

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA

**MAESTRÍA EN CIENCIAS
EN PROTECCIÓN VEGETAL**

**ETIOLOGÍA Y MANEJO DE HONGOS CAUSANTES DE LA
PUDRICIÓN DE FRUTOS EN CALABAZA PIPIANA
(*Cucurbita argyrosperma* Huber)**

TESIS

**QUE COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL**

PRESENTA:

JOSÉ FRANCISCO DÍAZ NÁJERA

CHAPINGO, ESTADO DE MÉXICO, SEPTIEMBRE DEL 2013.



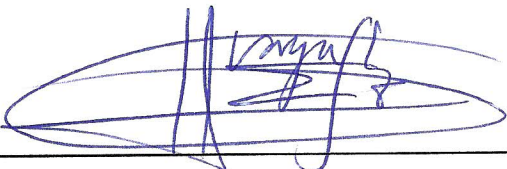
DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DEPTO. DE SERVICIOS ESCOLARES
OFICINA DE EXAMENES PROFESIONALES



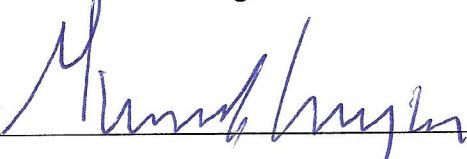
La presente tesis titulada ETIOLOGÍA Y MANEJO DE HONGOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE FRUTOS EN CALABAZA PIPIANA (*Cucurbita argyrosperma* Huber), fue realizada por José Francisco Díaz Nájera, bajo la dirección y asesoría del consejo particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

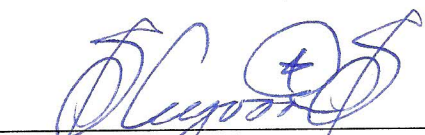
CONSEJO PARTICULAR

DIRECTOR: 

Dr. Mateo Vargas Hernández

CO-DIRECTOR: 

Dr. Santos Gerardo Leyva Mir

ASESOR: 

Dr. Sergio Ayvar Serna

ASESOR: 

Dr. Alejandro Casimiro Michel Aceves

ASESOR: 

Dr. Omar Guadalupe Alvarado Gómez

Chapingo, Estado de México, Septiembre del 2013.

ETIOLOGÍA Y MANEJO DE HONGOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE FRUTOS EN CALABAZA PIPIANA (*Cucurbita argyrosperma* Huber)

ETIOLOGY AND MANAGEMENT OF ROT FUNGUS INVOLVED IN PIPIANA PUMPKIN (*Cucurbita argyrosperma* Huber) FRUITS

José Francisco **Díaz Nájera**¹, Mateo **Vargas Hernández**², Santos Gerardo **Leyva Mir**³, Sergio **Ayvar Serna**⁴, Alejandro Casimiro **Michel Aceves**⁴ y Omar Guadalupe **Alvarado Gómez**⁴.

RESUMEN

La identificación de patógenos permite planear y realizar su manejo utilizando diferentes estrategias de control, incluyendo alternativas químicas y biológicas, cuya función es proteger a los cultivos de los agentes infecciosos. En este estudio se identificó morfológica y molecularmente los hongos fitopatógenos involucrados en la pudrición de frutos de *Cucurbita argyrosperma*. También se evaluaron fungicidas químicos y biológicos en dos localidades en el estado de Guerrero (CSAEGRO y Chilapa). Las variables estudiadas fueron: Número de frutos sanos y dañados en 30 m², y peso de semilla en kg ha⁻¹. En el sitio CSAEGRO, en promedio los fungicidas biológicos presentaron el mayor número de frutos sanos (33.08), el menor número de frutos dañados (8.77), y el mejor peso de semilla (530 kg ha⁻¹). En Chilapa, en promedio los fungicidas biológicos obtuvieron el mayor número de frutos sanos (38.11) y menor número de frutos dañados (1.49); mientras que los fungicidas químicos registraron el máximo peso de semilla (812.58 kg ha⁻¹). Los fungicidas químicos y biológicos, más sobresalientes en campo se evaluaron en invernadero para corroborar su eficacia.

Palabras clave: identificación de patógenos, manejo, *C. argyrosperma*, rendimiento.

ABSTRACT

The identification of pathogens allows planning and realizing their management using different control strategies, including chemical and biological alternatives, whose function is to protect the crops from the infectious agents. In this study were morphological and molecularly identified fungal pathogens involved in fruit rot of *Cucurbita argyrosperma*. Also were evaluated chemical and biological fungicides at two locations in Guerrero (CSAEGRO and Chilapa). The variables measured were: number of healthy fruit and number of damaged fruit at 30 m², as well as seed weight in kg ha⁻¹. On CSAEGRO's location, in average, biological fungicides had the highest number of healthy fruits (33.08), the lowest number of damaged fruit (8.77), and the best seed weight (530 kg ha⁻¹). In Chilapa's location, in average biological fungicides shown the highest number of healthy fruits (38.11) and lower number of damaged fruit (1.49), while the chemical fungicides had the maximum observed seed weight (812.58 kg ha⁻¹). The most outstanding Chemical and biological fungicides, in the field were evaluated in the greenhouse to confirm their efficacy.

Key words: pathogen identification, handling, *C. argyrosperma*, yield.

¹Tesista

²Director

³Co-Director

⁴Asesor



DATOS BIOGRÁFICOS



José Francisco Díaz Nájera, es originario de Apipilulco, municipio de Cocula, zona norte del estado de Guerrero, nació el 28 de Agosto de 1988 en Iguala de la Independencia Gro., realizó sus estudios de nivel primaria en Apipilulco en la escuela “Mi patria es primero, Vicente Guerrero” (1994-2000), los estudios de secundaria los efectuó en el mismo lugar en la secundaria federal “Valentin Gómez Farias” (2000-2003), los estudios de bachillerato los llevó a cabo en el Centro de Bachilleratto Tecnológico Agropecuario 176-2 (2003-2006) de Apaxtla de Castrejón con sede en Cocula Gro., su licenciatura la cursó en el Centro de estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CEP-CSAEGRO) (2006-2011), los estudios de posgrado los realizó en la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, en el departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo (2012-2013).



AGRADECIMIENTOS

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología** por el apoyo económico brindado durante mis estudios de maestría.

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, especialmente al **Departamento de Parasitología Agrícola** y al programa de posgrado de **Protección Vegetal**, por brindarme la oportunidad de continuar con mi preparación académica.

Al **Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGRO)**, por las facilidades otorgadas para el establecimiento de una parte de mi trabajo en su campo experimental.

Al **Dr. Mateo Vargas Hernández** por su acertada dirección del presente trabajo, por el ejercicio inmortal de enseñar, por la confianza que depositó en mi persona, por su valiosa e incondicional orientación para mi formación académica y el buen consejo durante mis estudios de posgrado, por su constante apoyo y tiempo dedicado al análisis de datos y trabajo de gabinete, su amistad y excelente calidad humana.

Al **Dr. Santos Gerardo Leyva Mir** por el tiempo y valioso apoyo que me proporcionó en el trabajo de laboratorio, por todas las facilidades brindadas y por su participación en este trabajo de investigación.

Al **Dr. Sergio Ayvar Serna** por la nobleza que ocupa al ilustrarme, por su gran amistad sincera, por la confianza otorgada, por todo el apoyo brindado en la realización y conducción del trabajo de campo, por todos sus consejos, por compartir conmigo sus experiencias como investigador y sobre el cultivo de calabaza, por formar parte fundamental en mi formación académica, por ser mi líder mentor.

Al **Dr. Alejandro C. Michel Aceves** por valiosa colaboración para la realización del presente trabajo, por ser parte de mi consejo, por su invaluable amistad, por todo el apoyo incondicional brindado durante mi formación profesional, por todas sus atinadas sugerencias y aportaciones para la mejora del presente trabajo.

Al **Dr. Omar Guadalupe Alvarado Gómez** por su colaboración en este trabajo, por su esfuerzo, dedicación y tiempo brindados mismos que influyeron en la culminación del trabajo de investigación.



Al **Dr. José Aurelio Durán Ramírez** por su incansable e infinito aliento de superación, por sus consejos por ser un excelente maestro y líder, por ser mi amigo y brindarme su confianza y gran amistad.

A **Lety Nava De la Cruz** y **José Enrique Zeferino Sánchez** y a él personal de apoyo del área de campo del CEP-CSAEGRO por el apoyo otorgado a mi persona en la realización de la fase de campo del presente trabajo.

A todos los **Profesores** de posgrado que contribuyeron en mi formación académica, por su confianza y amistad y por el arduo esfuerzo que realizan en la formación de recursos humanos en el área de fitosanidad.

A mis **Amigos** de la maestría que gracias a su apoyo, y conocimientos hicieron de esta experiencia una de las mas especiales.

A los laboratoristas del área de fitopatología Sra. **Mariana** y **Sr. Juan** por todo el apoyo, orientación y facilidades brindadas en mi estancia de estudios de posgrado.



DEDICATORIAS

A Dios

Al creador de todas las cosas, el que me ha dado fortaleza para continuar superándome; por ello, con toda la humildad que de mi corazón puede emanar, dedico primeramente mi trabajo a Dios.

A mis padres

Especialmente a mi madre **Anastacia Nájera Torres**, por darme la vida, brindarme todo su amor, quererme mucho y ser el pilar fundamental en todo lo que soy, por su incondicional apoyo que ha sabido formarme, con buenos sentimientos, hábitos y valores, por guiar mis pasos con paciencia, por su comprensión y motivación durante mi superación lo cual me ha ayudado a salir adelante en los momentos más difíciles. Gracias mamá.

