



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE FITOTECNIA

INSTITUTO DE HORTICULTURA

SUSCEPTIBILIDAD DE GERMOPLASMA NATIVO DE *Rubus* spp. a *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*.

TESIS

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

Presenta:

LAURA DINORAH MANZANO SÁNCHEZ



Bajo la supervisión de:

DR. ALEJANDRO F. BARRIENTOS PRIEGO

Texcoco, Estado de México, 14 de junio de 2021



**SUSCEPTIBILIDAD DE GERMOPLASMA NATIVO DE *Rubus spp.* a
Fusarium oxysporum f. sp. *mori*.**

Tesis realizada por **LAURA DINORAH MANZANO SÁNCHEZ**, bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN HORTICULTURA

DIRECTOR



Dr. Alejandro F. Barrientos Priego

CO-DIRECTOR



Dr. Santos Gerardo Leyva Mir

ASESOR



Dr. Juan Porfirio Legaria Solano

ASESOR EXTERNO



Dr. Erik Acuayte Valdez

Texcoco, Estado de México, 14 de junio de 2021

CONTENIDO

LISTA DE CUADROS	vi
LISTA DE FIGURAS	vii
DEDICATORIA	viii
AGRADECIMIENTOS	ix
DATOS BIOGRÁFICOS.....	x
RESUMEN GENERAL	xi
ABSTRACT	1
INTRODUCCIÓN GENERAL	2
1 Revisión de literatura	7
1.1 Generalidades de la zarzamora.....	7
1.1.1 Taxonomía	7
1.1.2 Morfología	8
1.1.3 Distribución del género <i>Rubus</i> spp.....	9
1.2 La Producción de zarzamora	9
1.2.1 Enfermedades	11
1.2.2 El género <i>Fusarium</i>	12
1.2.3 <i>Fusarium Oxysporum</i> f. sp. <i>mori</i>	13
1.3 Métodos descriptivos aplicados	14
1.3.1 Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad.....	14
1.3.2 Polígono CIELAB	15
1.4 Literatura citada	17
2 SUSCEPTIBILIDAD DE 13 ACCESIONES DE <i>Rubus</i> spp. A <i>fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>mori</i> Y AJUSTE DE POLÍGONO CIELAB PARA CUANTIFICAR SEVERIDAD	23
2.1 Resumen	23

2.2	Abstract.....	24
2.3	Introducción	25
2.4	Materiales y métodos.....	26
2.4.1	Localización geográfica.....	26
2.4.2	Accesiones de <i>Rubus</i> spp evaluadas.....	26
2.4.3	Cepa de <i>Fusarium oxysporium</i> f. sp. <i>mori</i>	27
2.4.4	Diseño del escrutinio y unidad experimental	27
2.4.5	Multiplicación de la cepa de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>mori</i>	28
2.4.6	Inoculación de la cepa de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>mori</i> en las accesiones de <i>Rubus</i> spp.....	28
2.4.7	Escrutinio de las accesiones de <i>Rubus</i> spp inoculadas con <i>F.oxysporum</i> f. sp. <i>mori</i>	29
2.4.8	Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad de 12 accesiones <i>Rubus</i> spp nativas del suroeste y centro de México y una variedad comercial.....	29
2.4.9	Determinación de polígono CIELAB.....	29
2.5	Resultados y discusión	33
2.6	Literatura citada	36
3	CUANTIFICACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE 12 ACCESIONES DE <i>RUBUS</i> SPP A LA MARCHITEZ CAUSADA POR <i>FUSARIUM</i> MEDIANTE ABCPE Y EL POLÍGONO CIELAB	¡Error! Marcador no definido.
3.1	Resumen	¡Error! Marcador no definido.
3.2	Abstract.....	¡Error! Marcador no definido.
3.3	Introducción	¡Error! Marcador no definido.
3.4	Materiales y métodos.....	¡Error! Marcador no definido.
3.4.1	Localización geográfica.....	¡Error! Marcador no definido.
3.4.2	Accesiones de <i>Rubus</i> spp. evaluadas.....	¡Error! Marcador no definido.
3.4.3	Purificación y multiplicación de cepa <i>F. o. f. sp. mori</i>	¡Error! Marcador no definido.

3.4.4	Diseño experimental.....	¡Error! Marcador no definido.
3.4.5	Multiplicación de las accesiones de <i>Rubus</i> spp. ...	¡Error! Marcador no definido.
3.4.6	Multiplicación de la cepa de <i>F.oxysporum</i> f. sp. <i>mori</i>	¡Error! Marcador no definido.
3.4.7	Inoculación de la cepa de <i>F. oxysporum</i> f. sp. <i>mori</i> en las accesiones de <i>Rubus</i> spp.....	¡Error! Marcador no definido.
3.4.8	Variables evaluadas en las accesiones de <i>Rubus</i> spp.....	¡Error! Marcador no definido.
3.4.9	Escrutinio de las accesiones de <i>Rubus</i> spp. inoculadas con <i>F.oxysporum</i> f. sp. <i>mori</i>	¡Error! Marcador no definido.
3.5	Resultados y discusión	¡Error! Marcador no definido.
3.6	Conclusiones	¡Error! Marcador no definido.
3.7	Literatura citada	¡Error! Marcador no definido.

LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Superficie cultivada de “frutillas” en México	3
Cuadro 2. Accesiones de Rubus spp. evaluadas.....	27
Cuadro 3. Medios utilizados para la propagación de la cepa.....	28
Cuadro 4. Análisis de Varianza NO paramétrico y clasificación de las medias con ABCPE para susceptibilidad	33
Cuadro 5. Accesiones de Rubus spp. Evaluadas. ¡Error! Marcador no definido.	
Cuadro 6. Medios utilizados e ingredientes para la propagación de la cepa. ¡Error! Marcador no definido.	
Cuadro 7. Tratamientos utilizados para la inoculación..... ¡Error! Marcador no definido.	
Cuadro 8. Variables evaluadas antes de la inoculación..... ¡Error! Marcador no definido.	
Cuadro 9. Variables evaluadas después del levantamiento de cada accesión. ¡Error! Marcador no definido.	
Cuadro 10. ABCPE de 32 tratamientos de inoculación de Fusarium oxysporum f.sp.mori en 12 accesiones nativas de Rubus spp y dos colectas comerciales ¡Error! Marcador no definido.	
Cuadro 11. Porcentaje de severidad de inoculación de Fusarium oxysporum f.sp.mori en 12 accesiones nativas de Rubus spp y dos colectas comerciales determinado por polígono CIELAB. ¡Error! Marcador no definido.	
Cuadro 12. Valores encontrados de las variables evaluadas en el análisis de varianza (ANOVA). ¡Error! Marcador no definido.	

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Producción de zarzamora y frambuesa del 2015 al 2021. Fuente: SIAP (2021).	3
Figura 2. Colores en el formato CIELAB cuando el valor L es cero	16
Figura 3. Imagen original de una planta de <i>Rubus</i> sp. (izquierda) e imagen en donde los pixeles verdes encontrados fueron cambiados a color blanco y contados para estimar el porcentaje de pixeles verdes en una imagen (derecha).	30
Figura 4. Imagen original de planta de <i>Rubus</i> sp. (izquierda) e imagen en donde los pixeles encontrados con marchitez fueron cambiados a color blanco y contados para estimar el porcentaje de pixeles con marchitez en una imagen (derecha).	31
Figura 5. Accesiones de <i>Rubus</i> spp con menor susceptibilidad a <i>Fusarium</i> o. f. sp. mori	34
Figura 6. Imágenes de plantas del género de <i>Rubus</i> sp. usadas para probar los polígonos para la detección de síntomas de marchitez causada por <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. mori.....	35
Figura 7. Altura inicial (AI) en plantas de 12 colectas de <i>Rubus</i> spp y dos variedades comerciales.	¡Error! Marcador no definido.
Figura 8. Longitud de raíz (RIP) en plantas de 12 colectas de <i>Rubus</i> spp. y dos variedades comerciales.	¡Error! Marcador no definido.
Figura 9. Longitud de raíz podada (RP) en plantas de 12 colectas de <i>Rubus</i> spp y dos variedades comerciales.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura 10. Altura final (AF) en plantas de 12 colectas de <i>Rubus</i> spp y dos variedades comerciales.	¡Error! Marcador no definido.
Figura 11. Longitud de la raíz final (RF) en plantas de 12 colectas de <i>Rubus</i> spp y dos variedades comerciales.....	¡Error! Marcador no definido.
Figura 12. Longitud de la raíz necrosada (RN) en plantas de 12 colectas de <i>Rubus</i> spp y dos variedades comerciales.....	¡Error! Marcador no definido.

DEDICATORIA

A mi comadreja

Por supuesto.

AGRADECIMIENTOS

Quiero agradecer a todas aquellos que me motivaron a iniciar y culminar esta meta que en algún momento se vio muy lejana, en especial:

Al Dr. Alejandro F. Barrientos, por ser el primero en creer en este proyecto, por todas las enseñanzas, la confianza y libertad para lograrlo.

Al Dr. Gerardo Leyva y al Dr. Juan Legaria, por toda sus enseñanzas y paciencia tanto en clases como en laboratorio.

Al Dr. Erik Acuayte, por su guía y consejo, por su empatía y consuelo, por ser fuente de inspiración y paz, por ser un verdadero amigo.

A Mercedes Martínez, por su amistad y ánimos al enrolarme en este camino.

A mis tíos Ricardo, Lourdes y toda la Familia Sánchez Noguez, por brindarme abrigo, amor y todo lo necesario para prepararme para mi ingreso.

A Aurelio Bastida e Itzel B., por facilitarme alojamiento, seguridad y su amistad.

A Pablo y la familia Baltazar Olivares, por su compañía y cariño.

A Nancy González, por ayudarme a salvar mi experimento y alentarme a seguir adelante a pesar de todas las adversidades del 2020.

A Abraham García, por ser amigo, hermano e incluso padre, por tantos años de apoyo y cariño incondicional.

Al Dr. Efraín Contreras por su sincera amistad y ser modelo a seguir de muchos.

A mi hermana Nahomi y cuñada Brenda, por cuidar de mí, creer en mis sueños y ayudarme a lograrlos, por recordarme que siempre en ustedes tendré una familia.

A todos, por todo, inmensas gracias.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos personales

Nombre:	Laura Dinorah Manzano Sánchez
Fecha de nacimiento:	29 de enero de 1991
Lugar de nacimiento:	Azcapotzalco, CDMX
Profesión:	Agrónomo en Horticultura Protegida
Cédula profesional:	10969214

Desarrollo académico

Preparatoria: 2006-2009	Departamento de Preparatoria Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo
Licenciatura: 2009-2013	Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo.
Maestría: 2019-2020	Maestro en Ciencias en Horticultura. Instituto de Horticultura, Departamento de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo.

RESUMEN GENERAL

SUSCEPTIBILIDAD DE GERMOPLASMA NATIVO DE *Rubus* spp. a *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*.

Manzano-Sánchez, L. Dinorah¹, Barrientos-Priego Alejandro F²., Leyva-Mir, S.G., Legaria-Solano, J.P., Acuyte-Valdes, E.

La incidencia de la “marchitez” por *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* es el principal problema fitosanitario de la producción de zarzamora en México, afectando mayormente al cultivar Tupy. Por ello el objetivo del estudio fue discriminar accesiones de *Rubus* spp. con alta susceptibilidad a *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* y determinar las coordenadas del polígono CIELAB como herramienta para la evaluación de incidencia. Se utilizaron 20 accesiones nativas del suroeste y centro de México y dos variedades comerciales, distribuidas en dos experimentos. Los datos se procesaron con SAS 9.1, para obtener el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), se utilizó la escala 1=5 %, 2=15 %, 3=50 %, 4=75 % y 5=100 % de daño acumulado tanto en raíces como parte aérea. Las coordenadas del polígono CIELAB para obtener la detección de *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* se descompusieron, en pixeles color verde que se encuentran en: -25, 80; -14, 67; -7, 26; -4, 14; -5, 0; -10, -6; -20, -8; -50, -10; -71, 5; -85, 32; -79, 65; -58, 75; -31, 81; y de color café-rojizo en: 12, 16; 0, 15; -4, 26; 0, 29; 16, 34; 16, 37; 28, 37; 35, 37; 32, 29; 22, 20; 12, 16. En el primer experimento la accesión con mayor susceptibilidad fue ‘Chiapas 6*1’, y con menor susceptibilidad las accesiones ‘Hidalgo 2.4’ y ‘Chiapas 2’. En el segundo experimento en el análisis ABCPE las accesiones con mayor susceptibilidad fueron ‘Chiapas 2’, ‘Chiapas 9’, ‘Chiapas 15’ y ‘Veracruz 14’, y con menor susceptibilidad las accesiones ‘Hidalgo I-1’, ‘Hidalgo 2.4’ y ‘Veracruz 7’ y ‘Veracruz 8’ y de acuerdo con polígono CIELAB las accesiones con mayor susceptibilidad fueron *Rubus shideanus*, ‘Veracruz 14’, ‘Chiapas 9’ y ‘Hidalgo 3.1’ con 100, 98.41, 96.98 y 96.49 %, respectivamente, y menos susceptibilidad las accesiones ‘Hidalgo 2.4’ ‘Veracruz 8’ con 14.01 y 32.67 %, respectivamente.

Palabras clave: susceptibilidad genética, zarzamora, frambuesa, análisis de imágenes, *Fusarium*.

Tesis de Maestría en Ciencias en Horticultura. Universidad Autónoma Chapingo

¹ Autor

² Director de tesis

ABSTRACT

SUSCEPTIBILITY OF NATIVE GERMOPLASM OF *Rubus* spp. a *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*.

Manzano-Sánchez, L. Dinorah¹, Barrientos-Priego Alejandro F²., Leyva-Mir, S.G., Legaria-Solano, J.P., Acuayte-Valdes, E.

The incidence of *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* is the main phytosanitary problem of blackberry production in Mexico, affecting mainly the cultivar Tupy. Therefore, the objective of the study was to discriminate accessions of *Rubus* spp. with high susceptibility to *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* and determine the coordinates of the CIELAB polygon as a tool for incidence assessment. Twenty native accessions from southwestern and central Mexico and two commercial varieties were used, distributed in two experiments. The data were processed with SAS 9.1, to obtain the area under the disease progress curve (ABCPE), the scale 1 = 5 %, 2 = 15 %, 3 = 50 %, 4 = 75 % and 5 = 100 % accumulated damage to both roots and aerial parts. The coordinates of the CIELAB polygon to obtain the detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* were decomposed, in green pixels that are in: -25, 80; -14, 67; -7, 26; -4, 14; -5, 0; -10, -6; -20, -8; -50, -10; -71.5; -85, 32; -79, 65; -58.75; -31, 81; and reddish-brown in: 12, 16; 0, 15; -4, 26; 0, 29; 16, 34; 16, 37; 28, 37; 35, 37; 32, 29; 22, 20; 12, 16. In the first experiment, the accession with the highest susceptibility was 'Chiapas 6 * 1', and the accessions 'Hidalgo 2.4' and 'Chiapas 2' with the least susceptibility. In the second experiment in the ABCPE analysis, the accessions with the highest susceptibility were 'Chiapas 2', 'Chiapas 9'. 'Chiapas 15' and 'Veracruz 14', and with the least susceptibility the accessions 'Hidalgo 1-1', 'Hidalgo 2.4' and 'Veracruz 7' and 'Veracruz 8' and according to the CIELAB polygon the accessions with the highest susceptibility were *Rubus shideanus*, 'Veracruz 14', 'Chiapas 9' and 'Hidalgo 3.1' with 100, 98.41, 96.98 and 96.49%, respectively, and less susceptibility the accessions 'Hidalgo 2.4', 'Veracruz 8' with 14.01 and 32.67 %, respectively.

Key words: genetic susceptibility, blackberry, raspberry, image analysis, *Fusarium*.

Thesis. Universidad Autónoma Chapingo

¹ Author

² Advisor

INTRODUCCIÓN GENERAL

En 1974 se hicieron las primeras introducciones de zarzamora en los estados de Michoacán, Puebla, Jalisco y Guanajuato, con el cultivar Brazos, el cual se fue sustituyendo por 'Choctaw', 'Comanche' y 'Cheyenne' en la década de los 90's (Parra-Quesada, Acosta-Rodríguez & Arreaola-Ávila, 2005). Cerca del año 2000, el cultivar de uso libre 'Tupy' se posicionó aceleradamente en la zona del valle de los Reyes, en Michoacán, teniendo un desplazamiento lento por las variedades privadas de las comercializadoras extranjeras.

Los cultivos de zarzamora y frambuesa tuvieron un crecimiento anual de la superficie cultivada del 21.8% durante el periodo 2003-2016 (SAGARPA, 2017). Se han ido creando zonas de monocultivo en los estados de Michoacán y Jalisco (Cuadro 1), principalmente, donde el desfase de los ciclos biológicos de enfermedades y plagas, están generando serios problemas en cuestiones fitosanitarias.

A pesar de que las condiciones fitosanitarias repercuten directamente a los costos de producción, siendo los agroquímicos, los insumos más caros después del fertilizante, teniendo un gasto promedio de \$ 50, 000 m.n. por hectárea de frambuesa y \$ 60, 000 m.n. por hectárea de zarzamora, las relaciones beneficio-costos de los cultivos de frutillas van de 2.82 para el caso del arándano azul, 1.88 para la frambuesa, 1.82 para la fresa y 1.76 para la zarzamora, superando a las de los cultivos básicos como la caña de azúcar (1.5) y del maíz (1.2), incluso al aguacate, cuya relación beneficio costo es de 1.84 (González, Santoyo, Arana & Muñoz, 2020).

Por ello, dentro de la Planeación Agrícola Nacional del periodo 2017-2030 se contempla un crecimiento promedio anual de producción de hasta un 1.75 %, en las nuevas zonas de producción: Puebla, Tlaxcala, y Querétaro. Aunque, el potencial productivo se extiende a los estados de Aguascalientes, Nayarit, San Luis Potosí y Zacatecas, estos son capaces de dedicar cerca de 4085065 ha a la producción de frutillas (SAGARPA, 2017).

