

Identificación del agente causal de la pudrición de raíz y corona en zarzamora cv. Tuppy y su control *in vitro*

Identification of the causal agent of the root and crown rot in blackberry cv. Tuppy and its *in vitro* control

Recepción del artículo: 27/02/2023 • Aceptación para publicación: 18/04/2023 • Publicación: 30/06/2023

● <https://doi.org/10.32870/ecucba.vi20.304>

Ma. Blanca Nieves Lara-Chávez*

Yurixhi Atenea Raya-Montaño

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez".

Laboratorio de Fitopatología. Uruapan, Michoacán. México

Patricio Apáez-Barrios

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Facultad de Ciencias Agropecuarias.

Apatzingán, Michoacán. México.

*Autor para correspondencia: blanca.lara@umich.mx

Resumen

La enfermedad conocida como pudrición radicular de zarzamora causa importantes pérdidas económicas. El objetivo fue identificar morfológica y patogénicamente hongos asociados a la pudrición de raíz y corona en *R. ulmifolius* cv. Tuppy, y su control *in vitro*. A partir de plantas con síntomas de la enfermedad recolectadas en el Ejido de San Juan de Dios, municipio de Los Reyes Michoacán. Se identificó al agente causal. Los fungicidas se emplearon en tres dosis (baja, media y alta), *Bacillus subtilis* 0.075, 0.150, 0.225 ml L⁻¹, Captan® 0.0125, 0.025, 0.0375 g L⁻¹, Cymoxanil® 30% + Famoxadona® 0.015, 0.03, 0.045 g L⁻¹, Azoxystrobin® 0.015, 0.03, 0.045 ml L⁻¹, Tiofanato Metílico® 0.025, 0.05, 0.075 g L⁻¹. La efectividad de los productos fue evaluada con la media del crecimiento del hongo, el diseño experimental fue completamente al azar y se aplicó un análisis de comparación de medias Tukey al 5% de probabilidad del error. La evaluación de la virulencia y severidad de los aislamientos fue determinada mediante pruebas de patogenicidad en plantas sanas. Los fitopatógenos identificados fueron; *Rhizoctonia* sp., y *Fusarium oxysporum*, todos los fungicidas ejercieron control en ambos fitopatógenos en diferente grado. Las pruebas de patogenicidad resultaron positivas al presentar los síntomas de la enfermedad.

Palabras clave: *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum*, *Rubus ulmifolius*.

Abstract

The disease known as blackberry root rot causes significant economic losses. The aim was to identify morphological and pathogenically fungus associated with root and crown rot in *R. ulmifolius* cv. Tuppy, and its *in vitro* control, from plants with symptoms of the disease collected in the common of San Juan de Dios, municipality of Los Reyes Michoacan. The causal agent was identified. The fungicides were used in three doses (low, medium, and high), *Bacillus subtilis* 0.075, 0.150, 0.225 ml L⁻¹, Captan® 0.0125, 0.025, 0.0375 g L⁻¹, Cymoxanil® 30% + Famoxadona® 0.015, 0.03, 0.045 g L⁻¹, Azoxystrobin® 0.015, 0.03, 0.045 ml L⁻¹, Tiofanato Metílico® 0.025, 0.05, 0.075 g L⁻¹. The effectiveness of the product was evaluated with the growth mean of the fungus, the experimental design was completely randomized, and it was applied a Tukey mean comparison analysis at 5% probability of error. The virulence assessment and the severity of isolations was determined by pathogenicity tests in healthy plants. The phytopathogens identified were *Rhizoctonia* sp., and *Fusarium oxysporum*, all fungicides exercised in both phytopathogens to different degree. The pathogenicity tests were positive when presenting symptoms of the disease.

Keywords: *Rhizoctonia* sp., *Fusarium oxysporum*, *Rubus ulmifolius*.

Introducción

México es el principal productor de zarzamora a nivel mundial, con 215,923.73 t cosechadas en 2020. En Michoacán se encuentran cultivadas aproximadamente 8,675.10 ha, en las que se cosechan anualmente 201,346.34 t, las cuales representan más del 95% de la producción nacional. El municipio de los Reyes en Michoacán es el que más aporta en producción, con 94,373 t en 3,546.00 ha, seguido por el municipio de Peribán con 43,102.6 t en 1,534.00 ha, Tacámbaro aporta 20,190.5 t en poco más de 1000 ha (SADER, 2020). Sin embargo en estas zonas productoras de Michoacán y otras áreas donde se cultiva la zarzamora sufre del ataque de diversos fitopatógenos durante todo su ciclo biológico, los hongos que causan pudrición en raíces, frutos, primocañas, hojas etc., son los más importantes, ya que ocasionan síntomas de marchitez y muerte de la planta, en los últimos años se ha incrementado el ataque de fitopatógenos que ocasionan incluso la pérdida total de áreas de producción, para el 2020 se reportó la pérdida de 1454 ha (SADER, 2020).

Uno de los Fitopatógenos de mayor importancia son especies del género *Fusarium*, causa grandes pérdidas económicas a los productores, es reportado en varios cultivos de importancia económica, como algodón (*Gossypium*), aguacate (*Persea americana* Miller), plátano (*Musa paradisiaca*), papa (*Solanum tuberosum*), tomate (*Solanum lycopersicum*), chile (*Capsicum annum*) y arándano (*Vaccinium corymbosum*), (Bhat *et al.*, 2010; Olalde-Lira *et al.*, 2017; Méndez, 2019; Olalde-Lira *et al.*, 2020). El efecto negativo en los cultivos puede llegar a ocasionar pérdidas económicas al provocar la muerte de las plantas en más del 50% del cultivo y si las condiciones son favorables para el desarrollo del hongo puede terminar con el cultivo completo (González *et al.*, 2002).

