.3.4.1 Tratamiento en semillas. En este, las semillas son sumergidas en el extracto bacteriano preparado anteriormente en una relación de 1:50, es decir por cada semilla, 50 ml de solución; este proceso puede realizar el día anterior a la siembra o como sería lo más recomendable dejar las semillas sumergidas en el extracto únicamente de 6 a 8 horas.

4.3.4.2 Tratamiento en el sustrato. Este otro método de inoculación, consiste en inocular *P. fluorescens* directamente en el sustrato o turba, esto a razón de 1 ml de extracto por cada 20 o 25 g de turba, una vez homogenizado, se realiza la siembra con normalidad, también se puede combinar el extracto de *P. fluorescens* en la misma proporción, con abonos orgánicos.

4.3.4.3 Tratamiento por aspersión. Este tratamiento consiste en esparcir el microorganismo por las parcelas del cultivo, esto se hace esparciendo el inóculo tanto por las hojas, como a nivel del suelo, para esta aplicación se hace en la misma proporción 1:100, normalmente esta aspersión se hace con fumigadoras manuales, las cuales tienen una capacidad de entre 20 – 25 litros, es decir que para la aplicación se emplean entre 200 y 250 ml de extracto el cual se diluye en agua,

hasta completar el volumen del recipiente, la frecuencia de aplicación del extracto, se establece dependiendo del grado de afectación de la infección (1 o 2 veces por mes); la aplicación debe evitarse en los días lluviosos ya que la lluvia solo “lavaría” el tratamiento, además de que el aumento de la humedad relativa afecta la viabilidad del microorganismo.

Incluso se podría realizar una combinación de tratamientos, dependiendo si es necesario realizar el tratamiento, de ser este el caso y para evitar una contaminación del cultivo con *P. fluorescens*.

4.3.4.4 Tratamiento de semillas y aspersión. Las semillas se sumergen en la solución a relación de 1:25 por 6 horas o bien a 1:50 por 3 horas, y se deja crecer la planta por aproximadamente 2 meses, pasado este tiempo se aplica el inóculo, por aspersión donde se recomienda reducir la concentración del inóculo preparado a la mitad, es decir se agrega la mitad de extracto a la fumigadora (100 – 150 ml).

4.3.4.5 Tratamiento en el sustrato y aspersión. De la misma manera que el anterior con el fin de evitar una contaminación, con *Pseudomonas fluorescens* las concentraciones de inóculo aplicado, tanto al sustrato como a las plantas durante el proceso de aspersión.

5. Conclusiones

El empleo de microorganismos endófitos tiene gran potencial, ya que estos favorecen muchos de los procesos que realizan las plantas, como lo son el crecimiento y en la protección de la misma; a pesar de que se han realizado indagaciones y trabajos acerca del uso de estos microorganismos como un biocontrol y que se están desarrollando nuevos proyectos, esta propuesta aún es objeto de estudio, ya que si bien es una excelente idea, se deben tomar en cuenta los pros y contra de su utilización, centrándonos en la microbiota endófito de la zanahoria, a pesar de que ya se han hecho pruebas, como la aplicación de *Pseudomonas fluorescens* y estas arrojaron buenos resultados, todavía se debe profundizar mucho más, para poder adaptar de forma segura el tratamiento con este microorganismo a los cultivos de zanahoria en general.

Con este trabajo se propuso una metodología de tratamiento con microorganismos endófitos para contrarrestar los efectos nocivos causados por *Alternaria dauci* en los cultivos de zanahoria (*Daucus carota*); Se logró presentar un método viable para tratar el ALB en los cultivos de zanahoria; este se propuso debido a que existen varias propuestas de tratamientos, estas contemplan el uso de microorganismos endófitos como control biológico, donde destaca el gran potencial *Pseudomonas fluorescens*, la ventaja de emplear estos microorganismos radica en que son más amigables con el suelo, ya que estos benefician a la estructura del mismo, además de estimular los diferentes procesos biológicos de las plantas de cultivo, sin embargo a la larga *Alternaria dauci* podría desarrollar resistencia parcial o total a *P. fluorescens* o peor este último puede convertirse en una segunda infección, por lo tanto esto es algo que se debe tomar en cuenta.