Desde 2010 se ha observado una baja en la producción de zarzamora y a su vez, un alza en la de frambuesa (Figura 1), esto, porque los costos de producción de la frambuesa son más bajos y presenta menor demanda de mano de obra, por ende, en el estado de Jalisco ha aumentado el área de producción de ésta a partir del 2012. A finales del 2015 se reportó que la producción histórica de frambuesa superaba las 800,000 t, y la de zarzamora superó las 600,000 t, la cual no ha vuelto a repuntar, siendo el peor año el 2018, con menos de 300, 000 t (SIAP, 2021)

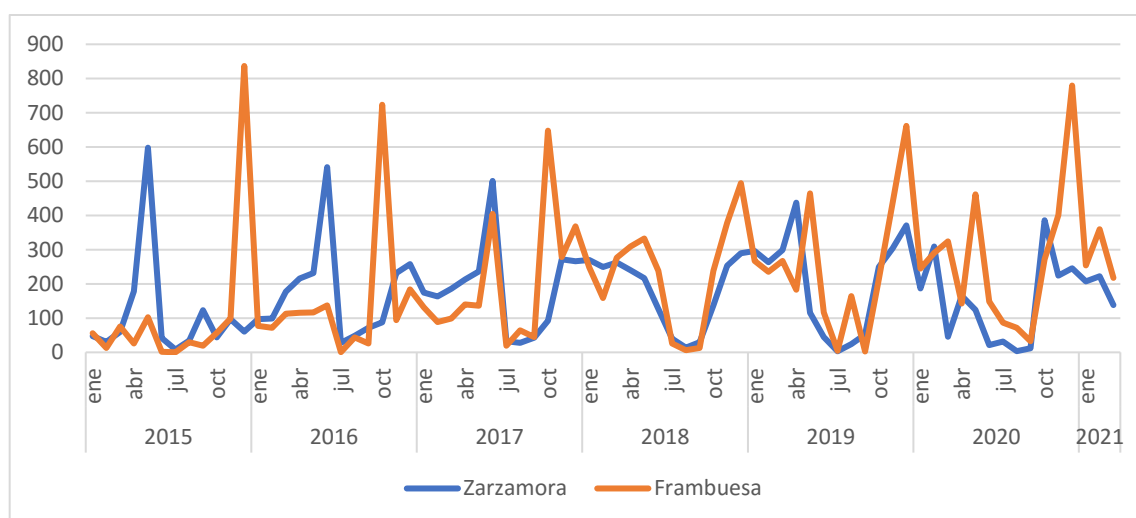


Figura 1. Producción de zarzamora y frambuesa del 2015 al 2021. Fuente: SIAP (2021).

Cuadro 1. Superficie cultivada de “frutillas” en México.

Estado	Total 2015	Fresa (ha)	Frambuesa (ha)	Zarzamora (ha)	Arándano (ha)
Michoacán	18,641	5,866	373	12,252	150
Baja California	3,407	2,652	511	51	193
Guanajuato	1,002	1,001	0	1	0
Jalisco	3,989	246	2,564	344	835
Colima	538	0	1	131	406
Otros	747	386	24	78	259
Total (ha)	28,324	10,151	3,473	12,857	1,843

Fuente: ANEBERRIES (2016).

Desde 2011 ha incrementado la incidencia de la “secadera” o “marchitez” por *Fusarium* spp. en las zonas de producción de zarzamora, afectando mayormente al cultivar Tupy (Gordon, Kirkpatrick, Henry, Kong & Broome, 2016), donde los síntomas pueden aparecer en cualquier etapa del cultivo, invadiendo el tejido vascular de las plantas hospedantes (Nel, Steinberg, Labuschagne & Viljoen, 2007; Elmer, 2006; Koike & Gordon, 2015), ya que, en el Valle de los Reyes se tienen huertas con plantas con más de 18 años de antigüedad, la degradación del cultivar por el paso de los años y el uso indiscriminado de agroquímicos ha provocado que el hongo cree resistencia a muchos de estos. Pastrana, Kirkpatrick, Kong, Broome y Gordon (2017) aislaron y secuenciaron el ADN de diferentes cepas de *F. oxysporum* que afectaban los cultivos de zarzamora en California y México, designaron amplitud de hospedantes de los mismos, y a los aislamientos comunes procedentes de México y California los denominaron *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*.

La estrategia general difundida por la ANEBERRIES (2018) en las zonas productoras de Los Reyes, Peribán, Ziracuaretiro, Tacámbaro y Ario de Rosales, en el estado de Michoacán, es de enfoque preventivo para el manejo de la marchitez en zarzamora, y dentro de las recomendaciones piden el evitar establecer plantaciones en campos en donde se tenga antecedente de infestación, realizar desinfección del mismo con Piclor (60 cloropicrina: 40 1,3 dicloropropeno) a una dosis de 300-350 lb/acre o cloropicrina sola a dosis de 300-400 lb/acre y utilizar material vegetativo libre de *F. oxysporum* f. sp. *mori*, que provenga de viveros certificados, ya que no hay tratamiento eficaz para plantas enfermas (Nel et al., 2007; Elmer, 2006; Koike & Gordon, 2015), dado que en estas localidades aún se utiliza el “riego rodado” y es una de las formas en las que se disemina rápidamente el patógeno.

Por esta situación, en México las empresas exportadoras de fruta que tienen establecida un área de mejoramiento varietal, buscan que los nuevos cultivares cuenten con tolerancia o resistencia a algunas condiciones ambientales, plagas o enfermedades, además de tener características deseables para el consumidor.

Históricamente, el mejoramiento genético de la zarzamora y frambuesa comenzó en 1890 y 1920, respectivamente (Moore, 2008; Swanson et al., 2011). Los cultivares modernos se separan de sus progenitores silvestres por pocas generaciones y su domesticación ha resultado en una reducción genética, morfológica y cigótica en comparación con las accesiones silvestres (Dale, Moore, Mcnicol, Sjulín & Burmistrov, 1993; Haskell, 1960).

A pesar de que ya se cuentan con técnicas avanzadas para determinar molecularmente la genética de los individuos generados en dichos programas de mejoramiento, donde se utilizan individuos silvestres y cultivares destacados, para obtener de los silvestres características que se han perdido por la alta cantidad de individuos generados, llega a ser incosteable el análisis individual, por ello, les ha sido útil construir escalas fisiológicas, sintomáticas o de colores para poder descartar rápidamente los individuos que no son de interés.

Castro, Cerquera y Gutiérrez (2013) propusieron utilizar procesamiento digital de imágenes y otras técnicas de determinación objetivas de color o colorímetros, para reducir la subjetividad de los operadores en campo. Estos pueden ayudar a determinar el porcentaje de daño en un cultivo, por medio de paquetes estadísticos, formatos de color como el CIELAB, el cual una el valor de L (luminosidad), el valor de "a" (de verde a rojo) y el valor de "b" (de azul a amarillo) (Iñiguez, Ortega, Rosales & Puras, 1995), donde los valores de "a" y "b" van de -100 a 100 y de "L" de 0 a 100. El principio es que, si una imagen tiene pixeles con distintos tonos de luminosidad, se pueden proyectar a tonos donde el plano de la luminosidad sea cero y con esto observar la composición de color que tiene y calcular el área que ocupan regularmente los pixeles de algún color específico en el plano CIELAB. Además, se puede conocer el porcentaje de dicho color específico en una imagen, se comparando los valores de cada pixel de la imagen, para saber si dicho pixel está dentro del área en donde están los pixeles predominantes, con lo que se le puede asignar un valor o color a la sintomatología de *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*.

A continuación, en el cuerpo de este documento se desarrollan tres capítulos que se apoyan entre sí, siendo el primero una revisión de literatura que soporta el desarrollo de las dos partes experimentales que le suceden, el segundo capítulo tuvo como objetivo generar mediante el análisis de imágenes los intervalos de colores necesarios para cuantificar el daño de *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* para que se puedan tomar decisiones oportunas y así lograr un manejo eficaz y a su vez discriminar accesiones de *Rubus* spp. nativas de México altamente susceptibles a este patógeno, y el tercero, la evaluación de algunas accesiones silvestres de *Rubus* spp. inoculadas y asintomáticas a *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*, así como la determinación y comparación de área bajo la curva del progreso de la enfermedad.

1 REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 Generalidades de la zarzamora

1.1.1 Taxonomía

El sistema taxonómico construido por Focke (1910, 1911, 1914) comprende 900-1000 especies con distribución mundial, dividió *Rubus* en 12 subgéneros, siendo los tres más grandes *Idaeobatus* (117 especies), *Malachobatus* (115 especies) y *Rubus* (132 especies). Entre los nueve subgéneros restantes (*Anoplobatus*, *Chamaebatus* (5 spp.), *Chamaemorus* (1 spp.), *Comaropsis*, *Cylactis* (9 spp.), *Dalibarda*, *Dalibardastrum* (11 spp.), *Lampobatus* (1 especie) y *Orobatus* (Lu & Boufford, 2003).

Dentro de la familia Rosaceae, se encuentra el género *Rubus*, que es uno de los más diversos del reino vegetal, ya que contiene aproximadamente 740 especies, las que han sido agrupadas en 12 a 15 subgéneros, de los cuales los más importantes son *Idaeobatus* que comprende a las frambuesas y *Eubatus* que contiene a las zarzamoras (Daubeney, 1996); aunque dada la complejidad de éste último, algunos autores (Jennings, 1988) lo han considerado como cuatro subgéneros diferentes (*Eubatus*, *Caesii*, *Suberectii* y *Corylifolii*). El subgénero *Eubatus* contiene a las secciones *Moriferi* y *Ursini*. Las especies de *Moriferi* son nativas de Europa y Asia; mientras que las de *Ursini* son nativas de Norteamérica (Daubeney, 1996).

Los niveles de ploidía del género varían de diploides ($2n = 14$) a tetradecaploides ($2n = 98$); la mayoría de las frambuesas son diploides; mientras que las zarzamoras varían de diploides a dodecaploides ($2n = 84$) (Ourecky, 1975; Moore & Skirvin, 1990).

La poliploidía y la hibridación son frecuentes en *Rubus* (Alice & Campbell, 1999). Las especies de la secta *Idaeobatus* son predominantemente diploides, mientras que las sectas *Malachobatus*, *Dalibardastrum* y *Chamaebatus* son exclusivamente poliploides (Thompson, 1997; Naruhashi, Iwatsubo & Peng, 2002; Wang Tang, Duan & Li, 2008). La hibridación en *Rubus* se produce

comúnmente entre especies estrechamente relacionadas (Bammi & Olmo, 1966; Iwatsubo & Naruhashi, 1991, 1992, 1993a, 1996, 1998; Randel, Howarth & Morden, 2004; Mimura, Mishima & Yahara, 2014), pero a veces puede ocurrir entre secciones (Iwatsubo & Naruhashi, 1993b; Alice, Eriksson, Ericksen & Campbell, 2001). Por ejemplo, *Rubus parvifolius* de la secta *Idaeobatus* no sólo puede cruzarse con *R. coreanus* (*R. × hiraseanus*, 2x y 3x) y *R. phoenicolasius* (*R. × nikaii*, 2x) de la secta *Idaeobatus* (Iwatsubo & Naruhashi, 1991, 1996, 1998), pero también con *R. sieboldii* (*R. × tawadanus*, 3x) de la secta *Malachobatus* (Iwatsubo & Naruhashi, 1992, 1993b), lo que da lugar a amplia variación morfológica (Nybom & Schaal, 1990).

Dado que las especies de zarzamora homoploides en su mayoría son infértiles y biológicamente se cruzan entre éstas; las poblaciones nativas de zarzamora en muchas partes del mundo son altamente híbridas en la naturaleza, haciendo difícil o imposible una clasificación taxonómica exacta. Los tipos cultivados se derivan de un amplio grupo de especies de *Rubus* y son aloploiploides complejos (Darrow, 1967).

1.1.2 Morfología

Los frutos de *Rubus* presenta un fruto agregado, formado por un grupo de pequeñas drupeólas, que se desarrollan de la misma flor y éstas se unen entre sí para formar el fruto completo. Existen diferencias morfológicas entre dichos subgéneros; el criterio comúnmente utilizado para su clasificación es la separación del fruto maduro de la planta. En la frambuesa las drupeólas se separan del receptáculo y la polidrupa tiene la apariencia de un dedal. La zarzamora, las drupeólas se encuentran adheridas al receptáculo, que es el centro de la fruta que consumimos (Hedrick, 1925; Galleta & Violette, 1989).

Crecen en forma arbustiva, rígidamente erectas, arqueadas o en forma rastrera, producen cañas bianuales; pero hay excepciones con cañas perennes. Casi todas son deciduas, pero algunas son siempreverdes. La reproducción varía desde apomícticas hasta sexualmente fértiles (Ourecky, 1975).

1.1.3 Distribución del género *Rubus* spp

En México actualmente crecen 712 especies que pertenecen a 75 familias y 169 géneros. Del total, 32 especies nativas son aprovechadas comercialmente, 14 son objeto de comercio, pero no se encuentran en la estadística oficial, y 620 son cultivadas localmente en los huertos familiares y son de recolección (Borys & Leszyńska-Borys, 2001).

Las zarzamoras son un grupo complejo de plantas heterogéneas con alta variabilidad dentro del género *Rubus*. Principalmente habitan en las regiones templadas del noroeste de Asia, Europa, Norte de África, Norteamérica y las montañas de Sudamérica, sin embargo, éstos se encuentran cada día en mayor peligro de desaparecer debido al incremento de la deforestación y uso de terrenos para fines distintos a la agricultura, estas zarzamoras silvestres que forman parte de los recursos fitogenéticos, están catalogadas como especies emparentadas con variedades cultivadas de zarzamora (Reid & Miller, 1989), que a su vez son la fuente insustituible de características; tales como la adaptación a condiciones ambientales, la resistencia a enfermedades y plagas, la calidad nutritiva y la productividad.

Aunque existen especies de *Rubus* que se encuentran en el norte de Estados Unidos y sur de Canadá, la zarzamora es un cultivo que crece en las regiones calurosas de Estados Unidos. Se han encontrado en abundancia en las costas este y oeste y en dos terceras partes del sur de Estados Unidos (Moore & Skirvin, 1990).

1.2 La Producción de zarzamora

Las regiones de producción de zarzamoras más grandes del mundo son Europa (Serbia), Estados Unidos (Oregón) y México (Michoacán), donde los tipos predominantes que se cultivan son erectos, semi-erectos y rastreros, respectivamente (Strik & Finn, 2012).

Hasta 2005 habían 7692 ha de zarzamoras cultivadas comercialmente en Europa, concentrando el 69 % del área en Serbia, 21 % en Hungría y el resto distribuido en Reino Unido, Rumania, Polonia, Alemania y Croacia. En América del Norte había 7.159 ha de zarzamoras cultivadas, 4,818 ha en Estados Unidos representando el 67 %, en México 2,300 ha equivalentes al 32 %. El 50 % de los cultivares sembrados alrededor del mundo fueron semiectos ('Thornfree', 'Loch Ness' y 'Chester Thornless'), 25 % en erectos ('Brazos') y el 25 % ('Marion') rastreros. Por su parte las zarzamoras silvestres tuvieron una significativa producción mundial con 8.000 ha y 13.460 t cosechadas en 2004 (Strik, Clark, Finn, Banados & Pilar, 2008).

Para finales de los años ochenta, Chile era un importante exportador de frutillas frescas para América del Norte, pero los costos de transporte aéreo y los sistemas de refrigeración de aquel entonces, dificultaban y encarecían las frutas chilenas, por lo que las grandes empresas migraron a nuevas áreas de producción, dejando la producción en fresco a mediados de la década del 2000, por ello, la producción mexicana aumentó rápidamente (Clark & Finn, 2014).

En 1974 se hicieron las primeras introducciones de zarzamora en los estados de Michoacán, Puebla, Jalisco y Guanajuato, con el cultivar como 'Brazos', el cual se fue sustituyendo por 'Choctaw', 'Comanche' y 'Cheyenne' en la década de los 90's (Parra-Quezada *et al.*, 2005), cerca del año 2000, el cultivar de uso libre 'Tupy' se posiciono aceleradamente en la zona del valle de los Reyes, en Michoacán, y posteriormente teniendo un desplazamiento lento por las variedades privadas de las comercializadoras extranjeras.

De acuerdo con la FAO, durante el periodo 2005-2013, se produjeron en el mundo un total de 7.8 millones de t de frutillas, donde el 83.36 % de total fueron fresas, 9.81 % arándanos azules y las frambuesas y zarzamoras el 6.83 %. Durante ese periodo en México, la producción de zarzamoras fue en promedio de 97,497 t, con un ritmo de crecimiento (TCMA) del 17.75 %, siendo el principal estado productor, Michoacán con más del 96 % del total nacional (Gonzalez, Rebolla, Hernández, Morales & Abarca, 2019).

Sin embargo, las relaciones beneficio-costo de los cultivos de frutillas van de 2.82 para el caso del arándano azul, 1.88 para la frambuesa, 1.82 para la fresa y 1.76 para la zarzamora, superando a las de los cultivos básicos como la caña de azúcar (1.5) y del maíz (1.2), incluso al aguacate, cuya relación beneficio costo es de 1.84 (González et al., 2020), siendo estos tres cultivos los que por lo regular acompañan la producción de frutillas, ya sea para rotar cultivos una vez terminada la temporada o licencia del cultivar o para crecimiento del agricultor y la razón principal por la cual ha crecido tanto la producción de estos cultivos.