De igual forma *Rhizoctonia* sp., es una de las principales causas de pérdidas económicas, ya que provoca daños de hasta un 30 a 80% en las plántulas de zarzamora y pérdidas en el rendimiento de fruto de hasta el 30%. Además, puede afectar a cualquier planta, incluidas especies cultivadas, silvestres y ornamentales (Khangura *et al.*, 1999).

Estos fitopatógenos pueden persistir durante años, debido a que forman estructuras de resistencia capaces de durar entre 5 a 15 años y tienen un amplio rango de hospederos, lo que dificulta su control (Herrera y Samaniego, 2002). Debido a lo anterior el objetivo de esta investigación fue: Identificar morfológica y patogénicamente el agente causal de la pudrición de raíz y corona de plantas de zarzamora *Rubus ulmifolius* cv. Tuppy y su sensibilidad *in vitro* a funguicidas.

Materiales y Métodos

Sitio de muestreo

El muestreo de plantas enfermas de zarzamora se llevó a cabo en el huerto La Tabiguera del Ejido de San Juan de Dios, municipio de Los Reyes, Michoacán, el muestreo se dirigió hacia las plantas sintomáticas identificadas dentro del huerto, básicamente donde se observaron plantas con síntomas evidentes de daños de pudrición de raíz y fueron recolectadas, la altitud fue de 1300 m, (Gutiérrez *et al.*, 2010).

Aislamiento de los hongos

El aislamiento se hizo en el laboratorio a partir de las raíces de las plantas recolectadas en campo de acuerdo con el protocolo descrito por Agrios (2005), la técnica incluyó lavado y desinfección de los fragmentos de raíces y corona. A las plantas se les eliminó el follaje y únicamente se dejó la raíz y corona las cuales fueron lavadas con agua corriente del grifo, una vez que se les eliminaron todas las impurezas (suelo adherido, arena, etc.), se hicieron cortes de 3 mm de diámetro que incluían tanto tejido sano como enfermo, a continuación, se desinfectaron en una solución de hipoclorito de sodio al 3.3% durante 60 segundos, transcurrido este tiempo se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril, finalmente se secaron en papel estéril para eliminar el exceso de humedad y se sembraron 25 explantes de tejido por muestra en cajas Petri con medio de cultivo papa-dextrosa-agar PDA Bioxon® e incubados a 25°C. Una vez que se observó desarrollo de colonias de hongos que emergieron de los explantes y crecieron en el medio de cultivo fueron transferidas a partir de puntas de hifas a nuevas cajas conteniendo el mismo medio

de cultivo fueron transferidas a partir de puntas de hifas a nuevas cajas conteniendo el mismo medio de cultivo antes mencionado (PDA), se observaron dos aislados diferentes, tanto en el color de la colonia y velocidad de crecimiento los cuales fueron separados.

Caracterización cultural y morfológica

De cada uno de los aislados obtenidos se hizo la purificación tomando solo la punta de hifa del hongo con ayuda de un estereoscopio y bisturí previamente esterilizado y se transfirieron a cajas Petri con medio de cultivo PDA. Después que desarrollaron las colonias en cultivos puros, uno de ellos fue transferido al medio Spezieller Nährstoffarme Agar SNA, por presentar características del género *Fusarium* (Leslie *et al.*, 2006). El otro aislado fue caracterizado en el medio PDA, por presentar características similares para el género *Rhizoctonia*.

Para el género *Fusarium* la obtención de conidios fue de la siguiente manera; después de tres semanas de reposo en el medio SNA se tomaron discos de 5 mm de diámetro conteniendo el hongo y se colocaron en tubos de ensayo con 5 mL de agua destilada estéril, los tubos se agitaron para obtener una suspensión de conidios, se tomaron 25 μL y se depositaron al centro de una caja Petri con medio AA (Agua-Agar), la suspensión se distribuyó con ayuda de un asa bacteriológica previamente esterilizada y se incubó a 25°C por 24 h. Al término de la incubación de cada aislamiento se recuperaron los conidios en glicerol al 25%, y de esta suspensión se tomaron 20 μL y fueron transferidos a cajas Petri con PDA, para determinar las características culturales de las cepas se tomó en cuenta el tipo y espesor del micelio, color de la colonia y pigmentación del agar, de acuerdo a Kornerup y Wanscher (1978), así como presencia de macroconidios, microconidios clamidosporas e hifas enrolladas, se hicieron revisiones a los 15, 30 y 60 d (Barnet y Hunter, 1998; Leslie y Summerell, 2006).

Para el género *Rhizoctonia*, la caracterización macroscópica y microscópica de los aislados se compararon con las características descritas por para el género *Rhizoctonia* (Sneh *et al.*, 1998). También se realizó una descripción del crecimiento

de la colonia, color, forma, tasa de crecimiento, forma y tamaño de las estructuras reproductivas (Sneh *et al.*, 1998).

Tasa de crecimiento

Para determinar esta variable se utilizó una regla de plástico transparente graduada de 30 cm de largo, se midió el diámetro de las cepas cada 24 h, hasta el llenado de la primera caja. La tasa de crecimiento (mm) diario fue obtenida de la diferencia resultante entre el diámetro final, menos el diámetro inicial y dividido por el total de días evaluados, para el caso del género *Rhizoctonia* (Corpoica, 1999). Para el caso del género *Fusarium* se midió el diámetro de crecimiento a las 72 h.

La virulencia y severidad de los aislamientos fue determinada mediante pruebas de patogenicidad en plantas sanas de zarzamora cv. Tuppy.