A mis hermanos

Con mucho cariño a mis hermanos **María del Refugio, Guadalupe, Miguel, Andrés y Mauricio**, a quienes a pesar de la distancia, nos une y nos seguirá uniendo el calor de hermandad y fraternidad por la sangre que llevamos y que en todo momento me han brindado su amor, confianza y apoyo incondicional, sin ustedes no hubiera sido posible alcanzar esta meta, gracias por quererme y estar siempre conmigo. Los quiero mucho.

A mis sobrinos

Sandra, Frida, Valeria, Alexa, Alexia, Sebastián, Abel y especialmente a Kevin Oswaldo.

A mis abuelos

Zacarías (†) y Celestina (†), por todos los momentos lindos que pasamos y por sus consejos para ser una buena persona.



ÍNDICE GENERAL

	Página
RESUMEN.....	i
ABSTRACT.....	i
DATOS BIOGRÁFICOS.....	ii
AGRADECIMIENTOS.....	iii
DEDICATORIAS.....	v
ÍNDICE GENERAL.....	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	x
ÍNDICE DE FIGURAS.....	xii
CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA.....	1
1.1 El cultivo de calabaza pipiana <i>Cucurbita argyrosperma</i> Huber.....	1
1.1.1 Importancia.....	1
1.1.2 Taxonomía.....	1
1.1.3 Origen y distribución.....	2
1.1.4 Usos.....	3
1.1.5 Producción nacional y en el estado de Guerrero.....	3
1.1.6 Ecología del cultivo.....	4
1.2 <i>Phytophthora capsici</i> Leonian.....	4
1.2.1 Importancia y distribución.....	4
1.2.2 Taxonomía.....	4
1.2.3 Morfología.....	5
1.2.4 Síntomas.....	6
1.2.5 Ciclo de la enfermedad.....	6
1.3 <i>Fusarium solani</i> (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen.....	7
1.3.1 Importancia y distribución.....	7
1.3.2 Taxonomía.....	7
1.3.3 Morfología.....	7
1.3.4 Síntomas.....	8



1.3.5 Ciclo de la enfermedad.....	8
1.4 <i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.....	9
1.4.1 Importancia y distribución.....	9
1.4.2 Taxonomía.....	9
1.4.3 Morfología.....	10
1.4.4 Síntomas.....	10
1.4.5 Ciclo de la enfermedad.....	11
1.5 <i>Rhizoctonia solani</i> (Kühn).....	11
1.5.1 Importancia y distribución.....	11
1.5.2 Taxonomía.....	12
1.5.3 Morfología.....	12
1.5.4 Síntomas.....	13
1.5.5 Ciclo de la enfermedad.....	13
1.6 Fungicidas.....	13
1.6.1 Fungicidas sistémicos.....	13
1.6.1.1 Carbamatos: Bencimidazoles (benomilo y propamocarb).....	14
1.6.1.2 Fenilamidas, acilalaninas (Metalaxil).....	15
1.6.1.3 Compuestos organofosforados (Fosetilo).....	14
1.6.2 Fungicidas protectores.....	16
1.6.2.1 Clorobencenos (Quintozeno: PCNB y Clorotalonil).....	16
1.7 Control biológico de enfermedades en los cultivos.....	17
1.7.1 Generalidades.....	17
1.7.2 Mecanismos de acción de <i>Trichoderma</i> spp.....	18
2. LITERATURA CITADA.....	18
 CAPÍTULO II. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE HONGOS FITOPATÓGENOS INVOLUCRADOS EN LA PUDRICIÓN DE FRUTOS DE CALABAZA PIPIANA <i>Cucurbita argyrosperma</i> Huber Y CEPAS NATIVAS DE <i>TRICHODERMA</i>	25
1. INTRODUCCIÓN.....	25
2. OBJETIVO.....	26



3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	27
3.1 Área de muestreo y material vegetal.....	27
3.2 Identificación morfológica.....	29
3.3 Identificación molecular.....	29
3.3.1 Extracción de DNA.....	29
3.3.2 PCR y secuenciación.....	30
3.4 Obtención de especies nativas de <i>Trichoderma</i> spp.....	30
3.4.1 Colecta de muestra de suelo.....	30
3.4.2 Aislamiento e identificación de <i>Trichoderma</i> spp.....	30
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	31
4.1 Identificación morfológica de hongos fitopatógenos.....	31
4.2 Identificación molecular de hongos fitopatógenos.....	38
4.3 Identificación de <i>Trichoderma</i> spp.....	41
5. CONCLUSIONES.....	44
6. LITERATURA CITADA.....	44
 CAPÍTULO III. CONTROL QUÍMICO Y BIOLÓGICO EN CAMPO DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN CALABAZA PIPIANA <i>Cucurbita argyrosperma</i> Huber.....	 52
1. INTRODUCCIÓN.....	52
2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	53
2.1 Objetivos.....	53
2.2 Hipótesis.....	54
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	54
3.1 Sitios de cultivo.....	54
3.1.1 Sitio CSAEGro.....	54
3.1.2 Sitio Chilapa.....	55
3.2 Factores evaluados y diseño de tratamientos obtenidos.....	56
3.3 Diseño experimental.....	56
3.4 Variables de respuesta.....	57
3.5 Desarrollo del experimento.....	58



3.6 Análisis estadístico.....	59
3.7 Análisis económico.....	60
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	61
5. CONCLUSIONES.....	102
6. RECOMENDACIONES.....	103
7. LITERATURA CITADA.....	104
CAPÍTULO IV. CONTROL QUÍMICO Y BIOLÓGICO <i>IN VIVO</i> DE HONGOS FITOPATÓGENOS SOBRE FRUTOS TIERNOS DE CALABAZA PIPIANA (<i>Cucurbita argyrosperma</i> Huber) EN INVERNADERO.....	116
1. INTRODUCCIÓN.....	116
2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS.....	117
2.1 Objetivos.....	117
2.2. Hipótesis.....	117
3. MATERIALES Y MÉTODOS.....	117
3.1 Material vegetal.....	117
3.2 Obtención, preparación y cuantificación del inóculo.....	117
3.3 Tratamientos.....	119
.	
3.4 Obtención y preparación del inóculo de <i>Trichoderma asperelum</i> CSAEGro.....	119
3.5 Aplicación de los tratamientos.....	120
3.6 Diseño experimental.....	121
3.7 Variable estudiada.....	121
3.8 Análisis estadístico.....	121
4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	122
5. CONCLUSIONES.....	130
6. LITERATURA CITADA.....	131
APÉNDICE.....	135



ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO I

Cuadro		Página
1.1	Distribución de las especies de calabaza.....	2
1.2	Superficie, rendimiento, producción y valor de la producción de calabaza pipiana en el estado de Guerrero por municipio en 2006.....	3

CAPÍTULO II

Cuadro		Página
2.1	Hongos patógenos aislados e identificados de frutos de calabaza pipiana.....	32
2.2	Identificación morfológica y molecular por PCR-ITS de genes ribosomales de 5 hongos aislados de frutos de calabaza pipiana (<i>C. argyrosperma</i>) basada en la comparación de sus secuencias con la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI: www.ncbi.nlm.nih.gov/).....	38
2.3	Comparación de la secuencia de las cepas de <i>Trichoderma</i> de cada sitio de cultivo.....	42

CAPÍTULO III

Cuadro		Página
3.1	Lista de tratamientos utilizados.....	56
3.2	Variables de respuesta y sus unidades de medida.....	58
3.3	Número de frutos sanos (30 m ²) por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo CSAEGro.....	65
3.4	Número de frutos sanos (30 m ²) por tratamiento y fechas de muestreo en los dos sitios de cultivo.....	70
3.5	Número de frutos dañados (30 m ²) por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo Chilapa.....	72
3.6	Número de frutos dañados (30 m ²) por tratamiento y fecha de muestreo en los dos sitios de cultivo.....	78
3.7	Comparación de medias del diámetro vertical del fruto (DVF), diámetro horizontal del fruto (DHF), longitud de la cavidad del fruto (LCF), grosor de la pulpa del fruto (GPF) y peso de la semilla seca del fruto (PSSF), por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo CSAEGro.....	84
	Comparación de medias del diámetro vertical del fruto (DVF), diámetro horizontal	



3.8	del fruto (DHF), longitud de la cavidad del fruto (LCF), grosor de la pulpa del fruto (GPF) y peso de la semilla seca del fruto (PSSF), por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo Chilapa.....	85
3.9	Rentabilidad de los tratamientos evaluados en calabaza pipiana en el sitio de cultivo CSAEGro.....	100
3.10	Rentabilidad de los tratamientos evaluados en calabaza pipiana en el sitio de cultivo Chilapa.....	101

CAPÍTULO IV

Cuadro		Página
4.1	Tratamientos utilizados para el grupo de patógenos.....	119
4.2	Tratamientos y dosis utilizadas.....	120



ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO II

Figura		Página
2.1	Frutos con síntomas de pudrición.....	28
2.2	Localización de los sitios de colecta.....	28
2.3	Crecimiento y características de las diferentes colonias de los hongos aislados de frutos de calabaza pipiana.....	31
2.4	<i>M. phaseolina</i> . a) Fruto inoculado con síntomas iniciales, b) Fruto con signos de <i>M. phaseolina</i> , c) <i>M. phaseolina</i> creciendo en medio PDA, d), e) y f) Micelio, conidios y microesclerocio.....	33
2.5	<i>Phytophthora capsici</i> . a) Fruto con síntomas en campo, b) Fruto inoculado con <i>P. capsici</i> , c) y f) <i>P. capsici</i> creciendo en medio de cultivo V8-Agar, d) Esporangios bipapilados, e) Oogonios y anteridios.....	34
2.6	<i>Rhizoctonia solani</i> . a) y b) Frutos inoculados con signos de la enfermedad, c) y f) <i>R. solani</i> creciendo en medio de cultivo PDA, d) y e) Micelio.....	35
2.7	<i>Sclerotium rolfsii</i> . a) Fruto de calabaza pipiana en campo dañado infectado por <i>S. rolfsii</i> , b) esclerocios en campo, c) y f) <i>S. rolfsii</i> en medio de cultivo PDA, d) conexión en argolla en hifas primarias, e) Estructuras basidiales de <i>A. rolfsii</i>	36
2.8	<i>Fusarium solani</i> . a) y b) Frutos inoculados con <i>F. solani</i> , c) <i>F. solani</i> en medio de cultivo PDA, d) Microconidio, e) Macro y microconidio, f) Macroconidio.....	37
2.9	Amplificación por PCR a partir de ADN's aislados de micelio de hongos de frutos de <i>C. argyrosperma</i> : 1. <i>Macrophomina phaseolina</i> , 2. <i>Phytophthora capsici</i> , 3. <i>Rhizoctonia solani</i> , 4. <i>Sclerotium rolfsii</i> y 5. <i>Fusarium</i> spp. Los productos de amplificación obtenidos de los carriles 1 al 5 fueron: 859, 786, 700, 666 y 523 pb. M es el marcador de peso molecular ladder-100 de Axygen.....	38
2.10	Amplificación por PCR a partir de ADN's de micelio de <i>Trichoderma</i> aislados de suelo: 1. <i>Trichoderma</i> aislado del sitio CSAEGRO, 2. <i>Trichoderma</i> aislado del sitio Chilapa de Álvarez. Los productos de amplificación obtenidos de los carriles 1 al 2 fueron: 589 y 586 pb. M es el marcador de peso molecular ladder-100 de Axygen.....	42
2.11	Colonias de: a) <i>T. asperellum</i> , sitio CSAEGro; b) <i>T. asperellum</i> , sitio Chilapa.....	43



CAPÍTULO III

Figura		Página
3.1	Localización de los sitios de cultivo.....	55
3.2	Genotipos de calabaza pipiana.....	56
3.3	Croquis de distribución de los tratamientos en campo.....	57
3.4	Actividades realizadas durante el proceso de producción de semilla de calabaza pipiana.....	60
3.5	Diámetro del tallo en función de las fechas de muestreo, genotipos y sitios de cultivo.....	62
3.6	Longitud de la guía principal en función de las fechas de muestreo, genotipos y sitios de cultivo.....	63
3.7	Número de guías laterales en función de la fecha de muestreo, genotipos y sitio de cultivo.....	64
3.8	Número de frutos sanos (30 m ²), en respuesta a los tratamientos y fecha de muestreo, en el genotipo Apipilulco.....	67
3.9	Número de frutos sanos (30 m ²), en respuesta a los tratamientos y fecha de muestreo, en el genotipo Chilapa.....	68
3.10	Número de frutos sanos (30 m ²), en respuesta a los tratamientos y fecha de muestreo, en el genotipo Sta. Teresa.....	68
3.11	Número de frutos sanos (30 m ²), en respuesta a los tratamientos, genotipos y sitios de cultivo.....	71
3.12	Número de frutos dañados (30 m ²), por tratamiento y fecha de muestreo en el genotipo Apipilulco cultivado en el sitio Chilapa.....	73
3.13	Número de frutos dañados (30 m ²), por tratamiento y fecha de muestreo para el genotipo Chilapa cultivado en el sitio Chilapa.	74
3.14	Número de frutos dañados (30 m ²), por tratamiento y fecha de muestreo para el genotipo Sta. Teresa cultivado en el sitio Chilapa.	75
3.15	Número de frutos dañados (30 m ²) por tratamiento, genotipos y sitios de cultivo.	79
3.16	Número de frutos sanos cosechados (30 m ²), por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo CSAEGro.	87
3.17	Número de frutos sanos cosechados (30 m ²), por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo Chilapa.	88
3.18	Número de frutos sanos cosechados (30 m ²), por tratamiento y sitio de cultivo.	88
3.19	Número de frutos dañados cosechados (30 m ²), por tratamiento y genotipo en el	90



	sitio de cultivo CSAEGro.	
3.20	Número de frutos dañados cosechados (30 m ²), por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo Chilapa.	91
3.21	Número de frutos dañados cosechados (30 m ²), por tratamiento, genotipo y sitio de cultivo.	92
3.22	Peso de semilla por unidad experimental, en función de los tratamientos y genotipos en el cultivo establecido en el CSAEGro.	93
3.23	Peso de semilla por unidad experimental, en función de los tratamientos y genotipos en el sitio de cultivo Chilapa.	94
3.24	Peso de semilla por unidad experimental en función de los tratamientos, genotipos y sitios de cultivo.	95
3.25	Peso de semilla seca (kg ha ⁻¹), en función de los tratamientos y genotipos en el sitio de cultivo CSAEGro.	96
3.26	Peso de semilla seca (kg ha ⁻¹), en función de los tratamientos y genotipos en el sitio de cultivo Chilapa.	97
3.27	Peso de semilla en kg ha ⁻¹ , en función de los tratamientos, genotipos y sitio de cultivo.	99

CAPÍTULO IV

Figura		Página
4.1	Días a la presencia de <i>Phytophthora capsici</i> en función de los tratamientos.	123
4.2	Días a la presencia de <i>Fusarium subglutinans</i> en función de los tratamientos.	124
4.3	Días a la presencia de <i>Rhizoctonia solani</i> en función de los tratamientos.	125
4.4	Días a la presencia de <i>Sclerotium rolfsii</i> en función de los tratamientos.	126
4.5	Días a la presencia de colonias de patógenos en función de los tratamientos y de los hongos fitopatógenos.	127
4.6	Efecto del grupo de tratamientos biológicos contra químicos para cada uno de los patógenos, en frutos tiernos de calabaza pipiana.	129



CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

1.1 El cultivo de calabaza pipiana *Cucurbita argyrosperma* Huber

1.1.1 Importancia

La familia *Cucurbitaceae* incluye 118 géneros y 825 especies y México es uno de los más importantes centros de diversidad. Las cucurbitáceas han tenido un importante papel cultural y económico entre los diferentes estratos sociales. Varias especies se encuentran entre las primeras plantas domesticadas por los seres humanos y hoy forman parte de los alimentos básicos a nivel mundial (Lira, 1995; Lira *et al.*, 2002).

La calabaza pipiana *C. argyrosperma* presenta órganos comestibles y tiene una relación fuerte con la alimentación humana; en México se consumen diferentes de las plantas como flores, punta de las guías, frutos tiernos y maduros y semillas (Montes *et al.*, 2005). La pulpa es rica en carbohidratos, provitamina A y fibra soluble; las semillas en proteína (32-40%) y aceite vegetal (40%) (Sánchez *et al.*, 2006). El tamaño de la semilla de esta especie indica que se seleccionó para los propósitos anteriores. En cambio, la gran diversidad de formas, colores y tamaño de los frutos y semillas de las especies *stenosperma* y *callicarpa*, demuestran que son de doble propósito: para obtener la pulpa y aprovechar las semillas (Lira y Bye, 1996).

1.1.2 Taxonomía

La clasificación de *C. argyrosperma* según Parsons (2007) y Sirtori y Boffelli (2007) es:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Orden: Violales

Familia: Cucurbitaceae

Género: *Cucurbita*

Especie: *argyrosperma* Huber



1.1.3 Origen y distribución

El origen de *C. argyrosperma* fue en el centro-sur de México, en base a los restos arqueológicos encontrados en la región del Valle de Tehuacán, Puebla, los cuales datan de hace más de 7000 años (Lira y Montes, 1992; Lira, 1995).

El área de distribución nativa es desde el suroeste de los Estados Unidos hasta Centroamérica, lo que sugiere que a partir del centro-sur de México se diversificó, confinando su cultivo en esta área (Cuadro 1), aunque recientemente se cultiva en China y Sudamérica (Bisognin, 2002).

Cuadro 1.1. Distribución de las especies de calabaza.

Especie	Centro de origen
<i>C. pepo</i>	Altiplano de México
<i>C. moschata</i>	Centro y Norteamérica
<i>C. argyrosperma</i>	Centro y sur de México
<i>C. ficifolia</i>	Altiplano de Centroamérica
<i>C. maxima</i>	Sudamérica

Fuente: Lira (1991).

En América del Sur se cultiva en Perú y Argentina. En los Estados Unidos de Norteamérica y Canadá se siembra la especie *C. callicarpa* en una escala baja para propósitos alimenticios, y un cultivar de la variedad *C. argyrosperma* denominada “calabaza de semilla de plata”, que crece de vez en cuando como curiosidad hortícola. En México la especie *C. argyrosperma* se cultiva en Tamaulipas, San Luis Potosí, Puebla, Veracruz, Tabasco Chiapas y Yucatán. En América Central se ha registrado en Belice, Guatemala, Honduras, El Salvador, Nicaragua, Costa Rica y Panamá. La especie *callicarpa* se encuentra principalmente en la vertiente del Pacífico, desde el suroeste de los Estados Unidos de Norteamérica, hasta el centro de México (Sonora, Sinaloa, Chihuahua, Zacatecas, Guanajuato, Nayarit y Jalisco). La especie *stenosperma* es endémica de México, se cultiva en los estados del centro y sur-suroeste (Guerrero, Morelos, Michoacán y Oaxaca), y en algunas zonas de la vertiente del Golfo (Veracruz y Yucatán) (Fritz, 1994; Lira y Bye, 1996).



1.1.4 Usos

En México es uno de los vegetales de mayor importancia, primordialmente se utiliza como alimento, tanto en Latinoamérica como en otras regiones del mundo; en donde se ha introducido, las semillas son la base de elaboración de mole verde; también se consumen asadas o tostadas, simplemente aderezadas con sal, o industrializadas en dulces como palanquetas y jamoncillos (Vásquez, 2006).