Desde 2010 se ha observado una baja en la producción de zarzamora y a su vez, un alza en la de frambuesa, esto, porque los costos de producción de la frambuesa son más bajos y menor demanda de mano de obra, por ende, en el estado de Jalisco ha aumentado el área de producción de esta desde el 2012. A finales del 2015 se reportó la producción de frambuesa donde superó las 800,000 t, y la de zarzamora superó las 600, 000 t, la cual no ha vuelto a repuntar, siendo el peor año el 2018, con menos de 300, 000 t.

1.2.1 Enfermedades

Como todos los cultivos de explotación intensiva, la zarzamora tiene identificadas diferentes enfermedades fungosas que se presentan en diferentes etapas del ciclo. Muchas de ellas se presentan en el follaje y flores, aunque las enfermedades que afectan directamente el sistema radicular tienen a ser las que mayor impacto tienen sobre el cultivo.

De acuerdo con Rebollar-Alviter & Silva-Rojas (2020), en México se ha reportado la presencia de las siguientes enfermedades fungosas:

❖ **Cenicilla** (*Podospora aphanis*).

Sintomatología: polvillo blanco en el envés y haz de las hojas, enrollamiento, acortamiento de entrenudos, poco desarrollo de cargadores. Baja susceptibilidad en ‘Tupy’, ‘Brazos’ y ‘Kiowa’, más susceptibles.

❖ **Moho gris** (*Botrytis cinerea*)

Sintomatología: presencia de moho gris en frutos cercanos a la madurez, pero no obvios durante el desarrollo de frutos. Favorecido por temperatura de 9-21 °C y HR>94 %. La floración es la etapa más crítica.

❖ **Tizón de brotes** (*Colletotrichum gloeosporioides*)

Sintomatología: manchas café oscuras ovales, que cubren los brotes terminales y racimos florales hasta ocasionar su muerte. En condiciones de alta humedad sobre los tejidos afectados aparecen masas de esporas de color salmón.

❖ **Mildiú o secamiento del berry** (*Peronospora sparsa*)

Sintomatología: en hojas, manchas púrpuras angulares a lo largo de las venas (no confiables para diagnóstico). En condiciones de alta humedad, se observa la presencia micelio gris en el envés. Los frutos pierden su brillo, detienen su crecimiento, se secan y momifican. Frecuente, la presencia de frutos dobles y/o partidos. Pérdidas hasta del 100 %.

❖ **Marchitez o secadera por Fusarium** (*Fusarium oxysporum*)

Sintomatología: en desarrollo vegetativo presentan flacidez en los brotes, acompañado con un ligero cambio de color que posteriormente deriva en flacidez y secamiento de la planta, en la base del tallo se notara la presencia de una franja café oscuro que se extiende de abajo hacia arriba generalmente en un lado del tallo. Se presentan entre los 30 a 45 días después del establecimiento o de la poda a ras de piso, aunque este período puede variar en función de la variedad.

1.2.2 El género *Fusarium*

Especies pertenecientes a este género presentan macroconidios fusoides, ligeramente curvados, septados y con una célula basal pedicelada. Con microconidios y clamidosporas terminales o intercalares, que pueden estar ausentes o presentes (Nelson, Dignani & Anaissie, 1994).

El género *Fusarium* comprenden 70 especies descritas, que a su vez están agrupadas en 12 secciones. Cada sección es en realidad un conjunto de especies relacionadas entre sí. Más de la mitad de las especies son parásitos de plantas y entre ellos se encuentran algunos de los más serios patógenos del mundo agrícola (Leslie & Summerell, 2006).

División: Ascomycota

Subdivisión: Pezizomycotina

Clase: Sordariomycetes

Subclase: Hypocreomycetidae

Orden: Hypocreales

Familia: Hypocreaceae

Género: *Fusarium*

Especies: *F. oxysporum* f. sp. *mori*

Algunas especies tienen un estado sexual reconocido dentro de la familia Nectriaceae y pertenecen al género *Gibberella* o *Nectria*. (De Hoog, Guarro, Gene, Figueras & Guarro, 2000, Leslie & Summerell, 2006).

1.2.3 *Fusarium Oxysporum* f. sp. *mori*

Recientemente se han detectado nueve distintos grupos de compatibilidad somática (SCG) de *Fusarium oxysporum* en California y México. Seis SCG estuvieron presentes solo en California, dos solo en México y uno en California y México. Donde se propuso designar cepas de *F. oxysporum* que son patógenas para la zarzamora como *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* (Pastrana et al., 2017).

Desde 2011 ha incrementado la incidencia de la “secadera” o “marchitez” por *Fusarium* spp. en las zonas de producción de zarzamora, afectando mayormente al cultivar Tupy (Gordon et al., 2016), los síntomas puede aparecer en cualquier etapa del cultivo, invadiendo el tejido vascular de las plantas hospedantes (Nel et al., 2007; Elmer, 2006; Koike & Gordon, 2015), ya que, en el Valle de los Reyes se tienen huertas con plantas con más de 18 años de antigüedad, la degradación del cultivar por el paso de los años y el uso indiscriminado de agroquímicos ha

provocado que el hongo cree resistencia a muchos de estos. Pastrana et al. (2017) aisló y secuenció molecularmente diferentes cepas de *F. oxysporum* que afectaban los cultivos de zarzamora en California y México, y designó su amplitud de hospedantes ya que también puede afectar cultivares de fresa. A los aislamientos comunes procedentes de México y California los llamo *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*.

La estrategia general para el manejo de la marchitez causada por *F. oxysporum* es de enfoque preventivo y ha sido difundida por la ANEBERRIES a partir del 2018 en las zonas productoras de Los Reyes, Peribán, Ziracuaretiro, Tacámbaro y Ario de Rosales, en el estado de Michoacán. Dentro de las recomendaciones piden el evitar establecer plantaciones en campos en donde se tenga antecedente de infestación, realizar desinfección del mismo con Piclor (60 cloropicrina: 40 1,3 dicloropropeno) a una dosis de 300-350 lb/acre o cloropicrina sola a dosis de 300-400 lb/acre y utilizar material vegetativo libre de *F. oxysporum* f. sp. *mori*, que provenga de viveros certificados (Nel et al., 2007; Elmer, 2006; Koike & Gordon, 2015), dado que en estas localidades aún se utiliza el “riego rodado” y es una de las formas en las que se disemina rápidamente el patógeno.

1.3 Métodos descriptivos aplicados

1.3.1 Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad

De acuerdo con Pedroza y Samaniego (2009), la intensidad de la enfermedad se da seguimiento a través del tiempo y los resultados pueden analizarse con modelos de regresión logística y observar su comportamiento por medio de gráficos, en un área bajo la curva del progreso de la enfermedad a través del tiempo, la cual comúnmente adopta la forma de S, aunque hay variantes, dependiendo del tipo de epidemia. En general, se tiene una etapa inicial de incremento lento de la epidemia, por el proceso de adaptación entre el patógeno y el hospedante, después ocurre un crecimiento exponencial y, finalmente, la epidemia adquiere un comportamiento asintótico.

Un tipo de análisis epidemiológico es el análisis del área bajo la curva del progreso de la enfermedad, y es la técnica de análisis más recomendada, cuando se requiere identificar las relaciones del progreso de la enfermedad y el periodo de duración del área foliar respecto al impacto sobre el rendimiento (Waggoner, 1986). Este método de análisis epidemiológico no necesita ningún tipo de ajuste a modelos predeterminados y, por ende, no requiere de consecuentes transformaciones de valores que puedan enmascarar o confundir posibles efectos de tratamiento. Sin embargo, valores bajos de la enfermedad, durante el periodo de seguimiento, tienen poco efecto sobre el ABCPE (Shaney & Finney, 1977).

1.3.2 Polígono CIELAB

En el cultivo de zarzamora existen problemas en campo relacionados con enfermedades que le pueden afectar al óptimo desarrollo, la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* es una de las más importantes en el cultivo. En la práctica, el procedimiento para determinar la severidad de un cultivo por marchitez se basa principalmente en una escala visual. Actualmente se disponen de herramientas tecnológicas que pueden ayudar a determinar el porcentaje de marchitez en un cultivo, tales como, fotografías de diferentes calidades, análisis de información por medio de paquetes estadísticos, formatos de color diferentes, entre otras.

En cuanto a los formatos de color en los que se puede almacenar una imagen, se encuentra el CIELAB, éste consiste en tres datos importantes (Puras et al., 1995): el valor de L (luminosidad), el valor de “a” (de verde a rojo) y el valor de “b” (de azul a amarillo). Los valores de los datos “a” y “b” van de -100 a 100 y de “L” de 0 a 100 (Figura 2).

En la Figura 2 se muestra el espacio de colores del formato LAB cuando la luminosidad es cero. Si un pixel tiene los valores de color $L=0$, $a = 50$ y $b = 50$, el pixel tendrá una coloración rojiza. Por otro lado, si aumentan los valores de luminosidad, los colores tendrán la tendencia a tener un color más oscuro.

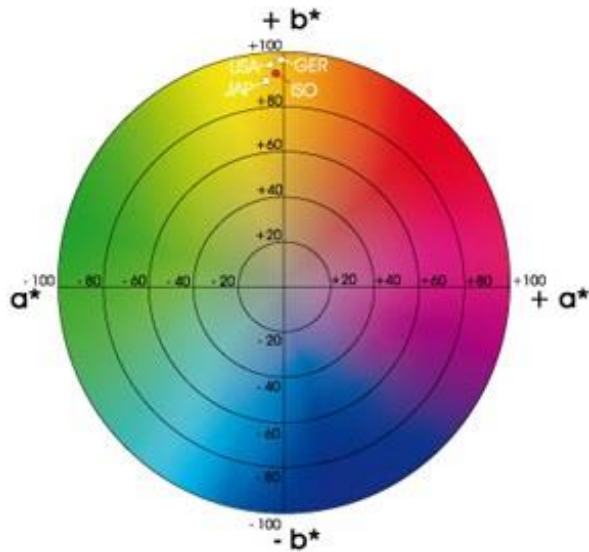


Figura 2. Colores en el formato CIELAB cuando el valor L es cero

Cabe mencionar que, si se tiene un pixel de un color en el formato CIELAB, con luminosidad mayor que cero, se puede proyectar este pixel y pasarlo al plano en donde el valor de la luminosidad sea cero. Una imagen que tiene pixeles con distintos tonos de luminosidad, se pueden proyectar todos los pixeles con tonos hacia el plano en donde la luminosidad sea cero y se puede observar el color que tiene. Por lo tanto, si un pixel tiene un determinado color que nos interesa, quedará en algún área del plano mostrado en la Figura 2. Al estar una gran cantidad de pixeles de diferentes tonalidades en el plano “ab”, se puede saber en qué área están de manera predominante los colores que tienen los pixeles. Esto es muy útil porque se puede saber el área que ocupan regularmente los pixeles de algún color específico en el plano CIELAB de luminosidad 0. En caso de que se tenga interés de conocer el porcentaje de dicho color específico en una imagen, se pueden comparar los valores de cada pixel de la imagen, para saber si dicho pixel está dentro del área en donde están los pixeles predominantes. Por lo anterior, es muy útil el formato de color CIELAB para analizar colores de pixeles en la imagen, este formato es muy sencillo de utilizar debido a que únicamente se requieren de dos datos para identificar cualquier color: el valor de “a” y el de “b”.

1.4 Literatura citada

- Alice, L. A., Eriksson, T., Eriksen, B., & Campbell, C. S. (2001). Hybridization and gene flow between distantly related species of *Rubus* (Rosaceae): Evidence from nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region sequences. *Systematic Botany*, 26, 769-778. Doi: 10.1043/0363-6445-26.4.769
- Alice, L. A., & Campbell, C. S. (1999). Phylogeny of *Rubus* (Rosaceae) based on nuclear ribosomal DNA internal transcribed spacer region sequences. *American Journal of Botany*, 86, 81-97. Doi: 10.2307/2656957
- ANEBERRIES (2018). *Estrategia de manejo de Fusarium oxysporum f. sp. mori en zarzamora*. Asociación Nacional de Exportadores de Berries. Consultado en <http://www.aneberries.mx> uploads › 2018/07
- ANEBERRIES (2016). *Superficie cultivada de Frutillas en México*. Asociación Nacional de Exportadores de Berries. Consultado en <http://www.aneberries.mx>
- Bammi, R. K., & Olmo, H. P. (1966). Cytogenetics of *Rubus*. V. Natural hybridization between *R. procerus* P. J. Muell. and *R. laciniatus* Willd. *Evolution*, 20, 617-633. Doi: 10.2307/2406596
- Borys, M. W., & Leszyńska-Borys, H. (2001). *El potencial frutícola de la República Mexicana*. Coatepec Harinas: Fundación Salvador Sánchez Colín-CICTAMEX, S.C.
- Castro Camacho, J. K., Cerquera Peña, N. E. y Gutierrez Guzmán, E. (2013). Determinación del color del exocarpio como indicador de desarrollo fisiológico y madurez en la guayaba pera (*Psidium guajava* cv. Guayaba pera), utilizando técnicas de procesamiento digital de imágenes. *Revista EIA*, 10(19), 79-89.
- Clark, J. R., & Finn, C. E. (2014). Blackberry cultivation in the world. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 36(1), 46–57. Doi:10.1590/0100-2945-445/13
- Dale, A., Moore, P. P., Mcnicol, R. J., Sjulín, T. M., & Burmistrov, L. A. (1993). Genetic diversity of red raspberry varieties throughout the-world. *Journal of*

The American Society for Horticultural Science, 118(1), 119–129.
Doi:10.21273/Jashs.118.1.119

Darrow, G. M. (1967). The cultivated raspberry and blackberry in North America: Breeding and improvement. *American Horticulture Magazine*, 46, 203 -218.

Daubeney, H. A. (1996). Brambles, In J. Janick & J. N. Moore (Eds). *Fruit breeding* (vol. II. Vine and small fruits; pp. 109-190). New York: John Wiley & Sons, Inc.

De Hoog, G. S., Guarro, J., Gene, J., Figueras, M.J., Guarro, G.J., 2000. Atlas of clinical fungi (2nd ed.). The Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht.

Elmer, W. H. (2006). Effects of acibenzolar-s-methyl on the suppression of *Fusarium* wilt of cyclamen. *Crop Protection*, 25(7), 671-676.

Focke, W. O. (1910). Species Ruborum. Monographiae Generis Rubi Prodrumus (pp.1–120). Stuttgart: E. Schweizerbart.

Focke, W. O. (1911). Species Ruborum. Monographiae Generis Rubi Prodrumus (pp. 121–223). Stuttgart, E. Schweizerbart.

Focke, W. O. (1914). Species Ruborum. Monographiae Generis Rubi Prodrumus (pp. 224–498). Stuttgart: E. Schweizerbart.

Galleta, G. & C. Violette (1989). The brambles, In M. Pritts & D. Handley (Eds.). *Brambles production guide* (pp. 3–8). Ithaca: Northeast Regional Agricultural Engineering Service.

González Razo, F., J., Rebollar Rebollar, S., Hernández Martínez, J., Morales Hernández, J. L., Abarca Ramírez, O. (2019). Situación actual y perspectivas de la producción de berries en México. *Revista Mexicana de Agronegocios*, 44, 260-272.

González R., M. G., Santoyo C., V. H., Arana C., J. J., & Muñoz R., M. (2020). The insertion of Mexico into the global value chain of berries. *World*

- Gordon, T., C. Kirkpatrick, S., Henry, P., Kong, M., & Broome, J. (2016). First report of a wilt disease of blackberry caused by *Fusarium oxysporum* in California. *Plant Disease*, 100(5), 1018.
- Haskell, G. (1960). The raspberry wild in Britain. *Watsonia*, 4, 238-55.
- Hedrick, U. P. (1925). *The small fruits of New York*. Albany: J. B. Lyon.
- Iñiguez, M., Ortega, A. P., Rosales, A., Orive, R. A., & Puras, P. (1995). Estudio de color de los vinos tintos de la DOC Rioja. *Zubía*, 7, 167-186.
- Iwatsubo, Y., & Naruhashi, N. (1991). Karyomorphological and cytogenetical studies of *Rubus parvifolius*, *R. coreanus* and *R. × hiraseanus* (Rosaceae). *Cytologia*, 56, 151-156. Doi: 10.1508/Cytologia.56.151
- Iwatsubo, Y., & Naruhashi, N. (1992). Cytotaxonomical studies of *Rubus* (Rosaceae) I. Chromosome numbers of 20 species and 2 natural hybrids. *Journal of Japanese Botany*, 67, 270–275.
- Iwatsubo, Y., & Naruhashi, N. (1993a). Cytotaxonomical studies of *Rubus* (Rosaceae) II. Chromosome numbers of 21 species and 6 natural hybrids. *Journal of Japanese Botany*, 68(3), 159-165.
- Iwatsubo, Y., & Naruhashi, N. (1993b). Cytogenetical study of *Rubus × tawadanus* (Rosaceae). *Cytologia*, 58, 217-221. Doi: 10.1508/Cytologia.58.217
- Iwatsubo, Y., & Naruhashi, N. (1996). A comparative chromosome study of *Rubus × nikaii*, *R. parvifolius* and *R. phoenicolasius* (Rosaceae). *Journal of Japanese Botany*, 71, 333–337.
- Iwatsubo, Y., & Naruhashi, N. (1998). Cytogenetic studies of natural hybrid, *Rubus × hiraseanus*, and artificial hybrid between *R. coreanus* and *R. parvifolius* (Rosaceae). *Cytologia*, 63, 235-238. Doi: 10.1508/Cytologia.63.235