Evaluación *in vitro* de la inhibición del crecimiento a fungicidas

Tratamientos en estudio y diseño experimental

Las dos cepas de los fitopatógenos aislados fueron confrontadas con cinco fungicidas en tres dosis (alta, media y baja). Los fungicidas y dosis fueron los siguientes, *Bacillus subtilis* 0.075, 0.150, 0.225 ml L⁻¹, Captan® 0.0125, 0.025, 0.0375 g L⁻¹, Cymoxanil 30% + Famoxadona 0.015, 0.03, 0.045 g L⁻¹, Azoxystrobin 0.015, 0.03, 0.045 ml L⁻¹, Tiofanato Metílico 0.025, 0.05, 0.075 g L⁻¹, más un testigo absoluto. Esto generó un total de 30 combinaciones de tratamientos. El testigo consistió en la aplicación solo de agua destilada estéril. Cada tratamiento tuvo ocho repeticiones, que dio un total de 240 unidades experimentales, la unidad experimenta fue un disco de papel filtro, y en total se colocaron cuatro discos de forma equidistante en la caja Petri y en el centro se colocó un disco de 10 mm del hongo. A cada disco se le agregó 50 μL de la solución de fungicida se colocaron cuatro discos de papel filtro impregnados con el fungicida por caja Petri (Dhingra y Sinclair 1985). Las cajas se sellaron e incubaron en la oscuridad a 25°C. Las cajas Petri se colocaron en un diseño experimental completamente al azar.

Variables respuesta

La efectividad de los fungicidas fue evaluada con la media del crecimiento del hongo, que fue medido cada 24 h con una regla graduada en cm. La medición terminó cuando el micelio del hongo tocó el disco de papel filtro de alguno de los puntos equidistantes de un tratamiento.

Análisis estadístico

Los datos de las variables de respuesta se sometieron a un análisis de varianza con el paquete estadístico SAS, versión 9.4 (SAS 2017), y a las variables que resultaron con diferencias estadísticas se les aplicó la prueba de comparación de medias de Tukey al 5% de probabilidad del error.

Resultados y discusión

Caracterización morfológica y cultural de los aislados

De los aislamientos realizados a partir del material con síntomas observados en las plantas de zarzamora (*Rubus ulmifolius* cv Tuppy), en medio nutritivo PDA se obtuvieron dos cepas con diferentes características.

En la primera cepa se desarrollaron colonias fúngicas no esporulantes de color gris claro hasta gris oscuro cuando envejecían con abundante micelio aéreo, flocooso y con estrías y círculos concéntricos, al inicio de la colonia de color blanco en el anverso y al reverso gris oliva en el centro y a medida que se desarrolla el color se vuelve más intenso hasta tornarse de color oscuro, tanto al anverso como al reverso, llenando el diámetro de la caja Petri en 7 d. En el microscopio, las estructuras observadas fueron: micelio blanco hialino al principio, septado con ángulos de 90°, a medida que envejece el micelio fue coloreado, el aislado presentó células monilioides, también se observaron abundantes esclerocios a los 40 d después de haber iniciado la caracterización, hifas del hongo con ramificaciones en la cercanía del septo distal de una célula y constricción en el punto de origen de la rama, las cuales se mostraron ligeramente comprimidas y en el punto de origen por encima de este sitio presentaban un septo. Hifas nucleadas, característica que ha sido utilizada para la identificación y descripción de especies del complejo *Rhizoctonia* (Parmeter *et al.*, 1970)

(no se observaron multinucleadas, característica de *R. solani*). Sin embargo, este carácter no es confiable puede ser variable de acuerdo con González (2008) ya que puede ser influenciado por la edad de la colonia, medio nutritivo en el cual se desarrolle y temperatura, inclusive especies de un mismo género o entre aislamientos de una misma especie (Parmeter *et al.*, 1970). Además de estas características, se observó la presencia de hifas enrolladas y cuerpos H, ambas no se han reportado en la literatura para el complejo *Rhizoctonia*.

Las hifas enrolladas al parecer están formadas por prosénquima (micelio que no ha perdido su individualidad); es importante señalar que estas estructuras son diferentes a los esclerocios. El desarrollo de los esclerocios de las especies del género *Rhizoctonia* se lleva a cabo mediante la agrupación de las células monilioides que se van agrupando, dividiendo y ramificando, dando como resultado masas de células, donde hay un cambio en la pigmentación y el tamaño de las hifas; inicialmente son claras, aseptadas, un poco onduladas y delgadas, después se sepan repetidamente, observándose posteriormente estructuras semejantes a las clamidosporas en cadenas intercalares terminales, el diámetro de las hifas aumenta y son más coloreadas que el resto del micelio, formando los esclerocios de color oscuro y tamaño variable dependiendo de la especie (Parmeter, 1970; Parmeter *et al.*, 1970) (Figura 1).

En lo que se refiere a los cuerpos “H”, este carácter difiere de la anastomosis, porque en este último caso es capacidad que tienen las hifas para fusionarse unas con otras (Sneh *et al.*, 1998). Sin embargo, la anastomosis tampoco es un carácter determinante para llegar hasta la identificación de las especies debido a que también puede variar si los aislados se cambian de un medio nutritivo a otro o se hacen constantes transferencias, con lo que se pierde esta capacidad (Sharon *et al.*, 2008). La tasa de crecimiento fue de 43 cm a los 5 d.

La segunda cepa, en el medio nutritivo PDA, se observaron colonias con crecimiento radial, micelio aéreo algodonoso de color ligeramente lila a blanco amarillo, al reverso de la caja amarillo claro a beige con manchones de lila fuerte, con un patrón de crecimiento que llenó a los 10 d el diámetro total de la caja Petri. En las preparaciones se observaron al microscopio abundantes clamidosporas, microconidios