6. Recomendaciones

Durante la preparación de la parcela o terreno del cultivo es importante, arar bien la tierra, remover los elementos que pueden obstruir el crecimiento de las raíces, eliminar rastros de cultivos anteriores con el fin de evitar contaminaciones cruzadas, en lo posible limpiar los utensilios empleados en la siembra.

Para evitar la propagación indeseada de *P. fluorescens* o bien para evitar que *A. dauci* desarrolle resistencia al biocontrolador, la mejor opción es hacer rotación de fungicidas, de esta manera se minimiza el riesgo, así como también realizar rotación de cultivos en el terreno; es importante agregar, que por ningún motivo se debe aplicar la solución en exceso, ya que como se puede inferir, generaría un problema como el que se pretende evitar.

Durante el tratamiento, evitar el uso de productos químicos, porque estos eliminarían las bacterias del tratamiento, por tanto, se desperdiciaría biomasa, además de que se eliminarían múltiples especies de microorganismos benéficos presentes en el suelo de cultivo.

Antes de empacar las zanahorias cosechadas y que estas sean comercializadas, realizar un buen lavado de las mismas, eliminando cualquier residuo de tierra, así para evitar la propagación de *A. dauci* o bien *P. fluorescens* esto es debido a que durante el almacenaje de las zanahorias también se pueden propagar estos microorganismos.

Referencias Bibliográficas

- Abdelrazek, S. (2018). *Carrot Endophytes: Diversity, Ecology and Function*. Indiana: Purdue University Graduate School.
- Abdelrazek, S., Choudhari, S., Thimmapuram, J., Simon, P., Colley, M., Mengiste, T., et al. (2020). Changes in the core endophytic mycobiome of carrot taproots in response to crop management and genotype. *Scientific reports*, *10*(1), 1-14.
- Abdelrazek, S., Simon, P., Colley, M., Mengiste, T. & Hoagland, L. (2020). Crop management system and carrot genotype affect endophyte composition and *Alternaria dauci* suppression. *PLoS One*, *15*(6), 1-26. Recuperado de:
<https://journals.plos.org/plosone/article/file?id=10.1371/journal.pone.033783&type=printable>
- Ahmad, L., Siddiqui, Z. A. & Abd, E. (2019). Effects of interaction of *Meloidogyne incognita*, *Alternaria dauci* and *Rhizoctonia solani* on the growth, chlorophyll, carotenoid and proline contents of carrot in three types of soil. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B—Soil & Plant Science*, *69*(4), 324-331.
- Ali, S., Charles, T. & Glick, B. (2017). *Endophytic phytohormones and their role in plant growth promotion*. Springer: Functional Importance of the Plant Microbiome.
- Álvarez, D., Blandón, J., Ceballos, V., Mejía, M. & Buriticá, H. (2017). *Aislamiento de Microorganismos en diferentes ambientes (Suelo, Agua y Aire)*. Tesis de grado. Universidad Libre. Bogotá, Colombia.
- Álvarez, J., Santoyo, G. & Rocha, M. (2020). *Pseudomonas fluorescens*: Mecanismos y aplicaciones en la agricultura sustentable. *Revista Latinoamericana de Recursos Naturales*,

16(1), 01-10.

Aviléz, A. (2021). *Bacteria benéfica Pseudomona fluorescens como agente de control biológico para mejorar la producción del cultivo de maíz*. Tesis de grado. Universidad Técnica de Babahoyo. Babahoyo, Ecuador.

Ayubb, N., Cerra, A., Chamorro, L. & Pérez, A. (2017). Resistencia a cadmio (Cd) de bacterias endófitas y bacterias rizosféricas aisladas a partir de *Oriza sativa* en Colombia. *Revista Colombiana de Ciencia Animal*, 9(2), 281.

Barrera, P., Ghiringhelli, D., Mosher, S., Caro, A., Massart, S. & Belaich, M. (2018). *Las ómicas en el control biológico. Control biológico de fitopatógenos, insectos y ácaros: aplicaciones y perspectivas*. Bogotá: Corporación Colombiana de Investigación Agropecuaria.