- Jennings, D. L. (1988). *Raspberries and blackberries: Their breeding, diseases and growth*. London: Academic Press.
- Koike, S. T., & Gordon, T. R. (2015). Management of Fusarium wilt of strawberry. *Crop Protection*, 73, 67-72.
- Leslie J.F., & Summerell, B.A. (2006). *The Fusarium laboratory manual*. Ames: Blackwell Publishing.
- Lu, L. D., & Boufford, D. E. (2003). *Rubus linnaeus*, Sp. p1. 1: 492. 1753. *Flora China*, 9, 195–285.
- Mimura, M., Mishima, M., Lascoux, M., & Yahara, T. (2014). Range shift and introgression of the rear and leading populations in two ecologically distinct *Rubus* species. *BMC Evolutionary Biology*, 14, 209. doi: 10.1186/s12862-014-0209-9
- Moore, J. N., & R. M. Skirvin (1990). Blackberry management, In G. J. Galleta & D. G. Himelrick (Eds.), *Small fruit crop management* (pp. 214-244). Englewood Cliffs: Prentice Hall.
- Rubus* spp. – Red and black raspberry, In J. Janick & R. E. Paull (Eds.). *The encyclopedia of fruit and nuts* (pp 751–757). Cambridge: CABI
- Naruhashi, N., Iwatsubo, Y., & Peng, C. I. (2002). Chromosome numbers in *Rubus* (Rosaceae) of Taiwan. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 43, 193–201.
- Nel, B., Steinberg, C., Labuschagne, N., & Viljoen, A. (2007). Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of *Fusarium* wilt of banana. *Crop Protection*, 26(4), 697-705.
- Nelson, P.E., Dignani, M.C., & Anaissie, E.J. (1994). Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clinical Microbiology Reviews*, 7(4), 479-504

- Nybom, H., & Schaal, B. A. (1990). DNA fingerprints reveal genotypic distributions in natural populations of blackberries and raspberries (*Rubus*, Rosaceae). *American Journal of Botany*, 77, 883–888. doi: 10.2307/2444504
- Ourecky, D. K. (1975). Brambles, In J. Janick & J. N. Moore (Eds). *Advances in fruit breeding* (pp: 98-129). Lafayette: Purdue University Press.
- Parra-Quezada, R., Acosta-Rodríguez, G., & Arreola-Ávila, J. (2005). Crecimiento y producción de zarzamora cv. Cheyenne con cubiertas orgánicas. *Terra Latinoamericana*, 23(2), 233-240.
- Pastrana, A.M., Kirkpatrick, S.C., Kong, M., Broome, J.C., & Gordon, T. (2017). *Fusarium oxysporum* F. sp. mori, A new form specialist causing *Fusarium* wilt of blackberry. *Plant Disease*, 101, 2066-2072
- Pedroza-Sandoval, A., & Samaniego-Gaxiola, J. A. (2009). Análisis del área bajo la curva del progreso de las enfermedades (ABCPE) en patosistemas agrícolas. In M. N. Bautista, R. L. Soto & P. R. Pérez (Eds.). *Tópicos selectos de estadística aplicados a la fitosanidad*. Montecillo: Colegio de Posgraduados
- Randell, R. S., Howarth, D. G., & Morden, C. W. (2004). Genetic analysis of natural hybrids between endemic and alien *Rubus* (Rosaceae) species in Hawaii. *Conservation Genetics*, 5, 217–230. doi: 10.1023/B:COGE.0000030006.30410.5d
- Rebollar-Alviter, A., & Silva-Rojas, H. V. (2020). *La marchitez de la zarzamora: Diagnóstico, epidemiología y manejo integrado*. Chapingo: Universidad Autónoma Chapingo.
- Reid, W. V., & Miller K. R. (1989). *Keeping options alive. The scientific basis for conserving biodiversity*. Washington: World Resource Institute.
- SAGARPA. (2017). *Frutas del bosque*. Planeación Agrícola Nacional 2017-2030, Secretaría De Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Agricultura.

Consultado en <https://www.gob.mx/Cms/Uploads/Attachment/File/257076/Potencial-Frutas-Del-Bosque.Pdf>.

- Shaney, G., & Finney, R. E. (1977). The effect of nitrogen fertilization on the expression of slow-mildewing resistance in knox wheat. *Phytopathology*, 67, 1051-1056
- SIAP. (2021). Datos *anuales de producción y valor de producción de fresa, frambuesa y zarzamora*. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Consultado en <https://www.gob.mx/siap>.
- Strik, B.C., Finn, C.E., Clark, J.R., & Pilar Bañados, M. (2008). Worldwide production of blackberries. *Acta Horticulturae*, 777, 209-218. doi.org/10.17660/ActaHortic.2008.777.31
- Strik, B. C., & Finn, C. E. (2012). Blackberry production systems - A worldwide perspective. *Acta Horticulturae*, 946, 341–347.
- Swanson, J.D., Carlson, J. E., Fernandez-Fernandez, F., Finn, C., Graham, J., Weber, C., & Sargent, D. (2011). Raspberries and blackberries. In K. M. Folta & C. Kole (Eds.). *Genetics, genomics and breeding of berries* (pp 64–78). Boca Raton: CRC Press.
- Thompson, M. M. (1997). Survey of chromosome numbers in *Rubus* (Rosaceae: Rosoideae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 84, 128–164. doi: 10.2307/23 99958
- Waggoner, E. (1986). Progress curves of foliar diseases: Their interpretation and use. *Plant Disease Epidemiology*, 1, 3-37.
- Wang, X. R., Tang, H. R., Duan, J., & Li, L. (2008). A comparative study on karyotypes of 28 taxa in *Rubus* sect. *Idaeobatus* and sect. *Malachobatus* (Rosaceae) from China. *Journal of Systematics and Evolution*, 46(4), 505–515. doi: 10.3724/SP.J.1002.2008.07079

2 SUSCEPTIBILIDAD DE 13 ACCESIONES DE *Rubus* spp. A *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* Y AJUSTE DE POLÍGONO CIELAB PARA CUANTIFICAR SEVERIDAD

2.1 Resumen

Fusarium oxysporum f. sp. *mori* es patógeno a zarzamora y fresa. Es el principal problema fitosanitario de la producción de zarzamora en México, y también ha sido reportado en California, EE.UU. La enfermedad puede disminuir con un sistema de enfoque preventivo, ya que no hay tratamiento eficaz para las plantas enfermas. Por ello se buscan cultivares con resistencia a esta enfermedad. El objetivo del estudio fue discriminar accesiones de *Rubus* spp. por susceptibilidad a *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*, generar una escala de severidad y las coordenadas del polígono de colores necesarios para identificar daño de este. Se utilizaron 12 accesiones nativas del suroeste y centro de México y una variedad comercial. La unidad experimental fue una planta con tres repeticiones en un contenedor rectangular sin drenaje, con suelo como sustrato. La inoculación se hizo por inmersión de las raíces podadas en una suspensión de conidios 1×10^6 esporas/mL, por 40 minutos. Las plantas se colocaron en un invernadero de vidrio bajo condiciones de 24 a 28 °C y humedad relativa mayor a 80 %. Se tomó un registro fotográfico para documentar la incidencia y el progreso del síntoma. La accesión con mayor susceptibilidad fue 'Chiapas 6*1', y con menor susceptibilidad las accesiones 'Hidalgo 2.4' y 'Chiapas 2'. Las coordenadas encontradas del polígono CIELAB para obtener la detección de *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* se descompusieron en dos colores, verde y café-rojizo, donde los pixeles color verde se encuentran en: -25, 80; -14, 67; -7, 26; -4, 14; -5, 0; -10, -6; -20, -8; -50, -10; -71, 5; -85, 32; -79, 65; -58, 75; -31, 81; y las del color café-rojizo son: 12,16; 0,15; -4, 26; 0, 29; 16, 34; 16, 37; 28, 37; 35, 37; 32, 29; 22, 20; 12, 16.

Palabras clave: zarzamora silvestre, resistencia genética, susceptibilidad genética, procesamiento de imágenes.

2.2 Abstract

Fusarium oxysporum f. sp. *mori* is pathogenic to blackberry and strawberry. It is the main phytosanitary problem of blackberry production in Mexico, and has also been reported in California, USA. The disease can be reduced with a preventive approach since there is no effective treatment for diseased plants. Therefore, cultivars with resistance to this disease are being required. The objective of the study was to discriminate *Rubus* spp. accessions for susceptibility to *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*, generate a severity scale and the color polygon coordinates necessary to identify the presence of *Fusarium oxysporum*. Twelve accessions native to southwestern and center of Mexico, and one commercial variety were used. The experimental unit was one plant with three replicates in a rectangular container without drainage and soil as substrate. Inoculation was done by immersion of the pruned roots in a suspension of conidia 1×10^6 spores/mL, for 40 minutes. The plants were placed in a glass greenhouse under conditions of 24 to 28 °C and relative humidity greater than 80 %. A photographic record was taken to document the incidence and progress of the symptom. The scale generated was 1=5 %, 2=15 %, 3=50 %, 4=75 % and 5=100 % of accumulated damage in both roots and aerial part. The accessions with the highest susceptibility were 'Acambay 1', 'Chiapas 1', 'Chiapas 6x1' and 'Hidalgo 3.3', and with less susceptibility the accessions 'Hidalgo 2.4' and 'Chiapas 2'. The coordinates found from the CIELAB polygon to obtain the detection of *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* were decomposed into two colors, green and reddish-brown, where the green pixels are located at: -25, 80; -14, 67; -7, 26; -4, 14; -5, 0; -10, -6; -20, -8; -50, -10; -71, 5; -85, 32; -79, 65; -58, 75; -31, 81; and those of reddish-brown color are: 12, 16; 0, 15; -4, 26; 0, 29; 16, 34; 16, 37; 28, 37; 35, 37; 32, 29; 22, 20; 12, 16.

Key words: wild blackberry, genetic resistance, genetic susceptibility, image processing.

2.3 Introducción

La “marchitez” por *Fusarium* es el principal problema fitosanitario de la producción de zarzamora en México y ha sido reportado también en California, EE.UU. Se han reconocido cepas en común altamente patogénicas en ambos lugares, por lo que Pastrana, Kirkpatrick, Kong, Broome y Gordon (2017), designaron como *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* a las cepas patogénicas a las zarzamoras. Dicha enfermedad ha disminuido el área de producción en suelo y por ello se han implementado sistemas hidropónicos, lo cual incrementa los costos de producción. La incidencia del patógeno puede disminuir basándose en un sistema de enfoque preventivo, debido a que no hay tratamiento eficaz para las plantas enfermas (Nel, Steinberg, Labuschagne & Viljoen, 2007; Elmer, 2006; Koike & Gordon, 2015). El hongo puede sobrevivir en forma de clamidosporas en ausencia del hospedante o en condiciones ambientales adversas, por décadas en el suelo infestado (Ploetz, 2015).

La Asociación Nacional de Exportadores de Berries (ANEBERRIES, 2018), recomendó para la prevención de la “marchitez” por *Fusarium*, evitar plantaciones en campos donde se tenga antecedente de infestación, realizar desinfección de estos con Piclor (60 cloropicrina: 40 1,3 dicloropropeno) a una dosis de 300-350 lb/acre ó cloropicrina sola a dosis de 300-400 lb/acre, y utilizar material vegetativo libre de *F. oxysporum* f. sp. *mori*, que provenga de viveros certificados.

Por esta situación, en México las empresas exportadoras de fruta que tienen establecida un área de mejoramiento varietal buscan que los nuevos cultivares cuenten con tolerancia o resistencia a ciertas condiciones ambientales, plagas o enfermedades, además de tener características deseables para el consumidor. A pesar de que ya se cuenta con técnicas avanzadas para determinar molecularmente la genética de los individuos generados en dichos programas de mejoramiento, por la alta cantidad de individuos generados llega a ser incosteable el análisis individual, por ello, les ha sido útil construir escalas fisiológicas, sintomáticas o de colores para poder descartar rápidamente los individuos que no son de interés.

El procesamiento digital de imágenes puede utilizarse para reducir la subjetividad de los operadores en campo (Castro, Cerqueña & Gutierrez, 2013). El porcentaje de daño en una planta se puede conocer por medio de paquetes estadísticos y formatos de color como el CIELAB, el cual usa el valor de L (luminosidad), el valor de “a” (de verde a rojo) y el valor de “b” (de azul a amarillo) (Iñiguez, Ortega, Rosales, Orive & Puras, 1995), donde los valores de “a” y “b” van de -100 a 100 y de “L” de 0 a 100. El principio es que, si una imagen tiene pixeles con distintos tonos de luminosidad, se pueden proyectar a tonos donde el plano de la luminosidad sea cero y con esto observar la composición de color que tiene y calcular el área que ocupan regularmente los pixeles de algún color específico en el plano CIELAB. Además, se puede conocer el porcentaje de dicho color específico en una imagen, comparando los valores de cada pixel de la imagen, para saber si dicho pixel está dentro del área en donde están los pixeles predominantes, con lo que se le puede asignar un valor o color a la sintomatología de *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*.

El objetivo del estudio fue discriminar accesiones de *Rubus* spp. altamente susceptibles a *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* y generar las coordenadas del polígono de colores necesarios para identificar la presencia de este, para la toma de decisiones oportunas y así lograr un manejo eficaz.

2.4 Materiales y métodos

2.4.1 Localización geográfica

El experimento se llevó a cabo en el invernadero #7 del Campo Experimental del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo en el municipio de Texcoco de Mora, Estado de México. Localizado a 2,250 msnm, en las coordenadas 19°29'25.1" LN 98°52'25.2" LO, donde se inocularon accesiones silvestres de *Rubus* spp.

2.4.2 Accesiones de *Rubus* spp. evaluadas

Se utilizaron 12 accesiones nativas del suroeste México y una variedad comercial (Cuadro 2).

Cuadro 2. Accesiones de *Rubus* spp. evaluadas

Código	Accesión	Tipo de fruto	Origen
1	‘Chiapas 1’	Zarzamora	Carretera San Cristóbal-Tuxtla, Chiapas
B	‘Chiapas 2’	Zarzamora	Zinacantán, Chiapas
2	‘Hidalgo 2.2’	Zarzamora	La Mojonera, Zacualtipan De Ángeles, Hidalgo
3	‘Chiapas 6x1’	No determinada	Zinacantan, Chiapas
4	‘Chiapas 6x2’	No determinada	Zinacantan, Chiapas
5	‘Niños 2’	Zarzamora	Huixtan, Chiapas
J	<i>R. schideanus</i> ‘Chiapas	Zarzamora	Damasco, Teopisca, Chiapas
6	16°44’29.2"-92° 29’0.52"	Zarzamora	Huixtán, Chiapas
7	‘Acambay 1’	Frambuesa	Acambay, Estado de México
A	‘Veracruz 14’	Frambuesa	Rio Frío, Estado de México
C	‘Hidalgo 2.4’	Zarzamora	La Mojonera, Zacualtipan de Ángeles, Hidalgo
8	‘Hidalgo 3.3’	Zarzamora	San Agustín Metzquitlán, Hidalgo
G	‘Tupy’	Zarzamora	Texcoco, Estado de México

Fuente: Elaboración propia

2.4.3 Cepa de *Fusarium oxysporium* f. sp. *mori*

La cepa, fue colectada, aislada y purificada en 2017 por el Dr. Salvador Ochoa Ascencio de la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”, Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Uruapan, Michoacán, México. En enero del 2019 se nos proporcionó una muestra de la cepa virulenta para utilizarla en este experimento.

2.4.4 Diseño del escrutinio y unidad experimental

Se evaluaron 12 accesiones nativas del suroeste y centro de México, y una variedad comercial en un contenedor rectangular sin drenaje, con suelo como sustrato.

La unidad experimental fue de una planta con tres repeticiones, se colocaron en línea dentro contenedor, en el cual se colocaron tres colectas y se mantuvo constante la humedad regando cada tercer día con agua pura.

2.4.5 Multiplicación de la cepa de *F. oxysporum* f. sp. *mori*

Para multiplicar la cepa se transfirieron secciones perimetrales de una colonia en PDA no mayores a 0.5 cm² de la cepa original, a cajas Petri con medio agua-agar (AA) (Cuadro 3), después de 4 días de crecimiento mediante punta de hifa se transfirió la cepa a medio natural de papa-dextrosa-agar (PDA) (Cuadro 3).

Cuadro 3. Medios utilizados para la propagación de la cepa

Reactivo	Nombre del medio	
	Agua-Agar (AA)	Papa-Dextrosa-Agar (PDA)
Agar (g)	20	16
Dextrosa (g)		20
Papa (g)		200
Agua (L)	1	1

Fuente: Elaboración propia

Para el PDA, se preparó previamente una infusión de papa, colocando 200 g de papas cortadas en rodajas peladas en 1 litro de agua destilada durante 10 minutos en una autoclave a 15 psi, se filtró la infusión a través de una gasa. Se añadió agua destilada hasta que la suspensión fuera 1 litro. Se añadieron 20 g de dextrosa y agar en polvo (16 g), el medio se esterilizó en una autoclave a 15 psi (121 °C) durante 15 minutos. En el caso del AA, se añadió el agar en polvo (20 g) a un litro de agua destilada y se esterilizó en una autoclave a 15 psi (121 °C) durante 15 minutos.

2.4.6 Inoculación de la cepa de *F. oxysporum* f. sp. *mori* en las accesiones de *Rubus* spp.

La inoculación se hizo por inmersión de las raíces podadas en una suspensión de conidios (1×10^6 esporas/mL) por 40 minutos. Dicha solución se preparó cuando la cepa tenía 15 días de crecimiento en la caja Petri con PDA. Se utilizaron siete cajas por litro y dos gotas de Tween 80 como emulsionante. Las

raíces de las plantas usadas como testigo se colocaron 40 minutos en agua destilada estéril. Una vez terminado este procedimiento las plantas se depositaron dentro de un contenedor rectangular sin drenaje, con suelo como sustrato, las cuales se colocaron en un invernadero de vidrio bajo condiciones de 24 a 28 °C y humedad relativa mayor al 80 %.

2.4.7 Escrutinio de las accesiones de *Rubus* spp inoculadas con *F.oxysporum* f. sp. *mori*

Del 29 de julio al 9 de septiembre del 2019 se tomó un registro fotográfico cada tercer día, para documentar la incidencia y el progreso de la enfermedad en las accesiones, la cual se determinó mediante el registro de los síntomas. Al finalizar la evaluación, las plantas fueron retiradas del contenedor y cortadas verticalmente para documentar el daño en el tallo.