1.1.5 Producción nacional y en el estado de Guerrero

El estado de Guerrero fue el principal productor en el año 2008; obtuvo una producción de 1,843 t, el 21% de la producción nacional; las principales regiones productoras son: Las Costas Chica y Grande, La Montaña y Norte; en donde sobresalen los municipios de Acapulco de Juárez, Cocula, Juan R. Escudero y Tecoaapa, en los cuales se cultiva asociada con maíz y en monocultivo (Cuadro 2); recientemente en la región centro sobresale el municipio Gral. Heliodoro Castillo. Otros estados que también destacaron en la producción, fueron Campeche y Zacatecas, con el 18 y 15%, respectivamente (SAGARPA, 2007; Villegas, 2009).

Cuadro 1.2. Superficie, rendimiento, producción y valor de la producción de calabaza pipiana en el estado de Guerrero por municipio en 2006.

Municipio	Sup. semb. (ha)	Sup. cos. (ha)	Prod. (t)	Rend. (t)	PMR (\$)	Valor de la producción (\$)
Acapulco	1,546	1,546	925.40	0.599	12,900.00	11,937,660.00
Juan R. Escudero	805	805	497.49	0.618	12,600.00	6,268,374.00
Cocula	688	688	309.60	0.450	25,000.00	7,740,000.00
Tecoanapa	481	481	289.10	0.601	14,000.00	4,047,400.00
Ayutla	238	238	148.00	0.622	14,189.18	2,100,000.00
Iguala	233	233	93.20	0.400	18,000.00	1,677,600.00
San Marcos	120	120	71.00	0.592	14,050.00	997,550.00
Tepecoacuilco	60	60	27.00	0.450	18,000.00	486,000.00
Apaxtla	40	40	20.00	0.500	20,645.00	412,900.00
Gral.Canuto N.	40	40	20.00	0.500	22,000.00	440,000.00
Taxco	24	24	9.60	0.400	20,860.00	200,256.00
Pilcaya	5	5	2.50	0.500	20,540.00	51,350.00
Total	4,280	4,280	2,412.89	0.564	15,068.68	36,359,090.00

Fuente: SAGARPA (2007).



1.1.6 Ecología del cultivo

Clima. Prospera en regiones tropicales y subtropicales, no tolera los climas templados (Parsons, 2007).

Altitud. Se puede cultivar desde el nivel del mar hasta 2,000 msnm (Ayvar *et al.*, 2007).

Temperatura. Se desarrollan bien con temperaturas óptimas entre 18 y 25 °C, máximas de 32 °C y mínimas de 10 °C (Parsons, 2007; Sirtori y Boffelli, 2007).

Precipitación. Se requiere de una época de lluvias bien delimitada, no tolera excesiva humedad (Ayvar *et al.*, 2007). Además, los altos niveles de humedad del ambiente favorecen la incidencia de enfermedades fungosas (Jaimes, 2006; Parsons, 2007).

Suelos. Aunque se adapta a diferentes tipos de suelo, tolera los que son ligeramente salinos y pH de 6.0 a 7.5 (Ayvar *et al.*, 2007). Prefiere suelos fértiles, que van de arenosos a franco-arenosos, bien nivelados (Parsons, 2007).

1.2 *Phytophthora capsici* Leonian

1.2.1 Importancia y distribución

P. capsici fue descrita por Leonian en 1922 ocasionando la marchitez en chile morrón (*Capsicum annuum* L.) en Nuevo México, USA. En México se reportó por primera vez en 1956. Varias investigaciones indican que la enfermedad afecta entre el 10 y 60 % del cultivo (Chávez *et al.*, 1994); pero puede afectarlo totaímente en regiones como el Bajío y Puebla. Pernezny *et al.*, (2003) reportan que este oomiceto causa un 40 % en pérdidas en la producción, provocando la reducción de la superficie cosechada. Este patógeno además de afectar al cultivo de chile, puede atacar a otros cultivos como frutales, pimienta negra, cacao, tomate, chayote, ciruela, algodón, pepino, calabaza, etc. Se ha reportado en USA, Taiwán, Italia, Puerto Rico, Argentina, Venezuela, Brasil, Japón, Bolivia, España, Irán, Serbia, China, Korea, Francia y Tailandia (Mendoza, 1996; Romero, 1993;).

1.2.2 Taxonomía (Kirk *et al.*, 2001)

Reino: Stramenopila

Phylum: Oomycota

Clase: Oomycetes

Orden: Pythiales

Familia: Pythiaceae



Género: *Phytophthora*

Especie: *Phytophthora capsici*

1.2.3 Morfología

P. capsici produce micelio muy ramificado (Romero, 1993), esporangióforos en simpodio simple, gruesos y robustos, con un hinchamiento cercano a la base del esporangio; éste es de forma ovoide, elongada, elipsoidal, fusiforme y piriforme; mide $60 \times 36 \mu\text{m}$ en promedio, aunque pueden variar de $32.8 - 65.8 \mu\text{m}$ de largo por $17.4 - 38.7 \mu\text{m}$ de ancho; presenta papila conspicua, a veces desviada, ocasionalmente puede haber 2 o 3 papilas por esporangio con un grosor que varía de 1.4 a $9.2 \mu\text{m}$. Micelio heterotálico, anteridio anfígeno, oogonio esférico o subesférico de $23-50 \mu\text{m}$ de diámetro, oosporas pleróricas, semitransparentes, de $25-35 \mu\text{m}$, con pared gruesa de $2-6 \mu\text{m}$. Micelio nudoso que puede llegar a ser densamente toruloso, $5-8 \mu\text{m}$ de ancho (Leonian, 1922). Los esporangios producen zoosporas flageladas a 12°C o germinan directamente a temperaturas mayores de 18°C (Romero, 1993; Mendoza, 1996; Zitter *et al.*, 2004). Recientemente, Oudemans y Coffey (1991) analizaron 84 cepas aisladas de diferentes partes del mundo y concluyeron que *P. capsici* es una especie muy compleja genéticamente y con gran variabilidad morfológica, donde al menos se ubicaron 3 grupos:

- Subgrupo 1: en su mayoría aislamientos de solanáceas y cucurbitáceas.
- Subgrupo 2: aislamientos de cultivos tropicales como pimenta negra, cacao, papaya, macadamia y hule.
- Subgrupo 3: Aislamientos de cacao.

1.2.4 Síntomas

Bajo condiciones favorables (de 11 a 35°C , óptima de 25 a 28°C) y alta humedad, es un hongo altamente agresivo; puede destruir cultivos completos de chile, calabaza, pepino, tomate, berenjena, entre otros, en un tiempo corto, debido a su gran velocidad de crecimiento y abundante esporulación (Romero, 1993; Zitter *et al.*, 2004). El follaje de las plantas afectadas se marchita parcial o totalmente. El daño se puede presentar en cualquier parte de la planta y en cualquier estado de desarrollo. Cuando el ataque es en la raíz, se presenta una marchitez progresiva; este daño comienza en los tejidos corticales y posteriormente a los vasculares, en donde se observa una banda necrosada ascendente sobre el tallo que causa un taponamiento del sistema vascular de la planta. Al inicio se observa una marchitez parcial, que



se torna completa después de 3 a 4 días (Mendoza, 1996; Zitter *et al.*, 2004). Al respecto, Castrejón y Rodríguez (1984) determinaron que el síntoma se presenta a los 9 días después de la inoculación y en sólo 20 días las plantas mueren. Este fenómeno se presenta tan rápido que las hojas pierden su turgencia y cuelgan pero conservan su color verde. Si la infección ocurre sólo en una rama, se presenta marchitez parcial y bajo condiciones favorables puede extenderse a toda la planta. Las infecciones ocurren por salpicadura de gotas de agua portadoras de esporangios y zoosporas. En hojas y ramas se desarrollan tizones y en frutos, manchas acuosas cubiertas por micelio del hongo, los cuales quedan adheridos a la planta y frecuentemente, en la parte interna, se observa crecimiento del micelio de color blanco que cubre las semillas podridas. En plántulas ocasiona damping-off y pudrición del tallo (Nuez *et al.*, 2003; Zitter *et al.*, 2004).

1.2.5 Ciclo de la enfermedad

Las oosporas son la fuente de inóculo primario; sobreviven en el suelo más de dos años en ausencia del hospedante. El micelio es una fuente importante de inóculo secundario y se ha observado que no sobrevive más de 7 días en suelo seco. El patógeno vive como saprófito sobre restos de materia orgánica y con humedad constante produce esporangios y zoosporas que son distribuidas por el agua (Romero, 1993; Zitter *et al.*, 2004), son los propágulos más efectivos para causar infección, porque pueden nadar o simplemente ser arrastradas por la corriente de agua; después de un determinado tiempo y, de acuerdo con las condiciones del medio ambiente, se enquistan y absorben sus flagelos; inmediatamente después, emiten un tubo germinativo que penetra los tejidos de la planta por medio del apesorio (Nuez *et al.*, 2003). La lluvia y el mal drenaje favorecen la infección, por lo que la enfermedad se presenta después del trasplante. Las infecciones en el cuello de la planta se debe a que las zoosporas del patógeno transportadas por el agua, inician la infección por las heridas o las lenticelas. El marchitamiento se debe a una secreción de toxinas del patógeno y el taponamiento de los vasos conductores. Las lesiones en ramas y hojas se presentan por el inóculo diseminado por el salpique del agua de lluvia. El patógeno sobrevive de una estación a otra en los residuos de la cosecha; los esporangios formados en la base del tallo liberan zoosporas que son acarreadas por el agua a otras plantas; el inóculo queda en residuos de cosecha, como oosporas en las semillas atacadas o en el suelo como micelio u oosporas, que al ciclo siguiente germinan e infectan de nuevo (Mendoza, 1996). Las condiciones ambientales de alta humedad de suelo y temperaturas frescas favorecen el desarrollo de la enfermedad. En algunas zonas productoras la última etapa del cultivo es la más afectada, porque coincide



con la época más lluviosa. En semilla el patógeno solamente forma micelio y no sobrevive por más de un mes (Zitter *et al.*, 2004; Santos, 2010).