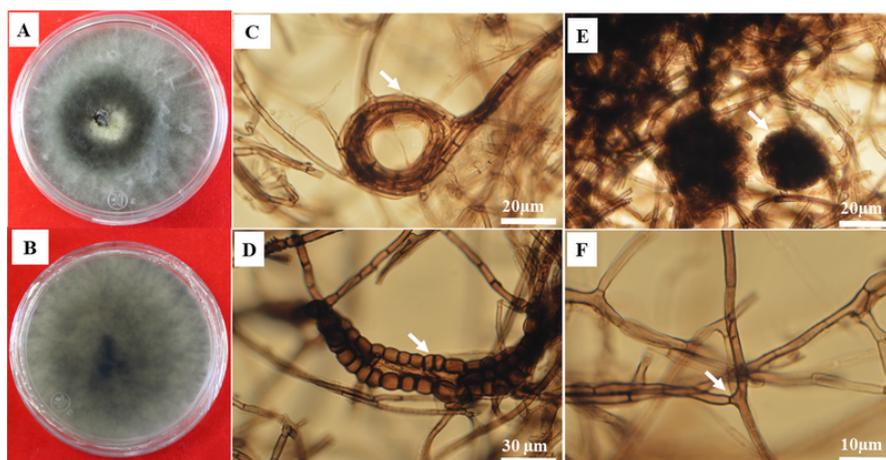


Figura 1. Morfología de *Rhizoctonia* sp., en medio nutritivo PDA. A) Cepa anverso; B) Cepa reverso; C) Hifa enrollada; D) Células moniloides; E) Esclerocios; F) Ángulos de 90°.

y macroconidios, estos últimos con tres a más septos rectos a ligeramente curvados, en forma de canoa, microconidios con uno a dos septos o sin septos, características que corresponden a las descritas para el género *Fusarium* por Tousson y Nelson (1979), Barnett y Hunter (1998) y Leslie y Summerell (2006), con estas características se identificó la especie *Fusarium oxysporum* (Schlechtendahl) Snyder & Hansen, ocasionando la pudrición de corona y raíz. Las especies del género *Fusarium* son fitopatógenos en variedad especies de plantas de importancia económica, ocasionando daños principalmente en la raíz, son considerados como hongos vasculares (Bosland, 1998). La tasa de crecimiento en el medio nutritivo PDA fue de 13.5 mm a las 72 h (Figura 2).

Evaluación *in vitro* de la inhibición del crecimiento de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia* spp. a fungicidas

El estudio de sensibilidad *in vitro* de los fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia* sp., mostraron variación. El análisis de varianza realizado con los datos obtenidos indicó diferencias estadísticas significativas entre dosis de los fungicidas evaluados, como se indica a continuación:

Para *Rhizoctonia* sp., el análisis de varianza detectó diferencia altamente significativa ($p \leq 0.0001$) fluctuó entre 0.7125 y 0.268 cm indicando que todos los productos en alguna de sus tres dosis ejercieron control sobre el crecimiento del micelio (Figura 3).

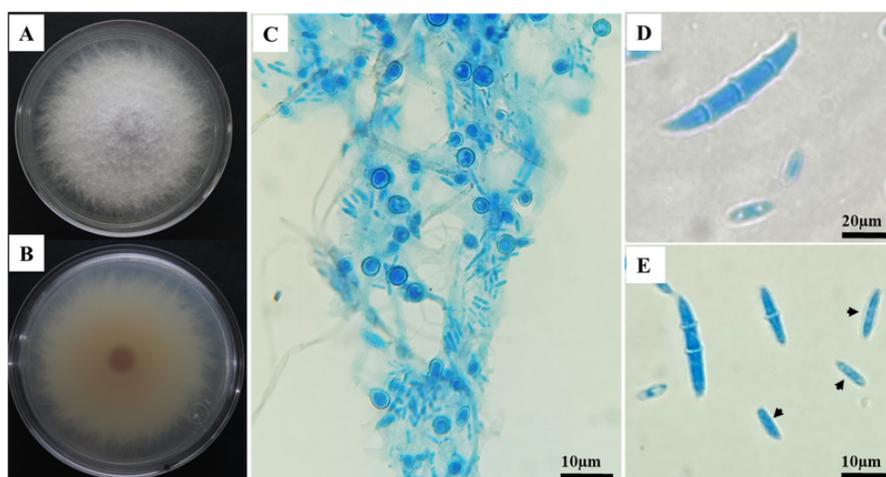


Figura 2. Morfología *Fusarium oxysporum*, observada en medio PDA. A) Cepa anverso; B) Cepa reverso; C) Clamidosporas; D) Macroconidios; E) Microconidios.

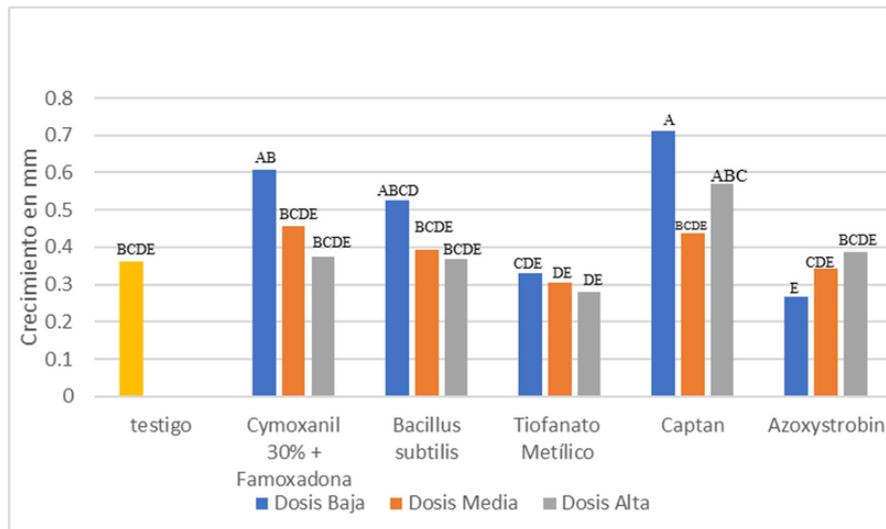


Figura 3. Efecto de fungicidas sobre la inhibición en el crecimiento del micelio de *Rhizoctonia* sp. Medias con una letra diferente sobre cada barra son estadísticamente diferentes (Prueba de Tukey $p \leq 0.05$).