2.4.8 Área Bajo la Curva del Progreso de la Enfermedad de 12 accesiones *Rubus* spp. nativas del suroeste y centro de México y una variedad comercial

Al finalizar la evaluación, las plantas fueron retiradas del contenedor y cortadas verticalmente para documentar el daño en el tallo. Los datos de la severidad de cada fecha y cada tratamiento se procesaron con el programa estadístico de SAS 9.1, para obtener el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE), donde se utilizó una escala de daño 1=5 %, 2=15 %, 3=50 %, 4=75 % y 5=100 % adaptada a la metodología descrita por Campbell & Madden (1990).

2.4.9 Determinación de polígono CIELAB

Para obtener el polígono de la marchitez en *Rubus* spp., se tomaron fotografías durante toda la etapa del experimento con las mismas condiciones de luz. Se analizaron las imágenes de *Rubus* spp. inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *mori*, algunas con el síntoma y otras sanas. El propósito fue encontrar el porcentaje de marchitez que la planta presentaba en la imagen. Se utilizó el formato de color CIELAB, en el cual se requieren dos datos para identificar cualquier color: el valor de “a” y el de “b”. Se tomaron muestras de pixeles de la imagen, para identificar

las coordenadas donde se encontraban esos colores dentro del formato LAB proyectados en el plano donde la luminosidad es 0. Se extrajeron algunos pixeles y se colocaron en el plano “a” y “b” del formato de color CIELAB. Para dibujarlos en el plano, únicamente se dibujó un punto. A medida que se extrajeron más y más pixeles de la foto y se colocaban en el plano “a” y “b”, se comenzó a observar el área donde predominaban en el plano. De esta manera, se dibujó un polígono que incluía el área deseada. Así, todos los pixeles que quedaron dentro del área del polígono fueron del color buscado y esto permitió conocer los porcentajes respectivos.

En este caso primero se obtuvo el porcentaje de color verde en la imagen. En las imágenes se extrajeron muestras de pixeles únicamente verdes. Estos pixeles se dibujaron en el plano del formato de color CIELAB. Una vez obtenidas las muestras, se procedió a dibujar un polígono alrededor de los pixeles proyectados.

Para corroborar el buen funcionamiento del polígono se calculó el porcentaje de color verde en una imagen de *Rubus* sp. se obtuvo una imagen con pixeles cambiados a color blanco en donde se ubicaban pixeles verdes (Figura 3).



Figura 3. Imagen original de una planta de *Rubus* sp. (izquierda) e imagen en donde los pixeles verdes encontrados fueron cambiados a color blanco y contados para estimar el porcentaje de pixeles verdes en una imagen (derecha).

Para determinar el porcentaje de pixeles verdes, se dividió el número de pixeles verdes entre el número total de pixeles en la imagen, el resultado se multiplicó por 100. Se observó que el polígono identificó correctamente los pixeles con coloración verde.

Posteriormente, se determinó el porcentaje de color del síntoma de marchitez. Se realizó el mismo procedimiento usado para determinar el color verde, excepto que en esta ocasión se identificaron únicamente los pixeles del color de la marchitez y se dibujaron en el plano del formato CIELAB con el valor de luminosidad igual a 0.

Para verificar el correcto funcionamiento se evaluó de manera visual si el polígono identificó correctamente a la marchitez. A la imagen original se le cambió a color blanco los pixeles que encontró como pixeles con marchitez (Figura 4).



Figura 4. Imagen original de planta de *Rubus* sp. (izquierda) e imagen en donde los pixeles encontrados con marchitez fueron cambiados a color blanco y contados para estimar el porcentaje de pixeles con marchitez en una imagen (derecha).

Los porcentajes se estimaron con respecto al total de pixeles de la imagen. Para determinar el porcentaje de marchitez en *Rubus* sp. se utilizó la siguiente fórmula:

$$P_{marchitez} = \frac{M * 100}{(V + M)}$$

Donde $P_{marchitez}$ es el porcentaje de marchitez por *F. oxysporum* f. sp. *mori* en la planta de *Rubus* sp., M es el porcentaje de pixeles con marchitez determinados con respecto a todos los pixeles de la imagen y, V es el porcentaje de pixeles verdes encontrados con respecto a todos los pixeles en la imagen. Ejemplo, $M = 22.18\%$ y $V = 64.61\%$, sustituyendo en la ecuación:

$$P_{marchitez} = \frac{22.18 * 100}{(64.61 + 22.18)} = 25.5\%$$

Por lo tanto, en la imagen se obtuvo que el porcentaje de marchitez en la planta correspondiente es de 25.5 %.

2.5 Resultados y discusión

Durante el desarrollo del escrutinio se observaron en las accesiones la sintomatología típica descrita por Rebollar-Alviter & Silva-Rojas (2020), flacidez en los brotes, acompañado con un ligero cambio de color, en la base del tallo una franja café oscuro que se extiende de abajo hacia arriba generalmente en un lado del tallo. Los cuales generalmente se presentan entre los 30 a 45 días después de la inoculación, aunque este período puede variar en función de la variedad.

De acuerdo con el análisis del ABCPE (Cuadro 4), la accesión que presentó menor susceptibilidad fue 'Hidalgo 2.4', si bien hubo diferencia cualitativa, cuantitativamente el resto de las accesiones es igual de susceptible que la variedad comercial 'Tupy'.

Cuadro 4. Análisis de Varianza no paramétrico y clasificación de las medias con ABCPE para susceptibilidad

Accesión	ABCPE		Días
'Chiapas 6x1'	401.10	a ^z	45
'Hidalgo 3.3'	379.36	ab	45
'Niños 2'	379.10	ab	45
'Chiapas 1'	368.61	ab	44
'Acambay 1'	334.92	abc	44
'Chiapas 6x2'	324.68	abc	45
'Tupy'	293.80	bcd	45
'Hidalgo 2.2'	283.53	bcd	45
' <i>R. shideanus</i> '	247.87	cd	45
'Chiapas 16°44'	246.62	cd	45
'Veracruz 14'	236.60	cd	45
'Chiapas 2'	215.99	d	45
'Hidalgo 2.4'	92.01	e	45

^zMedias con la misma letra no difieren estadísticamente.

Sin embargo, dichas diferencias cualitativas nos ayudaron a diferenciar dos accesiones con menor susceptibilidad 'Chiapas 2' y 'Hidalgo 2.4', ya que fueron las que menor daño presentaron en la raíz (Figura x y x), además de que generaron brotes nuevos desde la raíz principal, lo cual pudiera referirse a un posible mecanismo de resistencia al patógeno.

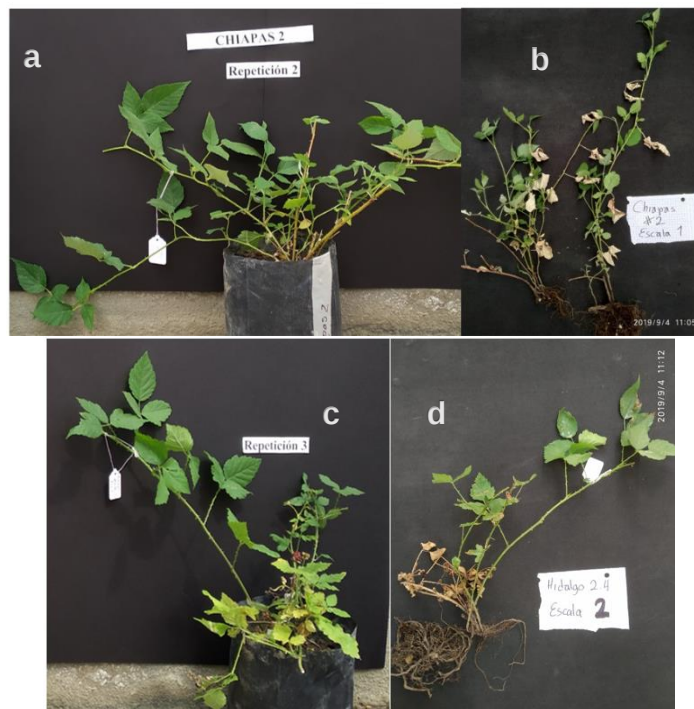


Figura 5. Accesiones de *Rubus* spp. con menor susceptibilidad a *Fusarium o. f. sp. mori*: a: 'Chiapas 2' al iniciar evaluación; b: 'Chiapas 2' al terminar evaluación; c: 'Hidalgo 2.4' al iniciar evaluación; d: 'Hidalgo 2.4' al terminar evaluación.

Posteriormente con el registro fotográfico se procedió a analizar las áreas donde se manifestó el síntoma *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* para encontrar las coordenadas del polígono, el cual se podrá utilizar para analizar cualquier imagen de *Rubus* sp. con síntomas de marchitez.

Las coordenadas encontradas del polígono para obtener la detección de los pixeles color verde son: -25, 80; -14, 67; -7, 26; -4, 14; -5, 0; -10, -6; -20, -8; -50, -10; -71, 5; -85, 32; -79, 65; -58, 75; -31, 81. Las coordenadas del polígono para obtener la detección de los pixeles color café-rojizo son: 12, 16; 0, 15; -4, 26; 0, 29; 16, 34; 16, 37; 28, 37; 35, 37; 32, 29; 22, 20; 12, 16 (Figura 6).

La exactitud es la proximidad que tiene un valor estimado con el valor real, la precisión es la repetitividad asociada con una estimación; y reproducibilidad es la ausencia de variación en las estimaciones cuando diversos evaluadores

cuantifican la misma característica (Nascimento, Michereff, De la Rosa & Gómez, 2005).

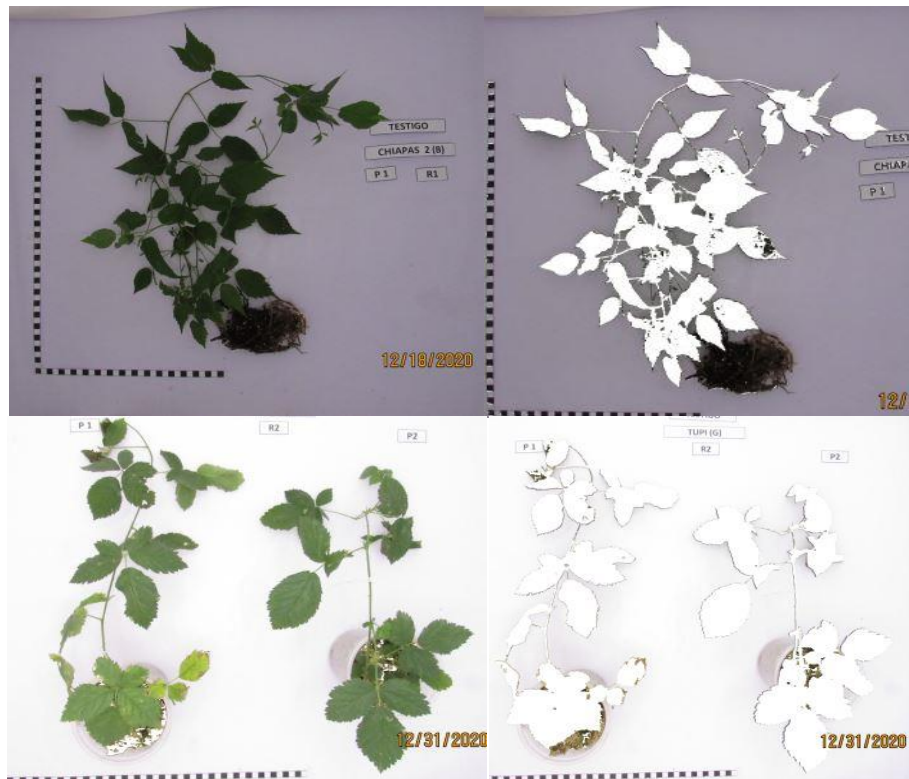


Figura 6. Imágenes de plantas del género de *Rubus* sp. usadas para probar los polígonos para la detección de síntomas de marchitez causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*.

Otra forma de medir la intensidad de una enfermedad es mediante escalas logarítmicas diagramáticas, las cuales consisten en la representación ilustrada de una serie de plantas o partes de plantas mostrando los síntomas de una enfermedad en diferentes grados de severidad (Nascimento et al., 2005). En algunas ocasiones al utilizar escalas diagramáticas se puede presentar la sobreestimación de los niveles de severidad (Barbosa, Michereff & Mora, 2006). Las hojas con severidades similares, pero con un número diferente de lesiones generan una tendencia a sobreestimar la enfermedad, sobre todo cuando el número de lesiones es muy alto y su tamaño pequeño (Sherwood, Berg, Hoover & Zeiders, 1983). Para incrementar los valores de precisión y exactitud al usar escalas diagramáticas es recomendable familiarizar a los evaluadores (Tovar, Hernández, Cristóbal, Romero & Mora, 2002).

2.6 Literatura citada

- ANEBERRIES (2018). *Estrategia de manejo de Fusarium oxysporum f. sp. mori en zarzamora*. Asociación Nacional de Exportadores de Berries. Consultado en <http://www.aneberries.mx/uploads/2018/07>
- Barbosa, M. A., Michereff, S. J., & Mora, A. G. (2006). Elaboration and validation of diagrammatic key to evaluate white rust severity in *Chrysanthemum*. *Summa Phytopathologica*, 32, 57-62.
- Castro Camacho, J. K., Cerquera Peña, N. E., & Gutierrez Guzmán, E. (2013). Determinación del color del exocarpio como indicador de desarrollo fisiológico y madurez en la guayaba pera (*Psidium guajava* cv. Guayaba pera), utilizando técnicas de procesamiento digital de imágenes. *Revista EIA*, 10(19), 79-89.
- Campbell, C. L. & Madden, L. V. (1990). *Introduction to plant disease epidemiology*. New York: John Wiley.
- Elmer, W. H. (2006). Effects of acibenzolar-s-methyl on the suppression of *Fusarium* wilt of cyclamen. *Crop Protection*, 25(7), 671-676.
- Íñiguez, M., Ortega, A. P., Rosales, A., Orive, R. A., & Puras, P. (1995). Estudio de color de los vinos tintos de la DOC Rioja. *Zubía*, (7), 167-186.
- Koike, S. T., & Gordon, T. R. (2015). Management of *Fusarium* wilt of strawberry. *Crop Protection*, 73, 67-72.
- Nascimento, R. P. A., Michereff, J. S., De la Rosa, L. R, Gómez, M. A. A. (2005). Elaboração e validação de escala diagramática para cancro bacteriano da videira. *Summa Phytopathologica*, 31, 59-64.
- Nel, B., Steinberg, C., Labuschagne, N., & Viljoen, A. (2007). Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of *Fusarium* wilt of banana. *Crop Protection*, 26(4), 697-705.

- Pastrana, A. M., Kirkpatrick, S. C., Kong, M., Broome, J. C., & Gordon, T. (2017). *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*, a new form specialist causing *Fusarium* wilt of blackberry. *Plant Disease*, 101, 2066-2072.
- Ploetz, R. C. (2015). Management of *Fusarium* wilt of banana: A review with special reference to tropical race 4. *Crop Protection*, 73, 7-15.
- Rebollar-Alviter, A., & Silva-Rojas, H. (2020). *La marchitez de la zarzamora: diagnóstico, epidemiología y manejo integrado*. Chapingo: Universidad Autónoma Chapingo.
- Sherwood, R. T., Berg, C. C., Hoover, M. R., & Zeiders, K. E. (1983). Illusions in visual assessment of *Stagonospora* leaf spot of orchard grass. *Phytopathology*, 73(2), 173-177.
- Tovar, S. A., Hernández, M. M., Cristóbal, A. J., Romero, H. R., & Mora, A. G. (2002). Escala logarítmica diagramática de severidad de la mancha negra (*Colletotrichum gloeosporioides* Penz.) en chirimoyo (*Annona cherimola* M.). *Revista Mexicana de Fitopatología*, 20, 103-109.

3 CUANTIFICACIÓN DE LA SUSCEPTIBILIDAD DE 12 ACCESIONES DE *Rubus* spp. A LA MARCHITEZ CAUSADA POR *Fusarium* MEDIANTE ABCPE Y EL POLÍGONO CIELAB

3.1 Resumen

La incidencia de la “marchitez” por *Fusarium* sp. se ha incrementado en las zonas de producción de zarzamora, afectando mayormente al cultivar Tupy. Los síntomas aparecen en cualquier etapa del cultivo, invadiendo el tejido vascular de las plantas. El objetivo fue cuantificar la marchitez por *Fusarium* en accesiones de *Rubus* spp. mediante el polígono CIELAB y ABCPE, para discriminar accesiones altamente susceptibles a este patógeno. Se utilizaron 12 accesiones nativas del suroeste y centro de México y dos variedades comerciales. La unidad experimental fueron dos plantas con tres repeticiones para el grupo testigo y cinco repeticiones para el grupo inoculado, cada planta estaba en un contenedor individual con sustrato turba y perlita (1:1.5) con drenaje. La inoculación se hizo por inmersión de las raíces podadas en una suspensión de conidios 1×10^6 esporas/mL, por 40 minutos. Las plantas se colocaron en un invernadero de vidrio bajo condiciones de 15 a 23 °C y humedad relativa mayor a 80 %. Se tomó un registro fotográfico para documentar la incidencia y el progreso del síntoma, así como diferentes variables de la raíz y parte aérea de cada planta. Los datos de la severidad se procesaron con SAS 9.1, para obtener el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). El análisis de varianza (ANOVA) se realizó con el paquete estadístico Statgraphics Centurion versión XV.II. Se reportaron los valores medios de las variables, y se compararon las medianas con la prueba de Kruskal-Wallis ($P \leq 0.05$). El progreso de la enfermedad se documentó mediante un registro fotográfico analizado con un polígono CIELAB. Las accesiones con mayor susceptibilidad fueron ‘Chiapas 2’, ‘Chiapas 9’, ‘Chiapas 15’ y ‘Veracruz 14’, y con menos susceptibilidad las accesiones ‘Hidalgo I-1’, ‘Hidalgo 2.4’ y ‘Veracruz 7’ y ‘Veracruz 8’.