Cámara de Comercio de Bogotá. (2015). *Vicepresidencia de Fortalecimiento Empresarial; Programa de Apoyo Agrícola y Agroindustrial*. Bogotá: CCB.

Castebianco, J. (2018). Técnicas de remediación de metales pesados con potencial aplicación en el cultivo de cacao. *La Granja. Revista de Ciencias de la Vida*, 27(1), 21-35.

Chrapačienė, S., Rasiukevičiūtė, N. & Valiuškaitė, A. (2021). Biocontrol of Carrot Disease-Causing Pathogens Using Essential Oils. *Plants*, 10(11), 2231.

Commisso, M., Toffali, P., Strazzer, M., Stocchero, S., Ceoldo, B., Baldan, M. et al. (2016). Impact of Phenylpropanoid Compounds on Heat Stress Tolerance in Carrot Cell Cultures. *Frontiers in Plant Science*, 7(2), 1401-1439.

- Courtial, J., Helesbeux, J., Oudart, H., Aligon, S., Bahut, M., Hamon, B. et al. (2022). Characterization of NRPS and PKS genes involved in the biosynthesis of SMs in *Alternaria dauci* including the phytotoxic polyketide aldaulactone. *Scientific Reports*, *12*(1), 1-20.
- Cruz, A. (2018). Identificación morfológica y molecular de cepas del hongo (*Alternaria dauci*) patógeno de la zanahoria (*Daucus carota* L.). *Aporte Santiaguino*, *11*(1), 21-30.
- Dasgupta, D., Kumar, K., Miglani, R., Mishra, R., Panda, A. & Bisht, S. (2021). Microbial biofertilizers: Recent trends and future outlook. *Recent Advancement in Microbial Biotechnology*, *4*(2), 1-26.
- Do, J., Min, J., Kim, Y., Park, Y. & Kim, H. (2020). Detection of fungicidal activities against *Alternaria dauci* causing *Alternaria* leaf spot in carrot and monitoring for the fungicide resistance. *Research in Plant Disease*, *26*(2), 61-71.
- Dong, W., Wang, B., Hyde, K., McKenzie, E., Raja, H., Tanaka, K., et al. (2020). Freshwater Dothideomycetes. *Fungal Diversity*, *105*(1), 319-575.
- Dorna, H., Rosińska, A. & Szopińska, D. (2021). The Effect of Acetic Acid Treatments on the Quality of Stored Carrot (*Daucus carota* L.) Seeds. *Agronomy*, *11*(6), 1176.
- Elansary, H., El-Ansary, D. & Al-Mana, F. (2019). 5-Aminolevulinic acid and soil fertility enhance the resistance of rosemary to *Alternaria dauci* and *Rhizoctonia solani* and modulate plant biochemistry. *Plants*, *8*(12), 585.
- Feichtmayer, J., Deng, L. & Griebler, C. (2017). Antagonistic microbial interactions: contributions and potential applications for controlling pathogens in the aquatic systems. *Frontiers in Microbiology*, *8*(2), 1-2192.

- Freire, M., Mussi, V., Mattoso, T., Henk, D., Mendes, A., Macedo, M., et al. (2017). Survey of endophytic *Alternaria* species isolated from plants in the Brazilian restinga biome. *IOSR Journal of Pharmaceutical and Biological Sciences*, 12(2), 84-94.
- Galindo, J. & Saboyá, J. (2020). *Zanahoria (Daucus carota L.): Manual de recomendaciones técnicas para su cultivo en el departamento de Cundinamarca*. Bogotá: Corredor Tecnológico Agroindustrial.
- Gayithri, M., Ahir, R., Yadav, P. & Meena, R. (2021). Effect of physical parameters on the growth of *Alternaria alternata* causing *Alternaria* leaf blight of carrot. *The Pharma Innovation Journal*, 10(11), 1078-1083. Recuperado de:
<https://www.thepharmajournal.com/archives/2021/vol10issue11/PartP/10-10-509-308.pdf>
- Hammamia, I., Hsouna, A., Hamdi, N., Gdoura, R. & Triki, M. (2013). Isolation and characterization of rhizosphere bacteria for the biocontrol of the damping-off disease of tomatoes in Tunisia. *Comptes Rendus Biologies*, 336(11), 557–564.
- Hardoim, R., Van, G., Berg, A., Pirttilä, S., Compant, A., Campisano, M., et al. (2015). "The hidden world within plants: ecological and evolutionary considerations for defining functioning of microbial endophytes." *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 79(3), 293-320.
- Hongsanan, S., Hyde, D., Phookamsak, R., Wanasinghe, N., McKenzie, H., Sarma, V. & Xie, N. (2020). Refined families of dothideomycetes: dothideomycetidae and pleosporomycetidae. *Mycosphere* 11(1), 1553–2107.