1.3 *Fusarium solani* (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen

1.3.1 Importancia y distribución

La podredumbre de la corona y del pie de la calabaza es causada por una forma especial de *Fusarium solani*, que exhibe especificidad del huésped y presenta dos razas; la 1 es cosmopolita y destruye las raíces, tallo y fruto del vegetal. La raza 2 ocasiona sólo la pudrición del fruto (Zitter *et al.*, 2004). La enfermedad se describió por primera vez en Sudáfrica en 1932. También se ha observado en Australia, Canadá y los Estados Unidos. *F. solani* es cosmopolita; se encuentra en casi todos los suelos agrícolas (Burgess y Summerell, 1992; Ellanskaya *et al.*, 1998); es una de las pocas especies de *Fusarium* común en los suelos de los hábitats forestales y tropicales (Summerell *et al.*, 1993); tiene una amplia gama de hospedantes, pero la utilidad de muchos de estos registros es cuestionable, por la diversidad taxonómica presente en este complejo de especies. La calabaza es uno de sus principales hospedantes (Jones y Epstein, 1989).

1.3.2 Taxonomía Snyder y Hansen (1940)

Reino: Fungi

Phylum: Ascomycota

Clase: Sordariomycetes

Orden: Hypocreales

Familia: Nectriaceae

Género: *Fusarium*

Especie: *Fusarium solani*

Forma especial: *cucurbitae*

1.3.3 Morfología

Los conidióforos son hialinos, miden 50 a 165 × 2.4 a 4.3 µm, contienen masas de esporas con dimensiones de 10 a 25 µm de diámetro presentes en los ápices de los mismos; los conidios son hialinos, de dos tipos: macroconidios con células apicales ligeramente curvadas y células centrales cilíndricas



generalmente de 3 a 5 células por macroconidio; miden $26.2 \times 6.8 \mu\text{m}$. Los microconidios tienen de 1 a 2 células, con dimensiones de $17.5 \times 6.3 \mu\text{m}$. Las clamidosporas son color marrón, globosas y, por lo general, solitarias, de 6 a 7 μm de diámetro (Watanabe, 2002; Leslie y Summerell, 2006); el crecimiento de la colonia en medio de cultivo es blanca, luego se torna de un color blanco rosáceo con un tinte púrpura, con desarrollo de micelio escaso y en ocasiones abundante; arrugado a veces cuando es viejo y algodonoso. La masa de esporas es de coloración ocre rosa, rosa o púrpura violeta (Mendoza, 1996; Romero, 1993).

1.3.4 Síntomas

El primer síntoma observado normalmente en el campo es el marchitamiento de las hojas. En varios días, toda la planta se marchita y muere. Si se quita la tierra de alrededor del cuello de la planta, es evidente una podredumbre necrótica muy clara de la corona y de la parte superior de la raíz principal; la cual se desarrolla primero como un área acuosa de color claro, que se hace cada vez más oscura; comienza en el córtex de la raíz; hace que este tejido se desprenda y, eventualmente, destruye todos los demás, excepto los filamentos vasculares fibrosos. Las plantas infectadas se rompen fácilmente entre 2 y 4 cm por debajo de la línea del cuello; el hongo está generalmente limitado al área de la corona. Las partes central e inferior de la raíz principal no son afectadas, excepto en condiciones extremadamente húmedas. Asimismo, el tallo es afectado sólo entre los 2 a 4 cm abajo del nivel del suelo. Las plantas infectadas desarrollan numerosos esporodoquios y macroconidios, que dan al micelio un color blanco a rosa en la parte del cuello. Los frutos son atacados en el punto de contacto con el suelo; la severidad de los daños depende de la humedad del suelo (Zitter *et al.*, 2004; Castroagudin *et al.*, 2009).

1.3.5 Ciclo de la enfermedad

F. solani f. sp. *cucurbitae*, puede ser transportado interna y externamente por las semillas, en donde sobrevive aparentemente durante sólo 1 ó 2 años, y parece que la infección no afecta la viabilidad o germinación de aquellas. Aunque el hongo produce abundantes clamidosporas, aparentemente sobrevive sólo durante 2-3 años en el suelo, que es mucho menos tiempo en comparación con la perisitencia de otras formas especiales de *F. solani*. En la naturaleza no se ha observado el estado perfecto, por lo que se infiere que las ascosporas probablemente no desempeñan un papel significativo en la supervivencia. Puede infectar plantas y frutos de cualquier edad; es generalmente un problema sólo en calabazas de verano y en algunos cultivares de calabaza común; sin embargo, se ha demostrado que la mayoría de las



cucurbitáceas son susceptibles, incluido el melón y la sandía; el pepino maduro es menos infectado; no obstante, todas estas especies son afectadas en la fase de plántula (Zitter *et al.*, 2004; Castroagudin *et al.*, 2009).

1.4 *Sclerotium rolfsii* Sacc.

1.4.1 Importancia y distribución

S. rolfsii es un hongo de suelo necrótrofo facultativo con gran capacidad de crecimiento saprofítico; provoca graves pérdidas en cultivos de interés económico y es difícil combatirlo eficientemente (Punja, 1985). A esta dificultad contribuyen de forma significativa varios factores como son: a) una amplia gama de plantas susceptibles cultivadas y no cultivadas; b) la extensa distribución geográfica de este patógeno; y c) su capacidad de persistir prolongadamente en el suelo mediante la formación de esclerocios (Okabe y Matsumoto, 2000; Okabe *et al.*, 2001).

El valor de las pérdidas económicas y de rendimiento en los cultivos afectados por *S. rolfsii* no se ha cuantificado con precisión, aunque se estima que es elevado. El hongo puede ocasionar desde daños poco severos hasta la pérdida total de las cosechas dependiendo del huésped y las condiciones ambientales; se ha señalado como responsable del 5% de las pérdidas totales de las cosechas en el sur de USA Del 5 al 10%, en cacahuete (*Arachis hipogaea* L.) en Alabama, USA (Sturgeon, 1986), del 40% en caupí (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) en Benín, Sudáfrica (Adandonon *et al.*, 2005 y del 50% de la producción de remolacha azucarera (*Beta vulgaris* L.) (Remesal, 2011).

La distribución geográfica de *S. rolfsii* abarca prácticamente todas las zonas mundiales de producción agrícola, comprendidas entre los 45° de latitudes Norte y Sur; no obstante, es más frecuente en áreas templadas y tropicales, debido a que su desarrollo y supervivencia son favorecidos por lo coincidencia de altas temperaturas y elevada humedad. Así, este hongo es común en países de África, América Central y del Sur; así como en Australia, Chile, India, Japón, sur de USA y la Cuenca Mediterránea, aunque también ha sido descrito en el norte de USA, norte de China e incluso en Siberia (Rusia) (Punja, 1985).

1.4.2 Taxonomía Binder *et al.* (2010)

Reino: Fungi

Phylum: Basidiomycota

Subphylum: Agaricomycotina



Clase: Agaricomycetes

Subclase: Agaricomycetidae

Orden: Amylocorticiales

Familia: Atheliaceae

Género: *Athelia* (*Sclerotium*)

Especie: *A. rolfsii*

1.4.3 Morfología

Lo más característico del hongo es la formación de abundante micelio aéreo blanco y la producción de esclerocios como estructuras de supervivencia, tanto en condiciones naturales como de laboratorio. El crecimiento o desarrollo miceliar se produce de forma rápida ya que una colonia en cultivo sobre medio sintético, por ejemplo papa-dextrosa-agar (PDA), es capaz de alcanzar los 9 cm de diámetro en 3-4 días de incubación a 25°C, con la formación de abundante micelio aéreo (Okabe *et al.*, 2001; Remesal, 2011).

Las hifas son hialinas, de pared celular delgada, con formación de septos y un gran número de hifas ramificadas que pueden ser de tres tipos: las primarias o hifas principales, de 4.5 a 8 µm de diámetro, con conexiones en argolla que dan lugar a las secundarias y terciarias, de menor diámetro (2.0-4.5 µm), que pueden anastomosar entre ellas (Okabe y Matsumoto, 2000; Okabe *et al.*, 2001).

Los esclerocios tienden a ser esféricos (0.5-2 mm de diámetro), formados lateralmente en hifas principales y donde, al madurar, se diferencian tres capas: una corteza exterior melanizada de dos a cuatro células de espesor, un córtex intermedio de seis a ocho células de espesor y una médula interior compuesta de hifas estrechamente entrelazadas entre sí (Punja, 1985). Son de color blanquecino en su formación y de color parduzco una vez maduros. En el estado sexual o teleomorfo, *A. rolfsii*, se forman basidios libres que carecen de la protección, que en otros basidiomicetos confiere el himenio. Los basidios son de forma ovalada y sobre ellos se forman cuatro basidiosporas haploides en los extremos de los esterigmas (Okabe y Matsumoto, 2000; Okabe *et al.*, 2001).