Palabras clave: zarzamora silvestre, resistencia genética, *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*, procesamiento de imágenes.

3.2 Abstract

The incidence of *Fusarium* sp. wilt has increased in blackberry production areas, affecting mostly the cultivar Tupy. Symptoms appear at any stage of the crop, invading the vascular tissue of the plants. The objective was to quantify *Fusarium* wilt in *Rubus* spp. accessions using the CIELAB and ABCPE polygon, to discriminate accessions highly susceptible to this pathogen. Twelve accessions native to southwestern and center of Mexico and two commercial varieties were used. The experimental unit was two plants with three replicates for the control group and five replicates for the inoculated group, each plant was in an individual container with peat and perlite substrate (1:1.5) with drainage. Inoculation was done by immersion of the pruned roots in a suspension of conidia 1×10^6 spores /L, for 40 minutes. Plants were placed in a glass greenhouse under conditions of 15 to 23 °C and relative humidity greater than 80 %. A photographic record was taken to document the incidence and progress of the symptom, as well as different variables of the root and aerial part of each plant. Severity data were processed with SAS 9.1 to obtain the area under the disease progress curve (ABCPE). Analysis of variance (ANOVA) was performed with the statistical package Statgraphics Centurion version XV.II. The mean values of the variables were reported, and medians were compared with the Kruskal-Wallis test ($P \leq 0.05$). Disease progress was documented by a photographic record analyzed with a CIELAB polygon. The accessions with the highest susceptibility were 'Chiapas 2', 'Chiapas 9', 'Chiapas 15' and 'Veracruz 14', and less susceptible the accessions 'Hidalgo I-1', 'Hidalgo 2.4' and 'Veracruz 7' and 'Veracruz 8'.

Key words: wild blackberry, genetic resistance, *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*, image processing.

3.3 Introducción

En 1974 se hicieron las primeras introducciones de zarzamora en los estados de Michoacán, Puebla, Jalisco y Guanajuato, con el cultivar Brazos, el cual se fue sustituyendo por 'Choctaw', 'Comanche' y 'Cheyenne' en la década de los 90's (Parra-Quezada, Acosta-Rodríguez & Arreola-Ávila, 2005). Cerca del año 2000, el cultivar de uso libre 'Tupy' se posicionó aceleradamente en la zona del valle de los Reyes, en Michoacán, teniendo un desplazamiento lento por las variedades privadas de las comercializadoras extranjeras. Desde 2011 ha incrementado la incidencia de la "secadera" o "marchitez" por *Fusarium* spp. en las zonas de producción de zarzamora, afectando mayormente al cultivar Tupy (Gordon, Kirkpatrick, Henry, Kong & Broome, 2016), donde los síntomas puede aparecer en cualquier etapa del cultivo, invadiendo el tejido vascular de las plantas hospedantes (Nel, Steinberg, Labuschagne & Viljoen, 2007; Elmer, 2006; Koike & Gordon, 2015), ya que, en el Valle de los Reyes se tienen huertas con plantas con más de 18 años de antigüedad, la degradación del cultivar por el paso de los años y el uso indiscriminado de agroquímicos ha provocado que el hongo cree resistencia a muchos de estos. Pastrana, Kirkpatrick, Kong, Broome y Gordon (2017) aislaron y secuenciaron molecularmente diferentes cepas de *F. oxysporum* que afectaban los cultivos de zarzamora en California y México, y designó la amplitud de hospedantes de los mismos, donde los aislamientos comunes procedentes de México y California los llamo como *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*, el cual también puede afectar cultivares de fresa. Especies silvestres de zarzamora y frambuesa pueden ser utilizadas en el desarrollo de los tipos cultivados de *Rubus* sp., estos mayormente son de origen americano o europeo; China tiene gran diversidad que debería ser útil en el mejoramiento para la tolerancia a enfermedades y al ambiente (Jennings, Daubeney & Moore, 1990). Los cultivares deben tener características satisfactorias para el productor, comercializador, procesador y consumidor, además debe poseer características agronómicas adecuadas, alto rendimiento y calidad de la fruta (Hall, 1990). El objetivo fue cuantificar la marchitez por *Fusarium* en *Rubus* sp. mediante el

polígono CIELAB y ABCPE, para discriminar 12 accesiones nativas del suroeste México, altamente susceptibles a este patógeno.

3.4 Materiales y métodos

3.4.1 Localización geográfica

El experimento se llevó a cabo del 17 de diciembre 2020 al 10 de febrero del 2021 en el invernadero #7 del Campo Experimental del Departamento de Fitotecnia de la Universidad Autónoma Chapingo, en el municipio de Texcoco de Mora, Estado de México, localizado a 2,250 msnm, en las coordenadas 19°29'25.1" LN 98°52'25.2" LO, donde se propagaron e inocularon accesiones silvestres de *Rubus* spp.

3.4.2 Accesiones de *Rubus* spp. evaluadas

Se utilizaron 12 accesiones nativas del suroeste y centro de México, y dos variedades comerciales (Cuadro 4).

Cuadro 5. Accesiones de *Rubus* spp. Evaluadas.

Código	Accesión	Tipo De Fruto	Origen
A	'Veracruz 14'	Frambuesa	Rio Frío, Estado de México
B	'Chiapas 2'	Zarzamora	Zinacantán, Chiapas
C	'Hidalgo 2.4'	Zarzamora	La Mojonera, Zacualtipán de Ángeles, Hidalgo
D	'Vigas Veracruz'	Zarzamora	Vigas de Ramírez, Veracruz
E	'Autum Bliss'	Frambuesa	Texcoco, Estado de México
F	'Hidalgo I-1'	Zarzamora	Plomosas, Jacala de Ledezma, Hidalgo
G	'Tupy'	Zarzamora	Texcoco, Estado de México
H	'Veracruz 7'	Zarzamora	Las Cañadas, Huatusco de Chicuéllar, Veracruz
I	'Veracruz 10'	Desconocido	Rafael Lucio, Veracruz
J	' <i>R. schideanus</i> '	Zarzamora	Damasco, Teopisca, Chiapas
K	'Hidalgo 3.1'	Zarzamora	San Agustín Metzquititlán, Hidalgo
L	'Chiapas 9'	Zarzamora	Chiapas
M	'Chiapas 15'	Zarzamora	Chiapas
N	'Veracruz 8'	Zarzamora	Micoxtla, Xico, Veracruz

Fuente: Elaboración propia

3.4.3 Purificación y multiplicación de cepa *F. oxysporum* f. sp. *mori*

Se hizo un reaislamiento de las plantas de cada una de las accesiones inoculadas con *F. oxysporum* f. sp. *mori* en el experimento de septiembre. Se cortaron rodajas del tallo de cinco mm de espesor aproximadamente, se lavaron en hipoclorito de sodio al 1 % por cuatro minutos y se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril, se colocaron en papel absorbente dentro del área estéril, una vez secas se colocaron seis rodajas por caja Petri con medio PDA-Deshidratado (Cuadro 5). Después de tres días de crecimiento, por medio de la técnica de punta de hifa se transfirieron segmentos al medio de cultivo Agua-Agar (Cuadro 5) para asegurar que no tuviera algún contaminante. Después de cinco días de crecimiento, se transfirieron secciones perimetrales no mayores a 0.5 cm² a PDA-Natural y conservar la cepa.

Cuadro 6. Medios utilizados e ingredientes para la propagación de la cepa.

Reactivo	Nombre del medio		
	Agua-Agar (AA)	Papa-Dextrosa-Agar-Natural (PDA)	Papa-Dextrosa-Agar-deshidratado (PDA)
Agar (g)	20	16	
Dextrosa (g)		20	
Papa(g)		200	
DIFCO® (g)			40
Agua destilada (l)	1	1	1

Fuente: Elaboración propia

Para el PDA, se preparó previamente una infusión de papa, colocando 200 g de papas cortadas en rodajas peladas en 1 litro de agua destilada durante 10 minutos en una autoclave a 15 psi, se filtró la infusión a través de una gasa. Se añadió agua destilada hasta que la suspensión fuera 1 litro. Se añadieron 20 g de dextrosa y agar en polvo (16 g), el medio se esterilizo en una autoclave a 15 psi (121°C) durante 15 minutos. En el caso del AA y PDA-D, se añadió el agar en

polvo (20 g) o 40 g de DIFCO® a un litro de agua destilada y se esterilizo en una autoclave a 15 psi (121°C) durante 15 minutos.

3.4.4 Diseño experimental

El diseño de tratamientos fue factorial donde se evaluaron 12 accesiones y 2 variedades comerciales en presencia y ausencia del inoculo, lo que genero 28 tratamientos. Además, como un testigo adicional, en una accesión y una variedad comercial, se hicieron los mismos tratamientos, pero sin podar las raíces, lo que genero 4 tratamientos más, dando un total de 32 tratamientos (Cuadro 6). La unidad experimental se compuso de dos plantas, cada una en contenedor individual con mezcla de sustrato 1:1.5 (turba:perlita) y drenaje, se mantuvo constante la humedad regando cada tercer día con agua pura. El diseño experimental fue en bloques incompletos completamente al azar con 5 repeticiones para el bloque inoculado y 3 para el bloque testigo.

Cuadro 7. Tratamientos utilizados para la inoculación

Núm. Trat.	Accesión	Poda	Inóculo	Núm. Trat.	Accesión	Poda	Inóculo
1	'Veracruz 14'	Con	Sin	3	'Chiapas 2'	Con	Sin
2	'Veracruz 14'	Con	Con	4	'Chiapas 2'	Con	Con
5	'Hidalgo 2.4'	Sin	Sin	7	'Hidalgo 2.4'	Con	Sin
6	'Hidalgo 2.4'	Sin	Con	8	'Hidalgo 2.4'	Con	Con
9	'Vigas, Veracruz'	Con	Sin	11	'Autum Bliss'	Con	Sin
10	'Vigas, Veracruz'	Con	Con	12	'Autum Bliss'	Con	Con
13	'Hidalgo I-1'	Con	Sin	15	'Tupy'	Sin	Sin
14	'Hidalgo I-1'	Con	Con	16	'Tupy'	Sin	Con
17	'Tupi'	Con	Sin	19	'Veracruz 7'	Con	Sin
18	'Tupi'	Con	Con	20	'Veracruz 7'	Con	Con
21	'Veracruz 10'	Con	Sin	23	<i>Rubus schideanus</i>	Con	Sin
22	'Veracruz 10'	Con	Con	24	<i>Rubus schideanus</i>	Con	Con
25	'Hidalgo 3.1'	Con	Sin	27	'Chiapas 9'	Con	Sin
26	Hidalgo 3.1	Con	Con	28	'Chiapas 9'	Con	Con
29	'Chiapas 15'	Con	Sin	31	'Veracruz 8'	Con	Sin
30	'Chiapas 15'	Con	Con	32	'Veracruz 8'	Con	Con

3.4.5 Multiplicación de las accesiones de *Rubus* spp.

Las accesiones se multiplicaron en el periodo de verano a otoño del 2020. Se podaron y lavaron las raíces de las plantas madre para retirar el exceso de suelo, después fueron tratadas con funguicida (Captan 50) y enraizador (Radix 3000). Previamente se perforaron orificios en la base de vasos plásticos de un litro y se llenaron con una mezcla turba y perlita (1:1.5) como sustrato, donde se sembraron las raíces de cada accesión. Fueron regados de manera uniforme con la misma solución nutritiva.

3.4.6 Multiplicación de la cepa de *F. oxysporum* f. sp. *mori*

Para multiplicar la cepa se transfirieron secciones perimetrales no mayores a 0.5 cm² de la cepa aislada del escrutinio a cajas Petri con medio natural de PDA (Papa-Dextrosa-Agar-Natural) (Cuadro 5).

3.4.7 Inoculación de la cepa de *F. oxysporum* f. sp. *mori* en las accesiones de *Rubus* spp.

Se retiró cada planta de su contenedor plástico y se eliminó todo el sustrato de las raíces hasta dejarlas expuestas, la inoculación se hizo por inmersión de las raíces podadas en una suspensión de conidios (1×10^6 esporas/mL) por 40 minutos. Dicha solución se preparó cuando la cepa tenía 15 días de crecimiento dentro de una caja Petri, se utilizaron siete cajas por litro y dos gotas de Tween 80 como emulsionante. Las raíces de las plantas usadas como testigo se colocaron 40 minutos en agua destilada estéril. Una vez terminado este procedimiento se plantaron nuevamente de forma independiente con sustrato en los vasos plásticos, Estos se colocaron en un invernadero de vidrio bajo condiciones de 15 a 23 °C y humedad relativa mayor al 80 %. Una vez concluido el experimento se realizaron reaislamientos de las plantas inoculadas muertas, para confirmar la presencia de *F. oxysporum* f. sp. *mori* en los tejidos vasculares.

3.4.8 Variables evaluadas en las accesiones de *Rubus* spp.

Previo a la inoculación se tomaron de cada planta dentro de las unidades experimentales las variables descritas en el Cuadro 7.

Cuadro 8. Variables evaluadas antes de la inoculación.

	Variable	Descripción
AI	Altura Inicial	En las plántulas reproducidas por raíz se midió de la base a la punta apical. En las reproducidas por punta apical, se midieron dos brotes laterales.
RI	Longitud Raíz Inicial	Se midió de la base a la punta de la raíz más larga, además se tomaron dos mediciones a diferentes largos de la raíz.
VI	Volumen Radical Inicial	Se midió el volumen indirecto de la raíz mediante el método de desplazamiento de agua.
RP	Longitud Raíz Podada	Se midió la raíz después de la poda.

Fuente: Elaboración propia

Cuando se determinó la muerte de las accesiones, se midieron de todas las plantas las variables descritas en el Cuadro 8.

Cuadro 9. Variables evaluadas después del levantamiento de cada accesión.

	Variable	Descripción
AF	Altura Final	En las plántulas reproducidas por raíz se midió de la base a la punta apical. En las reproducidas por punta apical, se midieron dos brotes laterales.
RF	Longitud Raíz Final	Se midió de la base a la punta de la raíz más larga, además se tomaron dos mediciones a diferentes largos de la raíz.
VF	Volumen Radical Final	Se midió el volumen indirecto de la raíz mediante el método de desplazamiento de agua.
RN	Longitud Raíz Necrosada	Se midió la raíz visiblemente más afectada por el hongo.

Fuente: Elaboración propia

3.4.9 Escrutinio de las accesiones de *Rubus* spp. inoculadas con *F.oxysporum* f. sp. *mori*

Del 20 de diciembre del 2020 al 9 de febrero del 2021 se tomó un registro fotográfico cada tercer día del grupo control y una vez por semana del resto, para documentar la incidencia y el progreso de la enfermedad en las accesiones, la

cual se determinó mediante el registro de los síntomas. Al finalizar la evaluación, las plantas fueron retiradas del contenedor y cortadas verticalmente para documentar el daño en el tallo. Los datos de la severidad de cada fecha y cada tratamiento se procesaron con el programa estadístico de SAS 9.1, para obtener el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE). El análisis de varianza (ANOVA) se realizó con el paquete estadístico Statgraphics Centurion versión XV. II. Se reportaron los valores medios de las variables, y se compararon las medianas con la prueba de Kruskal-Wallis ($P \leq 0.05$).

3.5 Resultados y discusión

Las 12 accesiones de *Rubus* spp. presentaron síntomas de marchitez ocasionados por *Fusarium oxisporium* f. sp. *mori.*, en diferentes grados de severidad, y en algunas provocó la muerte de la planta. Esto coincidió con lo mencionado por Rebollar-Alviter y Silva-Rojas (2021), los daños se manifestaron como marchitamientos y amarillamientos progresivos que culminan en secamiento de hojas y posterior muerte de la planta.

Se encontró diferencia estadística significativa en todas variables evaluadas al realizar el análisis de varianza ($P \leq 0.05$) entre medianas (Cuadro 9).

Cuadro 10. Valores encontrados de las variables evaluadas en el análisis de varianza (ANOVA).

Variable	Promedio (cm)	GL	CME	Valor F	Valor de P
AI	20.77	31	277.09	5.12	<0.0001
RI	19.04	31	47.31	5.14	<0.0001
RP	9.11	31	14.4	9.96	<0.0001
AF	19.27	31	212.469	6.26	<0.0001
RF	13.14	31	17.636	17.02	<0.0001
RN	5.825	31	10.14	18.56	<0.0001

AI: altura inicial; RI: longitud inicial de raíz; RP: longitud de raíz podada; AF: altura final; RF: longitud de raíz final; RN: longitud de raíz necrosada.

La prueba de Kruskal-Wallis evaluó el valor de las medianas de cada uno de los 32 tratamientos para cada variable y determinó que existieron diferencias (Figura 6 a 11).