El análisis de varianza para el hongo *Fusarium oxysporum* detectó diferencia altamente significativa ($p \leq 0.0001$) a los fungicidas evaluados. La inhibición del crecimiento micelial de este hongo fluctuó entre 0.129 y 0.546 cm, todos los fungicidas presentaron inhibición en el desarrollo del micelio de este fitopatógeno, la media más baja se obtuvo con el captan en su dosis baja (0.129) (Figura 4).

Fusarium oxysporum es una de las especies que considera muy severa y virulenta, invade las raíces de sus hospederos y ocasiona el síntoma de marchitez por la colonización del tejido xilemático, cuando el daño está muy avanzado produce la muerte de las plantas afectadas. Su manejo requiere

de la combinación de varios métodos que incluyen entre otros el químico.

EL resultado se relaciona con lo indicado por Nasir *et al.* (2011) quienes señalan que obtuvieron buenos resultados en la inhibición *in vitro* del micelio de *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris* con los fungicidas; Benomy, Ridomil, Derosal, Cabriotop, Prevent y Vitavax en diferentes dosis y fueron eficaces para inhibir el crecimiento del micelio de *F. oxysporum* f.sp. *ciceris*, concluyen que los fungicidas que destacaron fueron; Derosal, Benomyl y Vitavax con la mayor disminución del crecimiento micelial. De igual manera también se ha reportado la efectividad con los fungicidas Fosetyl aluminio, Imazalil, Procloraz, Benomilo y

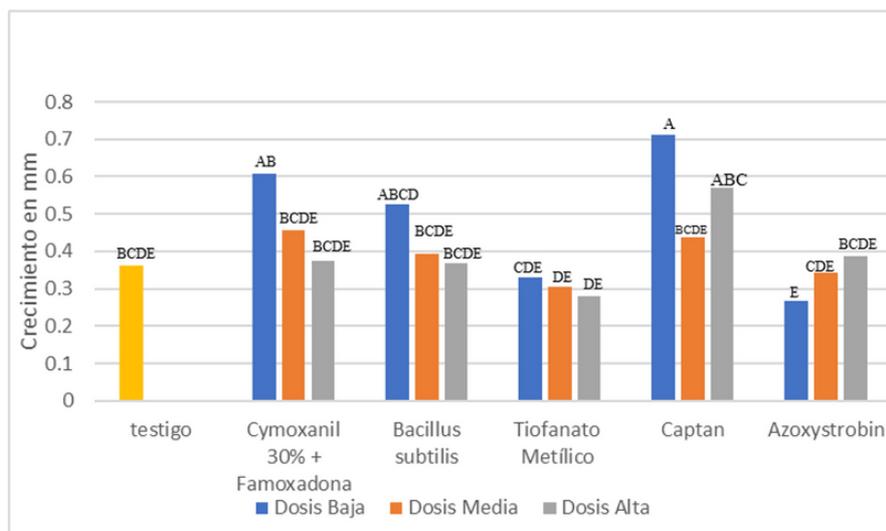


Figura 4. Efecto de fungicidas sobre la inhibición en el crecimiento del micelio de *Fusarium oxysporum*. Medias con una letra diferente sobre cada barra son estadísticamente diferentes (Prueba de Tukey $p \leq 0.05$).

Tiabendazol para inhibir el crecimiento *in vitro* del micelio de *Fusarium solani* y *F. oxysporum* con buenos resultados no permitiendo su crecimiento (Herrera *et al.*, 2011; López *et al.*, 2005)

La efectividad comparativa del Captan con otros fungicidas en la inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium* spp. *F. solani* lo han reportado con buenos resultados González-Álvarez (2015), Padvi *et al.* (2018) y Wazir *et al.* (2013) con 30 y 40% de efectividad, los resultados en nuestro estudio indicaron que el Captan en sus tres dosis tuvo un buen efecto inhibitorio sobre el crecimiento del micelio de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia* sp., estos resultados pueden deberse a que el Captan es un producto de contacto que evita la germinación de la espora y al estar en contacto con el micelio que es una parte del hongo tiene el mismo efecto por ser de contacto, normalmente se recomienda como un fungicida preventivo para el control de estos y otros hongos fitopatógenos.

Por su parte Pérez *et al.* (2019) y Lozano *et al.* (2015) reportan el efecto negativo de *Bacillus subtilis* solo y combinado con Fus out en la inhibición micelial de *F. oxysporum*, *Fusarium* spp. *Phytophthora capsici* Leonian, *Rhizoctonia* spp., y *Rhizoctonia solani* Kühn, resultados que difieren de los obtenidos en nuestra investigación debido a que si obtuvimos inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia* sp., con las tres dosis probadas, sin embargo, cabe mencionar que el control fue más eficaz en *Rhizoctonia* sp., ya que en *F. oxysporum* permitió mayor crecimiento del micelio y fue diferente al Captan que presentó medias de crecimiento menores en *F. oxysporum* comparadas con *Bacillus subtilis*.

El Azoxystrobin se recomienda de manera preventiva antes de que se produzca la infección por *Rhizoctonia* spp., en sus hospederos con buenos resultados, Khan y Bolton (2010) mencionan que para el control de *Rhizoctonia* sp., el Azoxystrobin y el Protiocanazol proporcionan un control eficaz de la enfermedad si se usa como preventivo (Rotam, 2016; SYNGENTA, 2017).

En el control de la pudrición del cogollo de la palma de aceite ocasionado por *Phytophthora palmivora* se observaron buenos resultados en la disminución de la enfermedad con aplicaciones de Cimoxanil + Famoxadone + Mancozeb el porcentaje de plantas sanas fue de 50% en comparación cuando se aplicó Azoxystrobin + Mancozeb, Kasugamicina + Mancozeb

Metalaxil + Mancozeb, Fosetil Al + Mancozeb la disminución de la enfermedad fue menor de 40%, estos autores recomiendan el uso de Cimoxanil + Famoxadone + Mancozeb para disminuir el inoculo de *Phytophthora palmivora* (Noreña *et al.*, 2011). Garófalo y Macmillan (1999) afirman que los ingredientes activos Cimoxanil + Famoxadone + Mancozeb son eficientes en el control de *Phytophthora palmivora*. Nuestros resultados fueron similares a los obtenidos por Noreña *et al.* (2011) cuando se aplicó solo el Cimoxanil en la inhibición del micelio de *Rhizoctonia* sp., hubo una disminución en el crecimiento micelial en la dosis media y alta de 0.3 y 0.4 mm respectivamente, comparado con la dosis baja del Captan que presentó poco control en el crecimiento del micelio con una media de 0.8 mm.