1.4.4 Síntomas

La amplia gama de especies de hospedantes susceptibles a *S. rolfsii* determina que los síntomas que presentan sean muy diversos. No obstante, en plantas afectadas, lo primero que se observa es la amarillez y marchitez de las hojas como resultado de las lesiones producidas inicialmente en la raíz y/o base del



tallo, una vez que éstos han sido infectados. Además, este hongo es capaz de infectar hojas, flores y frutos, siempre que éstos entren en contacto con el suelo infestado y que las condiciones ambientales sean favorables. Síntomas similares, aunque de forma muy puntual, se han descrito en las hojas como consecuencia de la infección causada por las basidiosporas dispersadas en el aire de manera activa (Almeida *et al.*, 2001). En los últimos estadios del proceso infectivo, se observa abundante micelio blanco en la superficie del suelo adyacente a la planta infectada y la formación de esclerocios cuya coloración vira de blanco a marrón oscuro a medida que maduran (Punja, 1985).

1.4.5 Ciclo de la enfermedad

S. rolfsii puede sobrevivir durante muchos años como esclerocios en el suelo o en desechos del huésped. Es fuertemente saprofito, capaz de producir un crecimiento abundante en varios sustratos de huéspedes. Produce ácido oxálico y enzimas celulolíticas y pectinolíticas que facilitan la penetración hifal directa de los tejidos no dañados. Parece que los compuestos volátiles generados por los tejidos senescentes de la planta, estimulan la germinación esclerocial. El crecimiento micelial se desarrolla de 8 a 40 °C, pero se inhibe a menos de 15 °C. El micelio muere a temperaturas bajo cero, pero los esclerocios pueden resistir temperaturas de hasta -10 °C. La preponderancia del hongo en climas cálidos es reflejo de su gama de temperaturas óptimas relativamente altas (27-30 °C). Las condiciones húmedas del suelo favorecen también el desarrollo y, con frecuencia, los brotes graves de la enfermedad se asocian con condiciones anormalmente húmedas; asimismo, parece que son propicios los suelos ácidos, mientras que los suelos altamente alcalinos y calcáreos son inhibidores. La incidencia de daños puede reducirse mediante el uso de fuentes de nitrógeno amoniacal y fertilizantes que contengan calcio disponible para la planta. Como en muchas otras enfermedades transmitidas por el suelo, esta marchitez se distribuye en forma de manchones en el campo. El patógeno se disemina por el equipo para las labores del cultivo, el movimiento de las aguas de riego y drenaje, y el traslado de tierras o desechos infestados (Blancard *et al.*, 1992; Mendoza, 1996, Remesal, 2011).

1.5 *Rhizoctonia solani* (Kühn)

1.5.1 Importancia y distribución

La infección por *Rhizoctonia* es una de las enfermedades más antiguas y de mayor dispersión a nivel mundial. Desde que se reportó por primera vez en 1858 por Kühn, se ha detectado subsecuentemente en



casi todas las áreas productoras de papa en el mundo. La enfermedad, cuyo agente etiológico es *Rhizoctonia solani* (Kühn) [=*Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk] ha sido objeto de gran cantidad de investigaciones durante los últimos años; ataca a muchas especies vegetales; infecta a la mayoría de las partes de la planta; en cucurbitáceas, el daño comienza en la parte inferior del fruto, que está en contacto directo con el suelo (Zitter *et al.*, 2004; Ohkura *et al.*, 2009).

1.5.2 Taxonomía González (2002)

Reino: Eumycota o Fungi

Phylum: Basidiomycota

Clase: Homobasidiomycetes

Orden: Ceratobasidiales

Familia: Ceratobasidiaceae

Género: *Thanatephorus*

Especie: *Thanatephorus cucumeris* (*Rhizoctonia solani*)

1.5.3 Morfología

R. solani es el estado anamorfo del Basidiomycota *Thanatephorus cucumeris* (Frank.) Donk (Cubeta y Vilgalys, 1997). Las hifas de este hongo son capaces de anastomosarse (fusión de hifas), propiedad que se ha utilizado para formar grupos de los diferentes aislamientos del patógeno. El micelio es casi siempre de color canela o castaño oscuro y las hifas tienen un diámetro que varía de 8 a 10 μm . Las hifas vegetativas jóvenes tienen sus células multinucleadas y, cerca del septo distal de la célula, se ramifican en forma típicamente de ángulo recto, con constricciones y formación de un septo en el punto de origen de la ramificación de la hifa. El micelio tiene distribución uniforme sobre la superficie del sustrato y algunas veces se agrega formando cordones miceliales que originan los esclerocios (Watanabe, 2002; Zitter *et al.*, 2004).

La fase sexual *T. cucumeris* se distingue por una combinación de caracteres. El himenio (racimos de basidios) es discontinuo y distintivo, aunque variable. Los holobasidios son relativamente cortos y anchos, de forma abarilada a subcilíndrica, no uniforme ni constreñida cerca de la mitad y poco más ancho que la hifa de soporte. Los esterigmas son fuertes y generalmente erguidos. Las esporas son mucosas, de paredes delgadas, prominentemente apiculadas, no amiloides, hialinas, tienden a ser oblongas a



elipsoidales, aplastadas por un lado y, a menudo, más anchas hacia el extremo distal (González, 2002; Watanabe, 2002).

1.5.4 Síntomas

En la parte inferior y en los extremos florales del fruto de las cucurbitáceas, *R. solani* produce lesiones acuosas, de color pardo a marrón, que llegan a ser hundidas, con cráteres e irregulares, y se secan cuando se hacen grandes. El área afectada tiene una apariencia costrosa. La pudrición del fruto no es normalmente blanda o acuosa (Blancard *et al.*, 1992; Zitter *et al.*, 2004).

1.5.5 Ciclo de la enfermedad

El patógeno sobrevive saprofiticamente en el suelo como micelio o como esclerocios en el tejido de las plantas; produce ocasionalmente estructuras de resistencia llamadas microesclerocios en forma de piedrecillas negras adheridos a la raíz que dan un aspecto lodoso; se producen a inicios de la temporada de lluvias; germinan entre 8 y 30°C, con una temperatura óptima de 21 a 25°C (Mendoza, 1996). La infección de frutos de las cucurbitáceas ocurre por la parte que está en contacto con el suelo. Se considera que la temperatura es más importante que la humedad para el desarrollo de la enfermedad, aunque ésta se propicia cuando la humedad relativa es alta cerca de la superficie del suelo y existe un denso follaje del cultivo. Los daños más severos de frutos podridos se tienen cuando prevalecen de 8 a 35°C, con una óptima de 27°C (Zitter *et al.*, 2004).

1.6 Fungicidas

1.6.1 Fungicidas sistémicos

Los fungicidas sistémicos son compuestos capaces de penetrar la cutícula de las hojas y dispersarse en la planta. Se caracterizan por mostrar propiedades protectoras y curativas. Al ser asimilados y redistribuidos dentro de la planta, sufren conversiones metabólicas y alteraciones en su estructura, lo que conduce a un complejo patrón de reacciones bioquímicas y fisiológicas, que interfieren la actividad biológica, tanto de los patógenos como del huésped. Son compuestos generalmente con un único modo de acción, muy efectivos a bajas concentraciones, flexibles en su uso (es decir, con una eficacia aceptable sobre un amplio rango de crecimiento fúngico y estadios de infección) y que controlan la enfermedad durante largos periodos de tiempo (Mendoza, 1990; Monkiedje y Spiteller, 2002).



Estos fungicidas, al distribuirse en la planta, pueden alcanzar los lugares de infección y previenen un mayor desarrollo del patógeno. La ventaja de estos compuestos curativos es que pueden aplicarse después de que haya sucedido la infección fúngica, de modo que la planta tiene la oportunidad de recuperarse (Hu *et al.*, 2010).

El espectro de acción de estos fungicidas es más estrecho que el de los protectores; pero el grado de control que proporcionan es superior. Desafortunadamente, este mayor control, unido al modo de acción único, se traduce en un mayor riesgo de inducir resistencia al fungicida. Los tipos de actividades específicas que se han atribuido a muchos fungicidas sistémicos incluyen interferencias con la síntesis de nucleótidos, formación de polinucleótidos y proteínas, síntesis de esteroides y de componentes de lipoproteínas de la membrana (Gisi y Sierotzki, 2008; Cook *et al.*, 2009).

Según Mendoza (1990) y Gisi y Sierotzki (2008), un fungicida sistémico efectivo debe cumplir las siguientes condiciones:

- Ser fungicida o convertirse en un fungitóxico activo dentro de la planta. Algunos compuestos actúan modificando la resistencia del huésped frente al ataque fúngico.
- Presentar muy baja fitotoxicidad; requisito especialmente importante, porque el compuesto está íntimamente en contacto con el vegetal.
- Ser absorbido por las raíces, semillas u hojas de la planta y, después, translocado, al menos localmente, dentro del hospedante.

1.6.1.1 Carbamatos: Bencimidazoles (benomilo y propamocarb)

Estos compuestos dieron lugar a una nueva era en el uso de fungicidas a finales de los años 60. Los bencimidazoles presentan una alta afinidad por las proteínas tubulares e interrumpen la mitosis en la metafase. La resistencia a este tipo de fungicidas, si es estable, se propaga rápidamente y desemboca en una catastrófica pérdida del control de la enfermedad. La aparición de tolerancia es un factor limitante para su uso y valor comercial. El benomilo se utiliza para controlar enfermedades en varios cultivos (Peres *et al.*, 2002). Por otra parte, el propamocarb se aplica contra oomycetes; afecta la permeabilidad de las membranas celulares, pero el modo de acción bioquímico es todavía desconocido (Gisi y Sierotzki, 2008; Velikorodov *et al.*, 2011).



1.6.1.2 Fenilamidas, acilalaninas (Metalaxil)

El metalaxil es uno de los productos más comunes de este grupo en México; es altamente activo contra oomycetes; tiene gran capacidad de penetración y rápida translocación acropétala (Mendoza, 1990). Es el compuesto más activo, versátil y ampliamente usado de las fenilamidas; sus características biológicas se pueden resumir como sigue: Alta fungitoxicidad inherente, actividad protectora y curativa, rápida absorción, alta sistemicidad acropétala, protección de brotes nuevos, buena persistencia en tejidos vegetales, controla enfermedades del suelo, tiene efectos sinérgico en la absorción de nutrimentos y sistémico en la semilla (Taylor *et al.*, 2002; Gisi y Sierotzki, 2008).