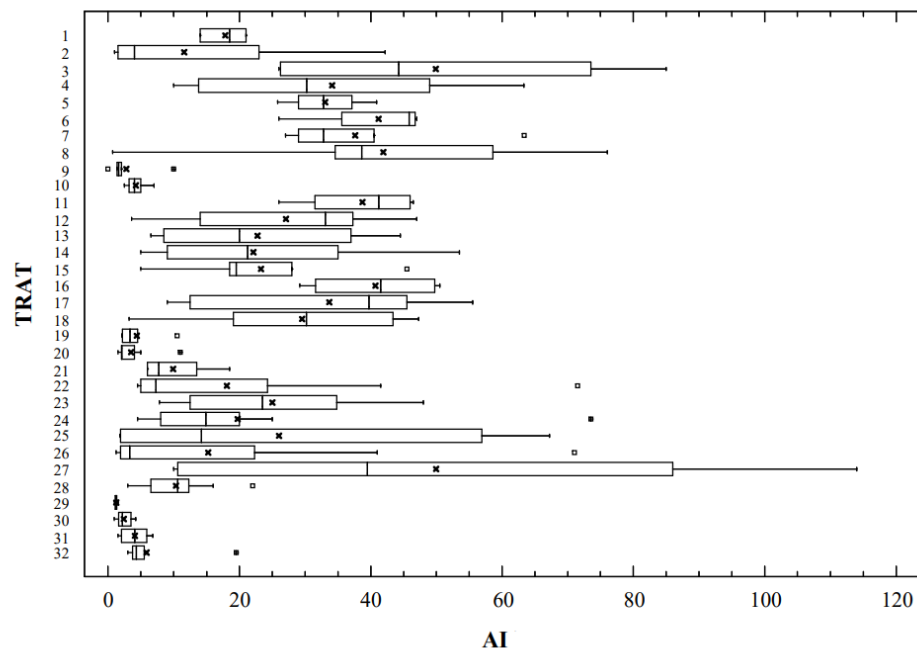


Figura 7. Altura inicial (AI) en plantas de 12 colectas de *Rubus* spp. y dos variedades comerciales. El diagrama de caja y bigotes muestra la distribución de los datos, donde la caja representa los cuartiles primero, segundo (mediana) y tercero con líneas; los bigotes muestran el valor máximo y mínimo de la tendencia general. x Media de los datos. □, + Valores atípicos de la tendencia general. 1: 'Veracruz 14' (T); 2: 'Veracruz 14' (I); 3: 'Chiapas 2' (T); 4: 'Chiapas 2' (I); 5: 'Hidalgo 2.4' (T) s/p; 6: 'Hidalgo 2.4' (I) s/p; 7: 'Hidalgo 2.4' (T) c/p; 8: 'Hidalgo 2.4' (I) c/p; 9: 'Veracruz Vigas' (T); 10: 'Veracruz Vigas' (I); 11: 'Autum Bliss' (T); 12: 'Autum Bliss' (I); 13: 'Hidalgo I-1' (T); 14: 'Hidalgo I-1' (I); 15: 'Tupy' (T) s/p; 16: 'Tupy' (I) s/p; 17: 'Tupy' (T) c/p; 18: 'Tupy' (I) c/p; 19: 'Veracruz 7' (T); 20: 'Veracruz 7' (I); 21: 'Veracruz 10' (T); 22: 'Veracruz 10' (I); 23: '*R. shideanus*' (T); 24: '*R. shideanus*' (I); 25: 'Hidalgo 3.1' (T); 26: 'Hidalgo 3.1' (I); 27: 'Chiapas 9' (T); 28: Chiapas 9' (I); 29: 'Chiapas 15' (T); 30: 'Chiapas 2' (I); 31: 'Veracruz 8' (T); 32: 'Veracruz 8' (I). (T): testigo, (I): inoculado, s/p: sin poda, c/p: con poda

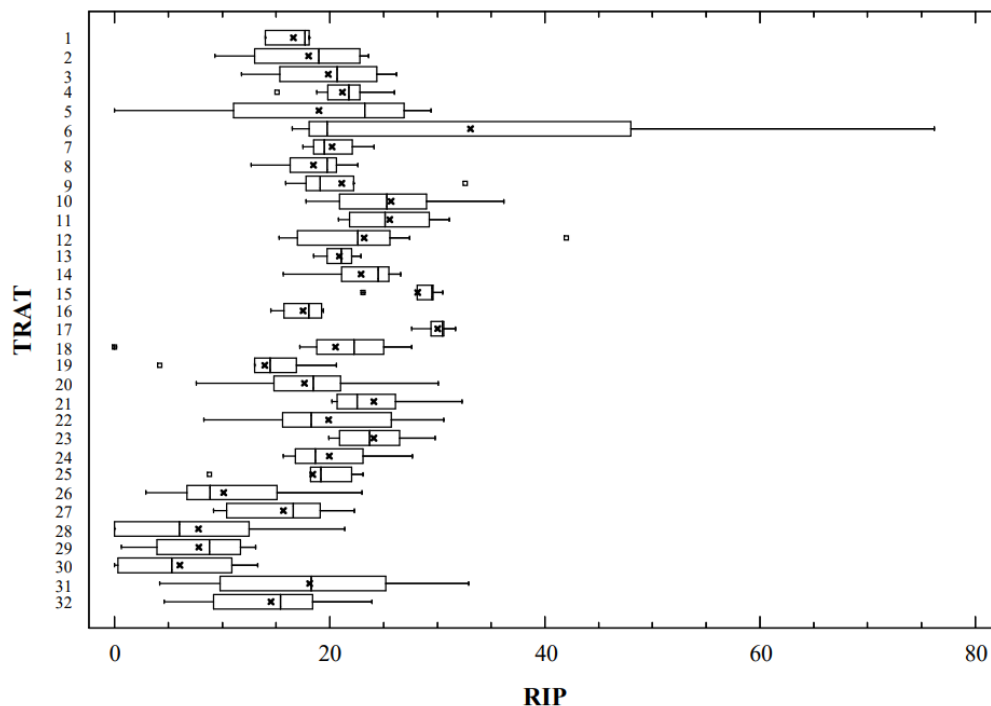


Figura 8. Longitud de raíz (RIP) en plantas de 12 colectas de *Rubus* spp. y dos variedades comerciales. El diagrama de caja y bigotes muestra la distribución de los datos, donde la caja representa los cuartiles primero, segundo (mediana) y tercero con líneas; los bigotes muestran el valor máximo y mínimo de la tendencia general. x Media de los datos. □, + Valores atípicos de la tendencia general. 1: 'Veracruz 14' (T); 2: 'Veracruz 14' (I); 3: 'Chiapas 2' (T); 4: 'Chiapas 2' (I); 5: 'Hidalgo 2.4' (T) s/p; 6: 'Hidalgo 2.4' (I) s/p; 7: 'Hidalgo 2.4' (T) c/p; 8: 'Hidalgo 2.4' (I) c/p; 9: 'Veracruz Vigas' (T); 10: 'Veracruz Vigas' (I); 11: 'Autum Bliss' (T); 12: 'Autum Bliss' (I); 13: 'Hidalgo I-1' (T); 14: 'Hidalgo I-1' (I); 15: 'Tupy' (T) s/p; 16: 'Tupy' (I) s/p; 17: 'Tupy' (T) c/p; 18: 'Tupy' (I) c/p; 19: 'Veracruz 7' (T); 20: 'Veracruz 7' (I); 21: 'Veracruz 10' (T); 22: 'Veracruz 10' (I); 23: *R. shideanus* (T); 24: *R. shideanus* (I); 25: 'Hidalgo 3.1' (T); 26: 'Hidalgo 3.1' (I); 27: 'Chiapas 9' (T); 28: Chiapas 9' (I); 29: 'Chiapas 15' (T); 30: 'Chiapas 2' (I); 31: 'Veracruz 8' (T); 32: 'Veracruz 8' (I). (T): testigo, (I): inoculado, s/p: sin poda, c/p: con poda.

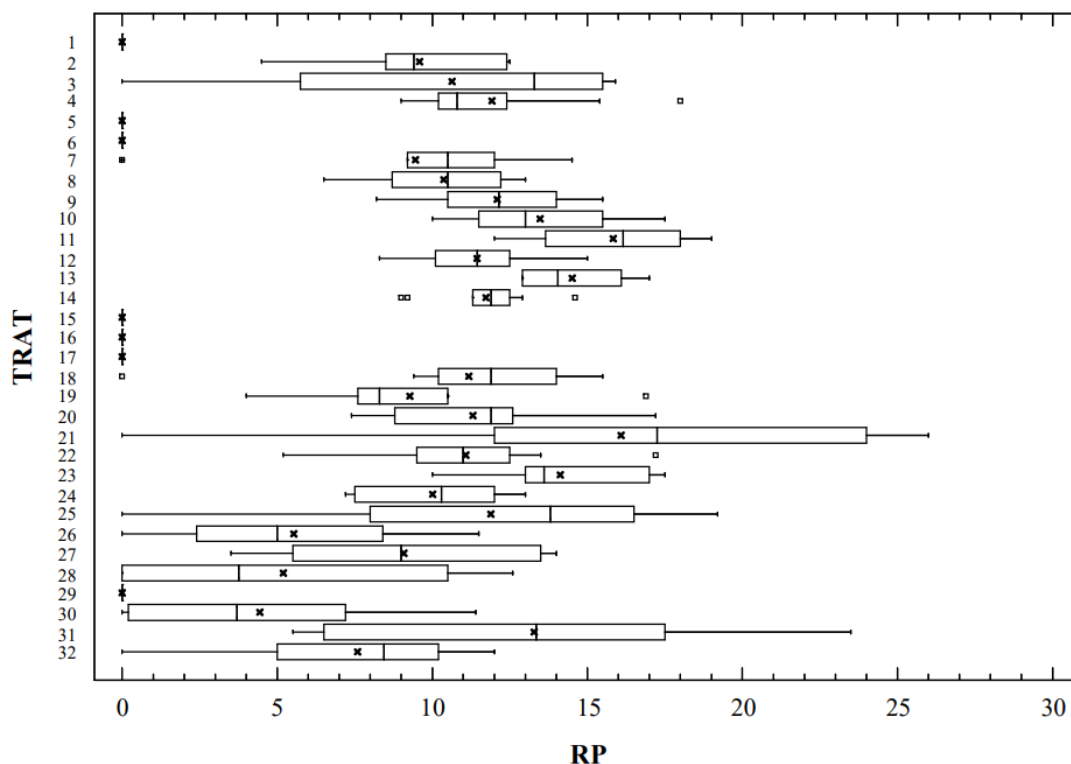


Figura 9. Longitud de raíz podada (RP) en plantas de 12 colectas de *Rubus* spp. y dos variedades comerciales. El diagrama de caja y bigotes muestra la distribución de los datos, donde la caja representa los cuartiles primero, segundo (mediana) y tercero con líneas; los bigotes muestran el valor máximo y mínimo de la tendencia general. x Media de los datos. □, + Valores atípicos de la tendencia general. 1: 'Veracruz 14' (T); 2: 'Veracruz 14' (I); 3: 'Chiapas 2' (T); 4: 'Chiapas 2' (I); 5: 'Hidalgo 2.4' (T) s/p; 6: 'Hidalgo 2.4' (I) s/p; 7: 'Hidalgo 2.4' (T) c/p; 8: 'Hidalgo 2.4' (I) c/p; 9: 'Veracruz Vigas' (T); 10: 'Veracruz Vigas' (I); 11: 'Autum Bliss' (T); 12: 'Autum Bliss' (I); 13: 'Hidalgo I-1' (T); 14: 'Hidalgo I-1' (I); 15: 'Tupy' (T) s/p; 16: 'Tupy' (I) s/p; 17: 'Tupy' (T) c/p; 18: 'Tupy' (I) c/p; 19: 'Veracruz 7' (T); 20: 'Veracruz 7' (I); 21: 'Veracruz 10' (T); 22: 'Veracruz 10' (I); 23: *R. shideanus* (T); 24: *R. shideanus* (I); 25: 'Hidalgo 3.1' (T); 26: 'Hidalgo 3.1' (I); 27: 'Chiapas 9' (T); 28: Chiapas 9' (I); 29: 'Chiapas 15' (T); 30: 'Chiapas 2' (I); 31: 'Veracruz 8' (T); 20: 'Veracruz 8' (I). (T): testigo, (I): inoculado, s/p: sin poda, c/p: con poda.

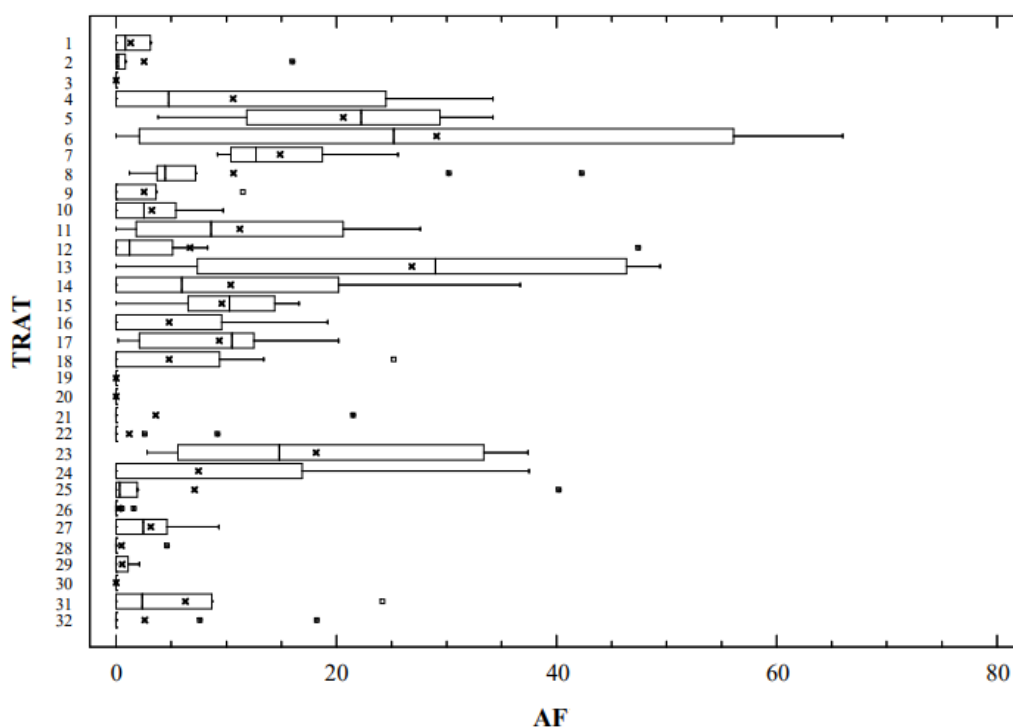


Figura 10. Altura final (AF) en plantas de 12 colectas de *Rubus* spp. y dos variedades comerciales. El diagrama de caja y bigotes muestra la distribución de los datos, donde la caja representa los cuartiles primero, segundo (mediana) y tercero con líneas; los bigotes muestran el valor máximo y mínimo de la tendencia general. x Media de los datos. □, + Valores atípicos de la tendencia general. 1: 'Veracruz 14' (T); 2: 'Veracruz 14' (I); 3: 'Chiapas 2' (T); 4: 'Chiapas 2' (I); 5: 'Hidalgo 2.4' (T) s/p; 6: 'Hidalgo 2.4' (I) s/p; 7: 'Hidalgo 2.4' (T) c/p; 8: 'Hidalgo 2.4' (I) c/p; 9: 'Veracruz Vigas' (T); 10: 'Veracruz Vigas' (I); 11: 'Autum Bliss' (T); 12: 'Autum Bliss' (I); 13: 'Hidalgo I-1' (T); 14: 'Hidalgo I-1' (I); 15: 'Tupy' (T) s/p; 16: 'Tupy' (I) s/p; 17: 'Tupy' (T) c/p; 18: 'Tupy' (I) c/p; 19: 'Veracruz 7' (T); 20: 'Veracruz 7' (I); 21: 'Veracruz 10' (T); 22: 'Veracruz 10' (I); 23: *R. shideanus* (T); 24: *R. shideanus* (I); 25: 'Hidalgo 3.1' (T); 26: 'Hidalgo 3.1' (I); 27: 'Chiapas 9' (T); 28: Chiapas 9' (I); 29: 'Chiapas 15' (T); 30: 'Chiapas 2' (I); 31: 'Veracruz 8' (T); 32: 'Veracruz 8' (I). (T): testigo, (I): inoculado, s/p: sin poda, c/p: con poda

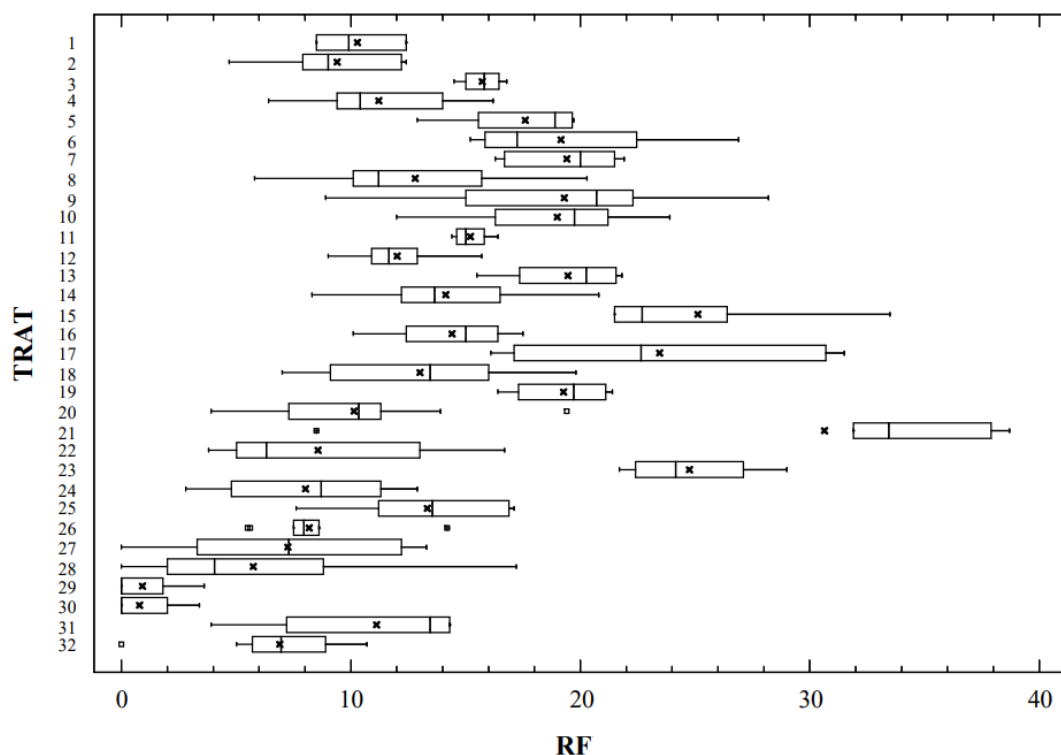


Figura 11. Longitud de la raíz final (RF) en plantas de 12 colectas de *Rubus* spp. y dos variedades comerciales. El diagrama de caja y bigotes muestra la distribución de los datos, donde la caja representa los cuartiles primero, segundo (mediana) y tercero con líneas; los bigotes muestran el valor máximo y mínimo de la tendencia general. x Media de los datos. □, + Valores atípicos de la tendencia general. 1: 'Veracruz 14' (T); 2: 'Veracruz 14' (I); 3: 'Chiapas 2' (T); 4: 'Chiapas 2' (I); 5: 'Hidalgo 2.4' (T) s/p; 6: 'Hidalgo 2.4' (I) s/p; 7: 'Hidalgo 2.4' (T) c/p; 8: 'Hidalgo 2.4' (I) c/p; 9: 'Veracruz Vigas' (T); 10: 'Veracruz Vigas' (I); 11: 'Autum Bliss' (T); 12: 'Autum Bliss' (I); 13: 'Hidalgo I-1' (T); 14: 'Hidalgo I-1' (I); 15: 'Tupy' (T) s/p; 16: 'Tupy' (I) s/p; 17: 'Tupy' (T) c/p; 18: 'Tupy' (I) c/p; 19: 'Veracruz 7' (T); 20: 'Veracruz 7' (I); 21: 'Veracruz 10' (T); 22: 'Veracruz 10' (I); 23: *R. shideanus* (T); 24: *R. shideanus* (I); 25: 'Hidalgo 3.1' (T); 26: 'Hidalgo 3.1' (I); 27: 'Chiapas 9' (T); 28: Chiapas 9' (I); 29: 'Chiapas 15' (T); 30: 'Chiapas 2' (I); 31: 'Veracruz 8' (T); 32: 'Veracruz 8' (I). (T): testigo, (I): inoculado, s/p: sin poda, c/p: con poda. El diagrama de caja y bigotes muestra la distribución de los datos, donde la caja representa los cuartiles primero, segundo (mediana) y tercero con líneas; los bigotes muestran el valor máximo y mínimo de la tendencia general. x Media de los datos. □, + Valores atípicos de la tendencia general.