Es importante señalar que *F. oxysporum* es un fitopatógeno que adquiere resistencia con el uso continuo de fungicidas en especial cuando se usa la misma molécula por lo que se le debe dar un buen manejo de control combinando varias estrategias y así evitar que el inóculo aumente en el suelo no se recomienda plantar en estas áreas cultivos altamente susceptibles a este fitopatógeno debido a que los productos que se emplean comúnmente pueden ser poco eficaces para su control, por esa razón es recomendable siempre estar rotando los productos fungicidas para mejorar su efectividad (Elmer, 2006; Nel *et al.*, 2007; Michelse *et al.*, 2009).

El manejo de la enfermedad causada por *F. oxysporum* debe ser preventivo, debido a que no se tiene un control absoluto cuando las plantas están enfermas, los fungicidas que se emplean comúnmente no controlan cuando ya está presente la enfermedad por lo que es mejor prevenir la infección dándole un buen manejo al cultivo (Elmer, 2006; Nel *et al.*, 2007; Michelse *et al.*, 2009). *F. oxysporum* es un habitante del suelo y ahí puede sobrevivir por largos periodos de tiempo en forma de estructuras de resistencia llamadas clamidosporas (Ploetz, 2015). En cambio, *Rhizoctonia* sp., hay fungicidas que proporcionan un control eficaz de la enfermedad, siempre y cuando se apliquen antes de que se produzca la infección, como un enfoque preventivo (Jacobsen *et al.*, 2004; Khan *et al.*, 2010).

Todos los fungicidas empleados en esta investigación tuvieron buenos resultados para el control de *F. oxysporum* en alguna de sus dosis, es importante señalar que el Captan es un producto de contacto que evita la germinación de la espora. Normalmente evita

la germinación de la espora. Normalmente se recomienda como un fungicida preventivo. En *Rhizoctonia* sp., también se observó buen control con todos los fungicidas en cuanto al crecimiento micelial en alguna de sus dosis.

Pruebas de patogenicidad

Las pruebas de patogenicidad resultaron positivas al presentar los síntomas de la enfermedad observados en campo (Figura 5), esto indica que los fitopatógenos aislados son los responsables de la enfermedad. Estos resultados coinciden con los reportados por Kyyappurath *et al* (2016) y Gaetan *et al* (2007) quienes observaron que *Fusarium oxysporum* ocasiona decaimiento general, clorosis y necrosis en los tallos de espárragos. Por otra parte, Tomoika *et al.* (2011) reporta que *Fusarium solani* en lisianthus (*Eustoma grandiflorum*), produjo además de marchitez, defoliación y posterior muerte de la planta. Figueroa-Rivera *et al.* (2010) mencionan que, de un conjunto de especies de *Fusarium* aisladas de maíz, *F. subglutinans* y *F. verticilloides* fueron más patógenas y produjeron síntomas similares a los observados en este estudio al inicio.

Conclusiones

De los síntomas de pudrición café de raíz y corona de plantas de zarzamora *Rubus ulmifolius* cv Tuppy se aislaron e identificaron los hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia* sp., como responsable del síntoma y muerte de las plantas.

Los fungicidas evaluados para el control de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia* sp., presentaron efectividad en la inhibición del crecimiento micelial en ambos fitopatógenos al menos en una de sus dosis. Los resultados obtenidos en esta investigación con los cinco fungicidas (Bacillus subtilis, Captan®, Cymoxanil, Azoxystrobin y Tiofanato Metílico) en tres dosis confrontados in vitro con los dos hongos fitopatógenos *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia* sp., pueden ser explicados por diferentes factores, incluyendo el ciclo de vida de cada uno de los hongos, el más importantes es la formación estructuras de resistencia, su respuesta en presencia del hospedero y de las condiciones del medio ambiente necesarias para que se produzca la infección, conocimiento que se debe de tomar en cuenta cuando se trate de controlar una enfermedad fungosa, también es importante tomar en cuenta el método de control debido a que aun cuando algunas enfermedades se controlen con un solo método, en ocasiones es necesario la combinación de varios para poder tener un control más eficiente, pero no se debe olvidar tomar en cuenta todos los factores bioquímicos que interactúan con los componentes propios de cada individuo y el agente controlador (fungicida y/o agente de biocontrol).

Agradecimientos

Los autores agradecen a la coordinación de Investigación Científica “CIC” de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo por el financiamiento otorgado a través del proyecto de Investigación aprobado con fecha 30 de noviembre de 2022.

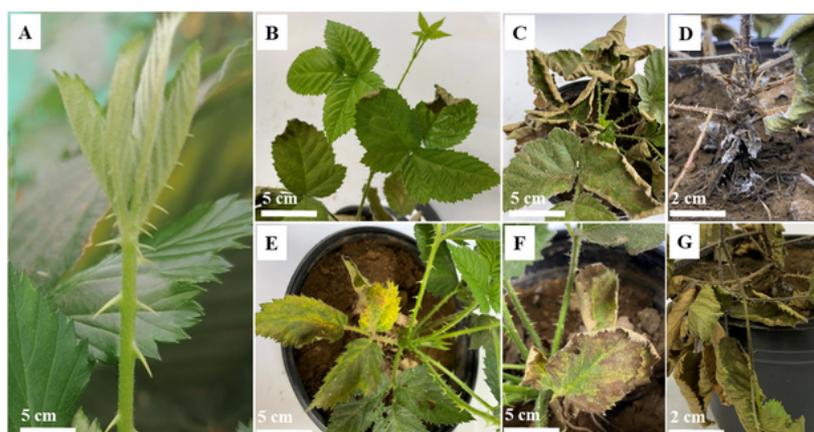


Figura 5. Síntomas observados en pruebas de patogenicidad en plantas de zarzamora cv Tuppy inoculadas con los fitopatógenos aislados de campo. A) Testigo sin inocular; B, C y D) síntomas producidos por el hongo fitopatógeno *Rhizoctonia* sp.; E, F y G) síntomas ocasionados por *Fusarium oxysporum*.