- Kgatle, M., Flett, B., Truter, M. & Aveling, A. (2020). Control of *Alternaria* leaf blight caused by *Alternaria alternata* on sunflower using fungicides and *Bacillus amyloliquefaciens*. *Crop Protection*, 132(4), 105- 146.
- Kour, D., Rana, K., Yadav, A., Yadav, N., Kumar, M., Kumar, V., et al. (2020). Microbial biofertilizers: Bioresources and eco-friendly technologies for agricultural and environmental sustainability. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 23(2), 101-487.
- Krishna, V., Suryawanshi, A. P., Prajapati, S. & Surekha, S. (2018). Effect of different culture media on growth and sporulation of *Alternaria dauci* causing carrot leaf blight. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(6), 1789-1792.
- Kumar, A., Droby, S., Singh, V., Singh, S. & White, J. (2020). *Entry, colonization, and distribution of endophytic microorganisms in plants. In Microbial endophytes*. New Jersey: Woodhead Publishing.
- Kumar, A., Dutta, R., Ajay, B. & Radhakrishnan, T. (2022). *Alternaria* leaf blight (*Alternaria* spp.)—an emerging foliar fungal disease of winter-summer groundnut (*Arachis hypogaea*): A review. *The Indian Journal of Agricultural Sciences*, 92(9), 1-15.
- Kumar, M., Saxena, R. & Tomar, R. (2017). *Endophytic microorganisms: promising candidate as biofertilizer. In Microorganisms for green revolution*. Singapore: Springer.
- Lareen, A., Burton, F. & Schäfer, P. (2016). "Plant root-microbe communication in shaping root microbiomes." *Plant Molecular Biology* 90(6), 575-587.
- Leyte, M., Richomme, P. & Peña, L. (2021). Diketopiperazines from *Alternaria dauci*. *Journal of the Mexican Chemical Society*, 64(4), 283-290.

- Leyte, M., Richomme, P., Poupard, P & Peña, L. (2020). Identification and Quantification of a Phytotoxic Metabolite from *Alternaria dauci*. *Molecules (Basel, Switzerland)*, 25(17), 40-60.
- Liu, X., Zhao, D., Ou, C., Hao, W., Zhang, Y., He, Y., et al. (2022). Draft Genome Sequence of Carrot *Alternaria* Leaf Blight Pathogen *Alternaria dauci*. *Plant Disease*, 6(4), 1-11.
- Marcuzzo, L. & Tomasoni, C. (2019). Development of a weather-based forecasting model for *Alternaria* leaf blight of carrot. *Summa Phytopathologica*, 45(4), 413-414.
- Mitter, B., Pfaffenbichler, N., Flavell, R., Compant, S., Antonielli, L., Petric, A., et al. (2017). A new approach to modify plant microbiomes and traits by introducing beneficial bacteria at flowering into progeny seeds. *Frontiers in Microbiology*, 8(2), 1-11.
- National Agricultural Statistics Service Information. (2016). State agriculture overview, Retrieved. <https://www.nass.usda.gov/>
- Ojito, K., Cupull, R. & Portal, O. (2020). Efecto sobre la microbiota del suelo de extractos de *Citrus* spp. con actividad antifúngica. *Centro Agrícola*, 47(4), 12-16.
- Orozco, M., Rocha, M., Glick, B. & Santoyo, G. (2018). Microbiome engineering to improve biocontrol and plant growth-promoting mechanisms. *Microbiological Research*, 4(2), 25–31.
- Qessaoui, R., Bouharroud, R., Furze, J., El Aalaoui, M., Akroud, H., Amarraque, A., et al., (2019). Applications of new rhizobacteria *Pseudomonas* isolates in agroecology via fundamental processes complementing plant growth. *Scientific Reports*, 9(1), 1-10.
- Que, F., Hou, X., Wang, L., Xu, S., Tan, F., Li, T. et al. (2019). Advances in research on the carrot, an important root vegetable in the Apiaceae family. *Horticulture Research*, 4(6), 10-

35.