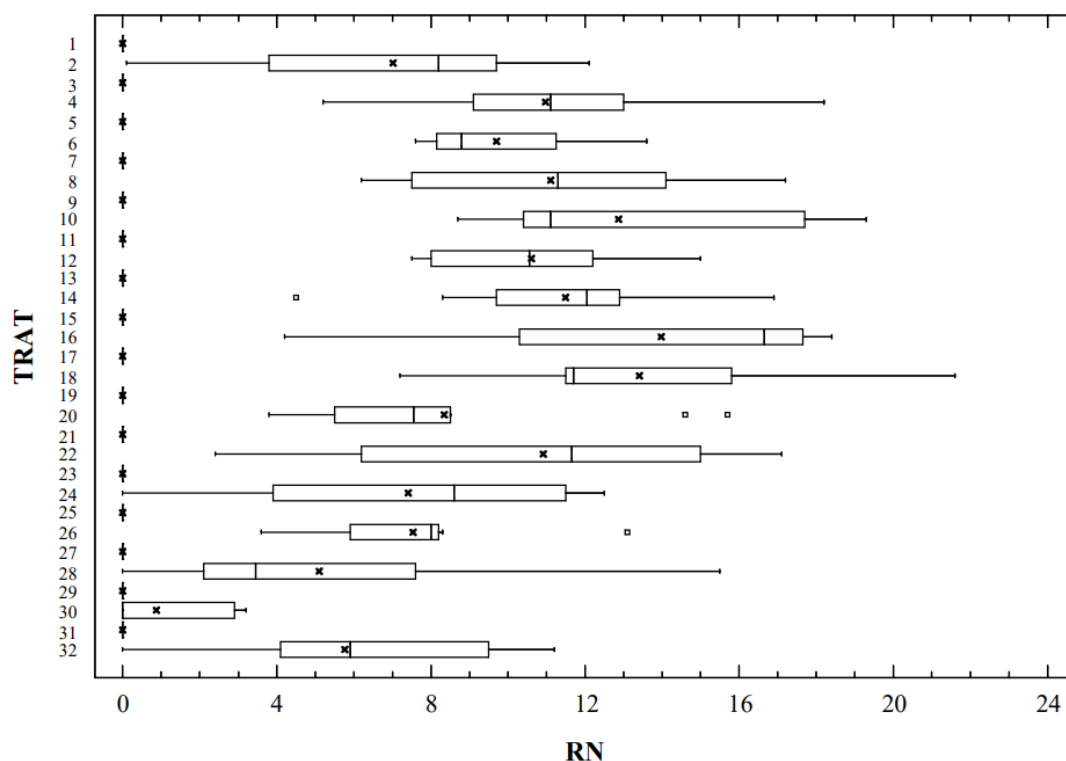


Figura 12. Longitud de la raíz necrosada (RN) en plantas de 12 colectas de *Rubus* spp. y dos variedades comerciales. El diagrama de caja y bigotes muestra la distribución de los datos, donde la caja representa los cuartiles primero, segundo (mediana) y tercero con líneas; los bigotes muestran el valor máximo y mínimo de la tendencia general. x Media de los datos. □, + Valores atípicos de la tendencia general. 1: 'Veracruz 14' (T); 2: 'Veracruz 14' (I); 3: 'Chiapas 2' (T); 4: 'Chiapas 2' (I); 5: 'Hidalgo 2.4' (T) s/p; 6: 'Hidalgo 2.4' (I) s/p; 7: 'Hidalgo 2.4' (T) c/p; 8: 'Hidalgo 2.4' (I) c/p; 9: 'Veracruz Vigas' (T); 10: 'Veracruz Vigas' (I); 11: 'Autum Bliss' (T); 12: 'Autum Bliss' (I); 13: 'Hidalgo I-1' (T); 14: 'Hidalgo I-1' (I); 15: 'Tupy' (T) s/p; 16: 'Tupy' (I) s/p; 17: 'Tupy' (T) c/p; 18: 'Tupy' (I) c/p; 19: 'Veracruz 7' (T); 20: 'Veracruz 7' (I); 21: 'Veracruz 10' (T); 22: 'Veracruz 10' (I); 23: *R. shideanus* (T); 24: *R. shideanus* (I); 25: 'Hidalgo 3.1' (T); 26: 'Hidalgo 3.1' (I); 27: 'Chiapas 9' (T); 28: Chiapas 9' (I); 29: 'Chiapas 15' (T); 30: 'Chiapas 2' (I); 31: 'Veracruz 8' (T); 32: 'Veracruz 8' (I). (T): testigo, (I): inoculado, s/p: sin poda, c/p: con poda

Las accesiones mostraron diferencia estadística en cuanto a la susceptibilidad o menos susceptibilidad a *F. oxysporum* f. sp. *mori*. La severidad fue distinta entre los tratamientos, lo cual se pudo evaluar con el área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) (Cuadro 10).

Cuadro 11. ABCPE de 32 tratamientos de inoculación de *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* en 12 accesiones nativas de *Rubus* spp. y dos variedades comerciales.

Tratamiento	Genotipo - condición	ABCPE	Días
T28	'Chiapas 9' (I)	70.1	25
T2	'Veracruz 14' (I)	69.74	29
T4	'Chiapas 2' (I)	60.32	39
T30	'Chiapas 15' (I)	55.7	25
T26	'Hidalgo 3.1' (I)	53.5	25
T18	'Tupy' (I) poda	52.45	47
T22	'Veracruz 10' (I)	51.73	39
T24	<i>R. shideanus</i> (I)	49.29	39
T10	'Veracruz Vigas' (I)	35.14	52
T8	'Hidalgo 2.4' (I) poda	30.1	51
T20	'Veracruz 7' (I)	29.36	39
T16	'Tupy' (I) sin poda	27.34	48
T6	'Hidalgo 2.4' (I) sin poda	15.96	52
T12	'Autum Bliss' (I)	12.16	52
T32	'Veracruz 8' (I)	10.98	51
T14	'Hidalgo I-1' (I)	0.82	52
T17	'Tupy' (T) poda	0	47
T3	'Chiapas 2' (T)	0	39
T5	'Hidalgo 2.4' (T) sin poda	0	51
T7	'Hidalgo 2.4' (T) poda	0	52
T9	'Veracruz vigas' (T)	0	52
T11	'Autum Bliss' (T)	0	52
T13	'Hidalgo I-1' (T)	0	52
T15	'Tupy' (T) sin poda	0	48
T25	'Hidalgo 3.1' (T)	0	25
T19	'Veracruz 7' (T)	0	39
T21	'Veracruz 10' (T)	0	39
T23	<i>R. shideanus</i> (T)	0	39
T29	'Chiapas 15' (T)	0	25
T27	'Chiapas 9' (T)	0	25
T31	'Veracruz 8' (T)	0	51
T1	'Veracruz 14' (T)	0	29

Las accesiones de *Rubus* spp., tuvieron un comportamiento diferente ante la inoculación con el patógeno (*F. oxysporum* f. sp. *mori*). Las accesiones ‘Chiapas 9’, ‘Veracruz 14’ y ‘Chiapas 2’ mostraron el valor de ABCPE más alta 70.1, 69.74 y 60.32, respectivamente. Por el contrario, las que mostraron menor ABCPE fueron: ‘Hidalgo I-1’, ‘Veracruz 8’, ‘Autum Bliss’, ‘Hidalgo 2.4’, ‘Tupy’ s/p, ‘Veracruz 7’ e ‘Hidalgo 2.4’ con valores de 0.82, 10.98, 12.16, 15.96, 27.34, 29.36 y 30.1, respectivamente.

El tiempo que transcurrió entre la inoculación, aparición de síntomas y muerte de las plantas o término del experimento varió entre 25 y 52 días. Las accesiones ‘Chiapas 9’, ‘Hidalgo 3.1’, ‘Chiapas 15’ y ‘Veracruz 14’, mostraron el menor tiempo de supervivencia con 25 a 29 días. Las que tuvieron tolerancia al patógeno fueron: ‘Hidalgo I-1’, ‘Veracruz 8’, ‘Autum Bliss’ e ‘Hidalgo 2.4’.

Es importante mantener las especies nativas de *Rubus* spp., en México se reportan alrededor de 15 especies silvestres del género *Rubus*, no obstante, el crecimiento poblacional ha invadido su territorio, comprometiendo su desarrollo (Rubio, Pérez, Ávila, Gómez & García, 2019).

En esta investigación se evaluó la variedad ‘Tupy’ y la accesión ‘Hidalgo 2.4’ con poda y sin podar la raíz como tratamiento, para observar la diferencia de cuando hay daño en la raíz y cuando las plantas no presentan heridas. La accesión ‘Hidalgo 2.4’ mostró resistencia a *F. oxysporum* f. sp. *mori* en un experimento preliminar. Las plantas de ‘Tupy’ e ‘Hidalgo 2.4’ que no se podaron de la raíz, mostraron una disminución de casi el 50 % en el valor de ABCPE. La infección fue mayor en el tratamiento con poda. La infección de *F. oxysporum* se puede iniciar vía raíces a medida que las plantas desarrollan nuevos pelos radicales, o bien a través de heridas hechas durante las labores culturales. Uno de los procesos por los cuales se produce el marchitamiento por *Fusarium* se debe al bloqueo en los tallos de los haces vasculares por el desarrollo del hongo, la formación de calosa y el vaciado de las células adyacentes al xilema, por lo que se limita el transporte de agua y nutrientes a la parte superior de la planta (Rebollar-Alviter & Silva-Rojas, 2020). Otro de los procesos se refiere a la

producción de toxinas que interfieren con las funciones básicas de la planta (Agrios, 2005).

En el experimento se observó que el patógeno tuvo un periodo de inactividad debido a las condiciones del clima por la época en que se realizó el experimento. Rebollar-Alviter y Silva-Rojas (2020) mencionaron que las condiciones ambientales son importantes como generadoras de estrés abiótico y en la predisposición del cultivo al ataque de patógenos como *F. oxysporum*. En especial, las altas temperaturas y largos periodos de sequía, situación que interfiere con la activación de mecanismos de defensa y en consecuencia se incrementa la intensidad de la enfermedad.

La variedad Tupy mostró cierta menor susceptibilidad posiblemente debido a las condiciones de temperatura y humedad dadas en el periodo del experimento.

Las accesiones que mostraron menor susceptibilidad a *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori* fueron: 'Hidalgo I-1', 'Veracruz 8', 'Hidalgo 2.4' y 'Veracruz 7'. Las que mostraron más susceptibilidad al patógeno son: 'Chiapas 9', 'Veracruz 14', 'Chiapas 2' y 'Chiapas 15'. Las accesiones tolerantes mencionadas pueden ser una fuente importante de genes para tolerancia al patógeno, por lo que se debe confirmar su posible resistencia al patógeno. Graham y Woodhead (2011) mencionaron que el cambio climático influye sobre los ejemplares silvestres, lo que representan la pérdida de un recurso genético con alto potencial para ser utilizado dentro de programas para el desarrollo de cultivares mejor adaptados a los cambios de su entorno. Las zarzamoras son consideradas como especies con amplia capacidad de adaptación a condiciones ambientales, por lo que, algunas son catalogadas como hierba invasiva, promoviendo su eliminación y amenazando la pérdida de especies silvestres (Rubio et al., 2019).

La presente investigación es de gran importancia e impacto ya que es el inicio de una posible alternativa para el manejo de la marchitez en *Rubus* spp. Hasta ahora, no se conocen variedades resistentes de zarzamora a la marchitez, probablemente debido a la gran variabilidad del patógeno. Por lo que se considera necesario definir una estrategia público-privada para la generación de

variedades resistentes o tolerantes desde una perspectiva multidisciplinaria; mejoradores, fitopatólogos, nutriólogos, fisiólogos, etc. (Rebollar-Alviter & Silva-Rojas, 2020).

3.5 Conclusiones

Las accesiones que mostraron menor susceptibilidad y pueden ser usadas en el mejoramiento genético para el posible manejo de la marchitez en *Rubus* spp., ocasionada por *F. oxysporum* f. sp. *mori*. fueron: 'Hidalgo 1-1', 'Veracruz 8', 'Hidalgo 2.4' y 'Veracruz 7'. Se recomienda seguir con la evaluación de estos genotipos para confirmar su posible resistencia al patógeno.

3.6 Literatura citada

- Agrios, G. N. (2005). *Plant pathology* (fifth edition). San Diego: Ed. Elsevier Academia Press.
- Elmer, W. H. (2006). Effects of acibenzolar-S-methyl on the suppression of Fusarium wilt of cyclamen. *Crop Protection*, 25(7), 671-676.
- Gordon, T., C. Kirkpatrick S., Henry P., Kong, M., & Broome, J. (2016). First report of a wilt disease of blackberry caused by *Fusarium oxysporum* in California. *Plant Disease*, 100(5), 1018.
- Graham, J., & Woodhead, M. (2011). Rubus, In C. Kole (Ed.). *Wild crop relatives: Genomic and breeding resources*. Berlin: Springer. Doi: doi.org/10.1007/978-3-642-16057-8-9.
- Hall, H. K. (1990). Blackberry breeding. *Plant Breeding Reviews*, 8, 249–312.
- Jennings, D. L., Daubeny, H. A., & Moore, J. N. (1990). Blackberries and raspberries (*Rubus* spp.). *Acta Horticulturae*, 290, 331–392.
- Koike, S. T., & Gordon, T. R. (2015). Management of *Fusarium* wilt of strawberry. *Crop Protection*, 73, 67-72.
- Nel, B., Steinberg, C., Labuschagne, N., & Viljoen, A. (2007). Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of Fusarium wilt of banana. *Crop Protection*, 26(4), 697-705.
- Parra-Quezada, R., & Acosta-Rodríguez, G., & Arreola-Ávila, J. (2005). Crecimiento y producción de zarzamora cv. Cheyenne con cubiertas orgánicas. *Terra Latinoamericana*, 23(2), 233-240.
- Pastrana, A. M., Kirkpatrick, S. C., Kong, M., Broome, J. C., & Gordon, T. R. (2017). *Fusarium oxysporum* f. sp. *mori*, a new forma specialis causing Fusarium wilt of blackberry. *Plant Disease*, 101(12), 2066-2072.
- Rebollar-Alviter, A., & Silva-Rojas, H. (2020). *La marchitez de la zarzamora: diagnóstico, epidemiología y manejo integrado*. Chapingo: Universidad Autónoma Chapingo.

Rubio Ochoa, E., Pérez Sánchez, R., Ávila Val, T. C., Gómez Leyva, J. F., & García Saucedo, P. A. (2019). Propiedades fisicoquímicas de frutos silvestres de *Rubus* con potencial nutracéutico y alimenticio. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas*, 10, 291-301.

4 CONCLUSIONES GENERALES

La marchitez de la zarzamora es una enfermedad que causa grandes pérdidas, tiene un impacto económico y social. Esta enfermedad obligo a un cambio en el paradigma del manejo de enfermedades de la raíz, e incluso un cambio de cultivo en las principales zonas productoras de frutillas. Existe el riesgo que el hongo siga adquiriendo resistencia a lo largo de las zonas productoras, tanto actuales como en desarrollo, cerrando la posibilidad de crecimiento a nuevas zonas de producción dentro del país.

Al encontrar posible fuentes de resistencia al hongo en cuestión como fue el caso de la presente investigación, es necesario continuar los estudios de las especies silvestres del género *Rubus* para conocer los posibles alcances que pudieran tener, ya que cada vez se implementan nuevas herramientas que nos ayudarán a obtener variedades comerciales con características deseables para el productor, comercializador e industria en menor tiempo.

Es de gran importancia la colecta, el estudio e incorporación de los materiales silvestres de *Rubus* spp., en los programas de mejoramiento genético, tanto para su conservación y salvaguarda, como para encontrar en ellas diferentes características que en un futuro pudieran ser de utilidad para el campo mexicano.