Literatura citada

- Agrios, G.N. (2005). *Plant Pathology*. (5ta Ed) Elsevier, USA.
- Barnett, H.L. y B.B. Hunter. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi*. The American Phytopathological Society Second printing.
- Bhat, R., V.R. Ravishankar y A.A. Karin. (2010). Mycotoxins in food and feed: present status and future concerns. *National Library of Medicine*, 9(1), 57-81. DOI: 10.1111/j.1541-4337.2009.00094.x.
- Bosland, P.W. (1988). Fusarium oxysporum pathogen of many plant species. *Advances in Plant Pathology*, 6, 281-289. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-033706-4.50023>
- Corpoica. (1999). *Estudios Biológicos y epidemiológicos de la antracnosis del tomate de árbol y generación de alternativas para su manejo integrado en Colombia*. Santa Fé de Bogotá D.C.
- Dhingra, O. y J. Sinclair. (1985). *Basic plant pathology methods*. CRC pres. Boca Raton, Florida 417 pp.
- Elmer, W.H. (2006). Effects of acibenzolar-S-methyl on the suppression of fusarium wilt of cyclamen. *Crop Protection*, 25(7), 671-676. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2005.09.010>.
- Figueroa-Rivera, M. G., R. Rodriguez-Guerra, B.Z. Guerrero-Aguilar, M.M. González-Chavira y J.L. Pons-Hernández. (2010). Caracterización de especies de Fusarium asociadas a la pudrición de raíz de maíz en Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, (2)28, 124-134.
- Gaetan, S.A., M.S. Madia y A. Perez. (2007). Recent outbreak of Fusarium Crown an root rot caused by Fusarium solani in marjoram in Argentina. *Australian Plant Disease Notes*, (1)2, 15-16. <https://doi.org/10.1071/DN07006>
- Garófalo, J. y Jr, J. R. McMillan. (1999). La pudrición de la yema por *Phytophthora* en palmas del sur de Florida. Hoja informativa, 91. University of Florida Cooperative Extension Service. Miami Dade.
- González, M.M., I. Torres. y H. Guzmán. (2002). Patógenos involucrados en la marchitez del chile. *Proceedings of the 16th International Pepper Conference*. Tampico, Tamaulipas, México. 1-3 pp.
- González-Álvarez, M., S. Moreno-Limón, S.M. Salcedo-Martínez y E.C. Pérez-Rodríguez. (2015). Evaluación *in vitro* de la actividad antifúngica de extractos de agave (*Agave scabra*, Salm Dyck) sobre hongos postcosecha. *Phyton* (Buenos Aires), 84(2), 427-434.
- González, G.M. (2008). Aspectos de sistemática y biológica del complejo *Rhizoctonia*. *Fitosanidad*, (3)12, 147-159.
- Gutiérrez, C.M., Ma.B.N. Lara-Chávez, H. Guillén-Andrade y A.T. Chávez-Bárceñas. (2010). Agroecología de la Franja aguacatera en Michoacán, México. *Interciencia*, (9)35, 847-653.
- Herrera, P.T., y J.A.G. Samaniego. (2002). *Enfermedades del nogal*. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Instituto Nacional de Investigación Regional Centro Norte. Campo Experimental La Laguna. Matamoros, Coahuila, México. 177-206.
- Herrera, P.E., P.I.M Bacab, A.J. Cristóbal, S.J.M. Tun y S.E. Ruíz. (2011). Patogenicidad de *Fusarium solani* (Mart.) Sacc. y *Alternaria alternata* (Fries) Keissler en *Thevetia peruviana* (Pers.) K. Schum. y su control *in vitro*. *Fitosanidad*, 15(4), 231-236.
- Jacobsen, B., K. Kephart, N. Zidack, M. Johnston y J. Ansley. (2004). Effect of fungicide and fungicide application timing on reducing yield. *Sugarbeet Research and Extension Reports*. 35: 224 pp.
- Khan, M.F.R. y M. Bolton. (2010). Management of *Rhizoctonia* root and crown rot of sugarbeete. *Plant Disease*. NDSU Extension Service. University of Minnesota. Recuperado de <https://www.ndsu.edu/agriculture/ag-hub/publications/management-rhizoctonia-root-and-crown-rot-sugarbeet>
- Khangura, R.K., M.J. Barbetti y M.W. Sweetingham. (1999). Characterization and Pathogenicity of *Rhizoctonia* Species on Canola. *Plant Disease*. (8) 83: 714-721.
- Kornerup, A. y J.H. Wanscher. (1978). *Methuen Handbook of Colours*. (3ra Ed). Eyre Methuen, London Lightner D.V. & Fontaine C.T. 252 pp.