Rodríguez, J., Cárdenas, M. & Jiménez, P. (2013). Especies de *Alternaria* de La Sabana de Bogotá, Colombia. *Revista Facultad de Ciencias Básicas*, 9(2), 228-247.

Rodríguez, K. (2022). *Biorremediación mediante Trichoderma spp., Pseudomonas fluorescens y Bacillus subtilis para reducir concentraciones de Cadmio en Espárrago*. Tesis de grado. Universidad Nacional Agraria la Molina. Lima, Perú.

Saboya, J. (2019). *Asistencia técnica y transferencia de tecnologías en el sistema productivo de zanahoria (Daucus carota), integrando la metodología participativa (PIPA) en el Municipio de Villapinzón Cundinamarca*. Tesis doctoral. Universidad Pontificia Bolivariana. Medellín, Colombia.

Santoyo, G., Moreno, G., Del Carmen Orozco, M. & Glick, B. (2016). Plant growth-promoting bacterial endophytes. *Microbiological Research*, 183(2), 92-99.

Sharma, M., Saini, I., Kaushik, P., Aldawsari, M, Al Balawi, T. & Alam, P. (2021). Mycorrhizal fungi and *Pseudomonas fluorescens* application reduces root-knot nematode (*Meloidogyne javanica*) infestation in eggplant. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 28(7), 3685-3691.

Tamosiune, I., Baniulis, D. & Stanys, V. (2017). Role of endophytic bacteria in stress tolerance of agricultural plants: diversity of microorganisms and molecular mechanisms. *Burkholderia Phytofirmans*, 72(2), 1-15.

Töfoli, J., Domingues, R. & Tortolo, P. (2019). Effect of various fungicides in the control of *Alternaria* Leaf Blight in carrot crops. *Brazilian Journal of São Paulo*, 81(2), 1-30.

- Vasileva, E., Akhtemova, G., Zhukov, V. & Tikhonovich, I. (2019). Endophytic microorganisms in fundamental research and agriculture. *Ecological Genetics*, 17(1), 19-32.
- Zafar, M., Abrar, M., Umar, M., Bahoo, M. & Ahmad, N. (2017). Screening of different carrot varieties against *Alternaria* leaf blight and its chemical management. *Researcher*, 9(2), 8-14.
- Zafar, M., Firdous, H. & Mushtaq, M. (2018). A review on *Alternaria* leaf blight of carrot. The *International Journal of Biological Research*, 4(2), 1-23.

Anexos

Anexo 1. Respuesta de la secretaria de agricultura de Norte de Santander

Realizada la consulta a la Secretaría de Agricultura y Desarrollo Rural del Departamento Norte de Santander, sobre el reporte de oferta agrícola más reciente, se obtuvo respuesta del Dr. Hermes Alfonso Rodríguez Quintero, Secretario de agricultura y desarrollo rural del Departamento, quien hace entrega del reporte de estadísticas agrícolas al año 2019, como último reporte (Anexo 1), reportes de cultivos permanentes (Tabla 1), transitorios semestre A (Tabla 2), y transitorios semestre B (Tabla 3).