- Koyyappurath, S., T. Atuahiva, L.R. Guen, H. Batina, S.L. Squin, N. Gautheron, V.E. Hermann J. Peribe, M. Jahiel [...] y M. Grisoni. (2016). *Fusarium oxysporum* f. sp. radice-vanillae is the causal agent of root and stem rot of vainilla. *Plant Pathology*, 65: 612-625. <https://doi.org/10.1111/ppa.12445>
- Leslie, J.F. y B.A. Summerell. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing. Iowa. USA.
- López, B.A.B., S.R. López, M.E. Vázquez-Badillo, H.S.A. Rodríguez, E.M. Mendoza y C.E. Padrón. (2005). Inhibición del crecimiento micelial de *Fusarium oxysporum* Schlechtend f. sp. *lycopersi* (Sacc) Snyder y Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn y *Verticillium dahliae* Kleb mediante extractos vegetales acuosos. *Revista Mexicana de Fitopatología*, (2)23, 183-190.
- Lozano, A.N., R.A. Guzmán-Plazola, M.E. Zavaleta, R.V.H. Aguilar y E.V. Ayala. (2015). Etiología y evaluación de alternativas de control de la marchitez del chile de árbol (*Capsicum annum* L.) en La Vega de Metztlán, Hidalgo, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*, (1)33, 31-53.
- Michielse, B.C. y M. Rep. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology*, (3)10, 311-324. <https://doi.org/10.1111/J.1364-3703.2009.00538.X>
- Nasir, M:S., S.S. Talib. S. Hussain, A. Ali, J. Iqbal, K. Hameed. (2011). Evaluation of various fungicides for the control of gram wilt caused by *Fusarium oxysporum* f.sp. *ciceris*. *African Journal of Agricultural Research*, 6(19), 4555-4559. <https://doi.org/10.5897/AJAR11.767>
- Nel, B., C. Steinberg, N. Labuschagne y A. Viljoen. (2007). Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of *Fusarium* wilt of banana. Hietala, A. M. R. Recuperado de <https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300743867>
- Noreña, C., H. Aya, L. Lemus, G. Torres, F. Varón y G. Martínez. (2011). Evaluación de tratamientos químicos y prácticas culturales para el manejo de la Pudrición de cogollo (PC) de la palma de aceite en plantas de vivero, en Tumaco. *Palmas*, (2)32, 27-32.
- Olalde-Lira, G.G., M.Y.A. Raya, A.P. Patricio, M. Vargas-Sandoval, S.M.E. Pedraza, T. Raymundo, V. Ricardo y Ma.B.N. Lara-Chávez. (2020). Characterization of *Fusarium* spp., a Phytopathogen of avocado (*Persea americana* Miller var. *drymifolia* (Schltdl. and Cham.)) en Michoacán, México. *Rev. FCA UNCUY*, 52(2), 301-316.
- Olalde-Lira, G.G., M. Vargas-Sandoval, T. del C. Ávila-Val, P. Delgado-Valerio y Ma.B.N. Lara-Chávez. (2017). Caracterización Molecular del agente causal de la secadera del gladiolo (*Gladiolus grandiflorus* Hort). *Agro productividad*, 12 (10), 85-90. <https://doi.org/10.32854/agrop.v14i2.1972>
- Padvi, S.A., D. G. Hingole y P.B. Khaire. (2018). *In vitro* efficacy of fungicides against *Fusarium solani* incited by dry root rot of sweet Orange. *Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry*, 7(4), 3270-3273.
- Parmeter, J.R. (1970). *Rhizoctonia solani. Biology and Plant Pathology*. Universidad de California. Press, Berkeley.
- Parmeter, J.R. y H.S. Whitney. (1970). *Taxonomy and nomenclature the perfect stage in Rhizoctonia solani, Biology and pathology*. En Parmeter, Jr. J. R. Ed. University of California Press Berkeley, California. (pp. 1-19).
- Pérez, R.L.R., L. Pérez-Moreno, R. Guzmán-Mendoza, D. Sanzón-Gómez y J.R. Belmonte-Vargas (2019). Sensibilidad in vitro de hongos fitopatógenos causantes de enfermedades en fresa a controladores biológicos y fungicidas, en el estado de Guanajuato, México. *Acta Universitaria*, 29, 1-11. <https://doi.org/10.15174/au.2019.2339>
- Ploetz, R.C. (2015). Management of *fusarium* wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. *Crop Protection*, 73, 7-15. <https://doi.org/10.1016/j.cropro.2015.01.007>
- Rotam. (2016). Ficha técnica Azoxystrobin. Recuperado de https://www.rotam.com/andina/UserFiles/ufyht o/image/products/fungicida/FT_Quattro_250_SC.pdf
- SADER. (2020). *Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera*. Recuperado de <https://nube.siap.gob.mx/cierreagricola/>.

- SAS Statistical Analysis Systems. (2017). SAS/STAT User's guide, version 9.4. SAS Institute Inc. North Caroline, USA.
- Sharon, M., S. Baruch, S. Kuniniga, H. Mitsuro y S. Naito. (2008). Classification of *Rhizoctonia* spp. using rDNA-ITS sequence analysis supports the genetic basis of the classical anastomosis grouping. *Mycoscience*, 49, 93-114. <https://doi.org/10.1007/S10267-007-0394-0>
- Sneh, B., L. Burpee y A. Ogoshi. (1998). *Identification of Rhizoctonia species*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA.
- SYNGENTA. (2017). *Ficha Técnica AMISTAR*. Recuperado de <https://www.syngenta.co.uk/product/crop-protection/fungicide/amistar>.
- Tomoika, K., Y. Hirooka, A. Takezaki, T. Aoiki y T. Sato. (2011). Fusarium root rot of praire gentian caused by species belonging to the *Fusarium solani* species complex. *Journal of General Plant Pathology*, 77,132-135. <https://doi.org/10.1007/s10327-011-0295-0>
- Tousson, T.A. y P.E. Nelson. (1979). *Pictorial guide to the to the identification of Fusarium species*. (2da Ed). Pennsylvania State University Press. University Park, Pennsylvania.
- Wazir, A.M., S.M. Ghulam, A.A. Abul-Soad A.M. Lodhi y A.J., Mushtaque. (2013). Chemical control of sudden decline disease of Date palm (*Phoenix dactylifera* L.) in Sindh, Pakistan. *Pak. Journal Botany*, 45(51), 7-11.