Tabla de cultivos permanentes

| CULTIVO | ÁREA SEMBRADA (HAS) EN 31/12/2019 | COSECHADA (HAS) | RENDIMIENTO (TON/HAS) | PRODUCCIÓN (TON) | ESTADO DEL PRODUCTO | N-DE UNIDADES |
|-----------------|-----------------------------------|-----------------|-----------------------|------------------|---------------------|---------------|
| PIÑA | 206.0 | 192.5 | 34.7 | 6682.5 | FRESCO | 159.0 |
| FRESA | 235.0 | 195.0 | 29.5 | 5747.0 | FRESCO | 534.0 |
| PALMA DE ACEITE | 41224.0 | 37669.0 | 17.5 | 659192.0 | COBOZO | 2917.0 |
| PAPAYA | 171.0 | 156.0 | 15.1 | 2354.0 | FRESCO | 121.0 |
| CITRICOS | 409.1 | 369.2 | 14.5 | 5339.0 | FRESCO | 617.0 |
| CIRUELA | 135.0 | 91.0 | 14.4 | 1306 | FRESCO | 114.0 |
| MANGO | 33.5 | 31.9 | 14.0 | 446.5 | FRESCO | 197.0 |
| DURAZNO | 835.7 | 812.8 | 13.8 | 11246.0 | FRESCO | 501.0 |
| MARACUYÁ | 244.4 | 223.4 | 13.8 | 3084.3 | FRESCO | 207.0 |
| GULUPA | 18.0 | 16.0 | 12.4 | 198.0 | FRESCO | 21.0 |

Análisis en torno al rendimiento. 2022-1 Cultivos transitorios semestre a

| CULTIVO | ÁREA SEMBRADA (HAS) | COSECHADA (HAS) | RENDIMIENTO (TON/HAS) | PRODUCCIÓN (TON) | ESTADO DEL PRODUCTO | N-DE UNIDADES |
|-----------------------|---------------------|-----------------|-----------------------|------------------|---------------------|---------------|
| TOMATE DE INVERNADERO | 10 | 10 | 121.0 | 1215 | FRESCO | 34 |
| TOMATE | 1508.4 | 1499.7 | 41.6848436 | 62514.76 | FRESCO | 1255 |
| LECHUGA | 54 | 54 | 37.5925926 | 2030 | FRESCO | 172 |
| PATILLA | 10 | 10 | 35 | 350 | FRESCO | 5 |
| PAPA NEGRA | 1835 | 1774 | 22.2882831 | 38425 | FRESCO | 1202 |
| PEPINO COHOMERO | 136 | 136 | 20.7058824 | 2816 | FRESCO | 179 |
| ZANAHORIA | 100 | 104 | 20.63 | 2063 | FRESCO | 165 |
| MELÓN | 23 | 23 | 20.2 | 505 | FRESCO | 21 |
| CEBOLLA DE BULBO | 2046.2 | 2042.5 | 19.7011506 | 40239 | FRESCO | 2063 |
| PAPA CRIOLLA | 505 | 495 | 18.6707071 | 9737 | FRESCO | 471 |

Cultivos Transitorios Semestre B

| CULTIVO | ÁREA SEMBRADA (HAS) | COSECHADA (HAS) | RENDIMIENTO (TON/HAS) | PRODUCCIÓN (TON) | ESTADO DEL PRODUCTO | N-DE UNIDADES |
|------------------|---------------------|-----------------|-----------------------|------------------|---------------------|---------------|
| TOMATE DE INVER | 10 | 10 | 121.5 | 1215 | FRESCO | 24 |
| TOMATE | 1218.35 | 1209.45 | 40.6626285 | 49179.416 | FRESCO | 1236 |
| LECHUGA | 52 | 52 | 38.0769231 | 1980 | FRESCO | 173 |
| PATILLA | 10 | 10 | 35 | 350 | FRESCO | 5 |
| PAPA NEGRA | 1599 | 1590 | 23.7064748 | 32952 | FRESCO | 1140 |
| PEPINO COHOMERO | 118 | 105 | 20.4283714 | 2145 | FRESCO | 164 |
| CEBOLLA DE BULBO | 2166 | 2159.5 | 20.3174346 | 43875.5 | FRESCO | 2126 |
| ZANAHORIA | 161 | 149.5 | 20.0133779 | 2992 | FRESCO | 157 |
| MELÓN | 28 | 27 | 19.7592293 | 533.5 | FRESCO | 23 |
| AHUYAMA | 69 | 69 | 19.057971 | 1315 | FRESCO | 112 |