Un aspecto interesante del modo de acción de los modernos fungicidas contra oomycetes, es la inhibición específica de ciertos estados en la biología de los patógenos. *In vitro* son, por regla, mas inhibitorios del crecimiento micelial y de la esporulación que de las esporas y germinación; su acción es mas fungistática que fungicida (Monkiedje y Spiteller, 2002; Taylor *et al.*, 2002).

1.6.1.3 Compuestos organofosforados (Fosetilo)

Hoy en día, más de 100 compuestos organofosforados muestran actividad fungitóxicas; sin embargo, un número relativamente pequeño tiene utilidad práctica como fungicidas. Muchos de ellos son altamente fitotóxicos y, a menudo, son demasiado específicos contra determinadas especies de hongos. El fosfonato fosetilo es un compuesto soluble en agua, selectivo a oomycetes y proporciona control sistémico sobre podredumbres en muchos cultivos; es fácilmente absorbido por el tejido vegetal y translocado sistémicamente en el floema. Fosetilo, o su producto de degradación, el ácido fosfónico, probablemente actúa debilitando el crecimiento del hongo y permitiendo, por tanto, a los mecanismos de defensa naturales de la planta, matar finalmente al patógeno (Mendoza, 1990; Brown *et al.*, 2004).

El fosetil-Al puede tener un efecto indirecto contra mildius mediante la estimulación de reacciones de defensa en la planta y, también, una actividad antifúngica directa. Se ha reportado que provoca cambios en el azúcar fosforilado, así como en el contenido y composición de la pared celular. Sin embargo, el principal sitio de acción no se conoce; hasta la fecha, no se han detectado aislamientos resistentes en poblaciones de campo (Brown *et al.*, 2004; Cook *et al.*, 2009).



1.6.2 Fungicidas protectores

Los fungicidas protectores previenen el desarrollo de un patógeno en la superficie de la planta antes de que tenga lugar la infección; establecen una barrera química al patógeno, y no permiten que se establezca en el huésped; tienen que estar presentes en la superficie de la planta antes de que las esporas fúngicas se asienten o germinen; son efectivos sólo en el lugar de aplicación, no penetran apreciablemente en los tejidos vegetales y, en consecuencia, no se transportan por el sistema vascular de la planta; no pueden detener el desarrollo de la enfermedad cuando la infección aparece. Entre sus desventajas se encuentra la susceptibilidad a las condiciones medioambientales (viento, lluvia y luz solar) durante largos periodos de tiempo. Por otro lado, en los cultivos en crecimiento, la expansión del tejido superficial de la hoja, tallo y fruto rompe la capa protectora formada por el fungicida, permitiendo la invasión de los patógenos. Pueden tener diversos puntos de acción y, por tanto, un amplio espectro de actividad. En consecuencia, son compuestos que se aplican frecuentemente, a diferentes intervalos de tiempo durante el desarrollo del cultivo (Fishel, 2006; Femenía, 2007).

Un buen fungicida protector debe cumplir las siguientes condiciones (Fishel, 2006; Femenía, 2007):

- Fitotoxicidad baja, para que al aplicarlo no cause daños en el hospedante.
- Ser fungitóxico por sí mismo o ser capaz de convertirse en un fungicida dentro de la espora fúngica, y actuar rápidamente antes de que la infección penetre la cutícula de la planta.
- Penetrar en la espora y alcanzar el último sitio de acción en el hongo.
- Ser capaces durante su aspersión foliar de cubrir completamente la superficie de la planta y de formar depósitos resistentes a las condiciones climáticas, durante largos periodos de tiempo.

1.6.2.1 Clorobencenos (Quintozeno: PCNB y Clorotalonil)

La 2,6-dicloro-4-nitroanilina la comercializó Boots Limited en 1959; tiene especial valor en el control de *Botrytis* en lechugas, tomates y fresas, y contra los hongos que causan pudrición de frutas en postcosecha. Entre los cloronitrobencenos con acción fungicida se encuentran Cloroneb, Clortalonil y Pentacloronitrobenceno (PCNB) o Quintoceno, se introdujo en los años 30, y se utiliza actualmente como fungicida en tratamientos contra enfermedades del suelo (Fishel, 2006; Femenía, 2007).

La actividad fungicida de los cloronitrobenzenos se ha estudiado por varios investigadores. El pentacloro (PCNB, quintoceno) se ha utilizado como un fungicida comercial contra patógenos de plantas transmitidos



por el suelo. Generalmente se acepta que la fungitoxicidad se debe al aumento de la peroxidación de lípidos en las membranas celulares; la cual tiene lugar cuando se inhibe la actividad de las enzimas involucradas en el transporte electrónico, e induce la generación de radicales libres (Femenía, 2007). El clorotalonil es de amplio espectro; controla varios hongos del suelo (Morales, 2001). Ambos fungicidas protectores se utilizan en diferentes cultivos contra varios patógenos del suelo como: *Sclerotium rolfsii* Saccardo, *Fusarium solani* (Martius) Appel & Wollenweber emend. Snyder & Hansen, *Rhizoctonia solani* Kühn, *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich, entre otros (Xie y Vallad, 2010).

1.7 Control biológico de enfermedades en los cultivos

1.7.1 Generalidades

En la época actual se ha incrementado la tendencia del control de enfermedades en los agrosistemas sin utilizar productos químicos, debido a que el uso excesivo de éstos ha provocado contaminación ambiental. Además, se vuelven menos eficaces por la evolución de patógenos a descendientes resistentes y también pueden matar insectos y microorganismos benéficos (Bartlett *et al.*, 2002; Madriz, 2002).

En los últimos 30 años, en la agricultura se han implementado, métodos de control alternativos, como el uso de microorganismos de control biológico o "biocontrol", términos utilizados en diferentes campos de la biología, y que en fitopatología, se aplica al uso de antagonistas microbianos para suprimir las enfermedades (Pliego *et al.*, 2011); es decir, implica la utilización de organismos (o de sus metabolitos o subproductos) supresores de plagas o patógenos, con el fin de reducir o eliminar sus efectos dañinos en las plantas o sus productos. Esta estrategia se ha empleado de manera empírica desde los inicios de la agricultura. La razón principal por la cual muchos cultivos no son destruidos completamente por las plagas y enfermedades, es la presencia natural de agentes de control biológico capaces de antagonizar y reducir la severidad de plagas o patógenos, reduciendo sus efectos nocivos (Lim y Kim, 2010; Yang *et al.*, 2012).

El aprovechamiento de agentes biológicos para el control de enfermedades (principalmente hongos), es aun comercialmente limitado; se basa principalmente en hongos de los géneros *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Streptomyces*, *Coniothyrium* y *Candida*; además en bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Agrobacterium*. Las cepas de *Trichoderma* se consideran como los biofungicidas más efectivos, porque pueden antagonizar a un amplio espectro de hongos fitopatógenos, por la capacidad de producción de



enzimas líticas que degradan las paredes celulares y matan al patógeno (Jacobsen *et al.*, 2004; Schisler *et al.*, 2004; Harman *et al.*, 2010).

En contraste con lo que ocurre con la mayoría de los compuestos utilizados como antimicrobianos químicos (cuyo mecanismo de acción se conoce), no se comprenden por completo los complejos modos de acción de los microorganismos que directa o indirectamente afectan a las plantas, incluyendo a la mayoría de los agentes de control biológico (Harman *et al.*, 2004; Harman, 2006), que son más difíciles de manejar y aplicar que los antimicrobianos químicos comunes, especialmente cuando es necesaria la conjunción de varios factores para que sean eficaces o ecológicamente competentes. Sin embargo, la complejidad de los modos de acción de muchos microorganismos benéficos hace difícil que el patógeno desarrolle resistencia contra ellos (Sharon *et al.*, 2001); es raro que sólo un mecanismo antagonista sea responsable del control o supresión del patógeno (Harman *et al.*, 2010; Zembek *et al.*, 2011).

1.7.2 Mecanismos de acción de *Trichoderma* spp.

Los hongos benéficos del género *Trichoderma* cuentan con diferentes modos de acción, utilizados en la supresión y antagonismo de patógenos por ejemplo, la colonización rápida del hábitat generan competencia por espacio y nutrientes; el parasitismo sobre la plaga o patógeno; la producción de enzimas capaces de perforar y destruir literalmente al patógeno (enzimas líticas); producción de antibióticos; y la habilidad para estimular los mecanismos de defensa e inducir la resistencia de la planta contra el patógeno (Harman, 2006; Zembek *et al.*, 2011).

2. LITERATURA CITADA

- Adandonon, A., Aveling, T. A. S., Merwe, N. A., and Sanders, G. 2005. Genetic variation among *Sclerotium* isolates from Benin and South Africa, determined using mycelia compatibility and ITS rDNA sequence data. *Australasian Plant Pathology* 34:19-25.
- Almeida, A. M. R., Abdelnoor, R. V., Calvo, E. S., Tessman, D. and Yorinori, J. T. 2001. Genotypic diversity among Brazilian isolates of *Sclerotium rolsii*. *Journal of Phytopathology* 149:493-502.
- Ayvar, S. S., A. Mena. B., J. A. Durán, R., R. Cruzaley, S y N. O., Gómez, M. 2007. La calabaza pipiana y su manejo integrado. Folleto técnico. Fundación Produce de Guerrero, A. C. Campo Experimental Iguala. CSAEGRO. Iguala, Gro. México. 26 p.



- Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M., Parr-Dobrzanski, B. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Manage. Sci.* 58:649-662.
- Bisognin, D. A. 2002. Origen y evolución de cucurbitáceas cultivadas. *Cienc. Rural.* 32(4):715-723.
- Binder, M., Larsson, K. H., Matheny, P. B., and Hibbett, D. 2010. Amylocorticiales ord. nov. and Jaapiiales ord. nov.: Early diverging clades of *Agaricomycetidae* dominated by corticioid forms. *Mycologia* 102: 865-880.
- Blancard, D., Lecoq, H., y Pitran, M. 1992. Enfermedades de las cucurbitáceas. Primera edición. Editorial INRA. Francia. 310 p.
- Brown, S., Koike, S., Ochoa, O., Laemmlen, F., and Michelmore, F. 2004. Insensitivity to the fungicide Fosetyl-Aluminum in California isolates of the lettuce downy mildew pathogen, *Bremia lectucae*. *Plant Dis.* 88:502-508.
- Burgess, L. W., and B. A. Summerell. 1992. Mycogeography of *Fusarium*: Survey of *Fusarium* species from subtropical and semi-arid grassland soils from Queensland, Australia. *Mycological Research* 96:780-784.
- Castrejón, S. A. y Rodríguez, M. R. 1984. Algunos aspectos fisiológicos del síndrome del marchitamiento del chile por *Phytophthora capsici* Leonian. Centro de Fitopatología, Colegio de Postgraduados. 156 p.
- Castroagudin, V. L., Correll, J. C., and Cartwright, R. D. 2009. Primer Informe de Pudrición de la fruta de la calabaza causada por *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* en Arkansas. *Plant Dis.* 93:669.
- Chávez, A. J. J., Zavaleta, M. E., Téliz, O. D. y Juárez, P. C. 1994. Control integrado de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) ocasionada por *Phytophthora capsici* en la región de Valsequillo, Puebla. *Memorias del XXI Cong. Nac. de la Soc. Mex. De Fitopatología*, Cuernavaca, Mor. 26 p.
- Cook, P. J., Landschoot, P. J., and Schlossberg, M. J. 2009. Inhibition of *Pythium* spp. and suppression of *Pythium* blight of turfgrasses with phosphonate fungicides. *Plant Dis.* 93:809-814.
- Cubeta, M. A., and Vilgalys, R. 1997. Population Biology of the *Rhizoctonia solani* Complex. *Phytopathology* 87(4): 480-484.
- Ellanskaya, I. A., P. A. Volz, E. Nevo, S. P. Wasser, and E. V. Sokolova. 1998. Soil micromycetes of Evolution Canyon, Lower Nahal Oren, Mt. Carmel National Park, Israel. *Microbios* 92: 19-33.
- Femenía, R. M. E. 2007. Caracterización química de cepas de hongos del género *Colletotrichum*: síntesis de gloeosporiol. Diseño y síntesis de modelos de agentes fungicidas. Tesis doctoral.



Departamento de Química Orgánica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz. Cádiz, España.
364 p.

- Financiera Rural, 2011. Monografía de la calabaza pipiana. Obtenido de la red: [http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/ Monograf % C3 %Ada Calabaza\(ene2011\) vf. pdf](http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/Documents/Monografias/Monograf%C3%ADa%20Calabaza(ene2011).pdf). (Consulta: 17/03/2011).
- Fishel, F. M. 2006. Fungicide Resistance Action Committee's (FRAC) Classification Scheme of Fungicides According to Mode of Action. University of Florida, Gainesville, FL 32611 p.
- Fritz, G. J. 1994. Precolumbian *Cucurbita Argyrosperma* ssp. *Argyrosperma* (Cucurbitaceae) In The Eastern Woodlands Of North America. Economic Botany 48(3):280-292.
- Gisi, U., and Sierotzki, H. 2008. Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. Eur J Plant Pathol. 122:157–167.
- González, H. D. 2002. Estado actual de la Taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn. Revista Mexicana de Fitopatología 20(2): 200-205.
- Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. Phytopathology 96:190-194.
- Harman, G. E., Obregón, M. A., Samuels, G. J., and Lorrito, M. 2010. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developing and the developed world. Plant Disease 94(8):928-939.
- Harman, G. E., Petzoldt, R., Comis, A., and Chen, J. 2004. Interactions between *Trichoderma harzianum* strain T22 and maize inbred line Mo17 and effects of these interactions on diseases caused by *Pythium ultimum* and *Colletotrichum graminicola*. Phytopathology 94:147-153.
- Hu, J., Hong, C., Stromberg, E. L., and Moorman, G. W. 2010. Mefenoxam sensitivity in *Phytophthora cinnamomi* isolates. Plant Dis. 94:39-44.
- Jacobsen, B. J., Zidack, N. K., and Larson, B. J. 2004. The role of *Bacillus*-based biological control agents in integrated pest management systems. Phytopathology 94:1272-1275.
- Jaimes, L. A. 2006. Efecto de diferentes niveles de poda sobre el rendimiento de semilla de calabaza pipiana. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. México. 62 p
- Jeschke, N., P. E. Nelson, and W. F. O. Marasas. 1990. *Fusarium* spp. isolated from soil samples collected at different altitudes in the Transkei, southern Africa. Mycologia 82:727-733.
- Jones, M. J., and L. Epstein. 1989. Adhesion of *Nectria haematococca* macroconidia. Physiological and Molecular Plant Pathology 35:453-461.



- Kirk, P. M., P. F. Cannon, J. C. David and J. A. Stalpers. 2001. Dictionary of the Fungi. CAB International. UK. 655 p.
- Leonian, L. H. 1922. Stem and fruit blight of peppers caused by *Phytophthora capsici*. Phytopathology 12: 401-408.
- Leslie, J. F. and Summerell B. A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Kansas Agricultural Experiment Station, Manhattan. 388 p.
- Lim, J. H. and Kim, S. D. 2010. Biocontrol of Phytophthora Blight of Red Pepper Caused by *Phytophthora capsici* Using *Bacillus subtilis* AH18 and *B. licheniformis* K11 Formulations. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 53(6):766-773.
- Lira, R. 1991. Observaciones en el género *Sicana* (Cucurbitaceae). Brenesia 35:19-59.
- Lira, R. 1995. Estudios taxonómicos y ecogeográficos de las *Cucurbitaceae* latinoamericanas de importancia económica: *Cucurbita*, *Sechium*, *Sicana* y *Cyclanthera*. Systematic and ecogeographic studies on crop genepools Vol 9. International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy / Instituto de Biología, Universidad Nacional Autónoma de México.
- Lira, R. and Bye, R. 1996. Las Cucurbitaceas en la alimentación de los dos mundos. In: Long-Solis J. (ed.), Conquista y comida. Consecuencias del encuentro de dos mundos. Instituto de Investigaciones Históricas /Programa Universitario de Alimentos, Universidad Nacional Autónoma de México, México, DF, pp. 199-226.
- Lira, R. and Montes, H. S. 1992. Cucurbitas (*Cucurbita* spp.). In: Hernández-Bermejo E. and León J. (eds), Cultivos marginados. Otra perspectiva de 1492. FAO/ Jardín Botánico de Córdoba, Rome, Italy, pp. 61-75.
- Lira, R., Villaseñor, J. L. and E. Ortiz. 2002. A proposal for the conservation of the family *Cucurbitaceae* in Mexico. Biodiversity and Conservation 11:1699-1720.
- Madriz, K. O. A. 2002. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 63:22-32.
- Mendoza, Z. C. 1990. Fungicidas sistémicos y su modo de acción. Universidad Autonoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. 91 p.
- Mendoza, Z. C. 1996. Enfermedades Fungosas de las Hortalizas. Universidad Autonoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. 88 p.
- Meyer, L., Wehner, F. C., Nel, L. H., and Carling, D. E. 1998. Characterization of the crater disease strain of *Rhizoctonia solani*. Phytopathology 88:366-371.



- Monkiedje, A., and Spiteller M. 2002. Effects of the phenylamide fungicides, mefenoxam and metalaxyl, on the microbiological properties of a sandy loam and a sandy clay soil. *Biol Fertil Soils* 35:393-398.
- Morales, R. 2001. Frecuencia de Aplicaciones del Fungicida Cloratonil 82.5 para el Manejo de *Phytophthora infestans* en Tres Variedades de Papa. *Revista Latinoamericana de la Papa* 12:49-56.
- Montes, H. S., Merrick, L. C., and Eguiarte, L. E. 2005. Maintenance of squash (*Cucurbita spp.*) landrace diversity by farmers' activities in Mexico. *Genetic Resources and Crop Evolution* 52:697-707.
- Nuez, V. F., Gil, O. R. y G. J. Costa. 2003. El cultivo de pimientos, chiles y ajíes. Mundi Prensa. Barcelona, Madrid, España. 607 p.
- Ohkura, M., Abawi, G. S., Smart, C. D., and Hodge, K. T. 2009. Diversity and aggressiveness of *Rhizoctonia solani* and *Rhizoctonia*-like fungi on vegetables in New York. *Plant Dis.* 93:615-624.
- Okabe, I., Arakawa, M., and Matsumoto, N. 2001. ITS polymorphism within a single strain of *Sclerotium rolfsii*. *Mycoscience* 42:107-113.
- Okabe, I. and Matsumoto, N. 2000. Population structure of *Sclerotium rolfsii* in peanut fields. *Mycoscience* 41:145-148.
- Oudemans, P. and Coffey, M. D. 1991. A revised systematic of twelve papillate *Phytophthora* species based on isozyme analysis. *Mycol. Res.* 95:1025-1046 p.
- Parson, B. D. 2007. Cucurbitáceas. Editorial Trillas. México, D.F. 69 p.
- Pernezny, K., P. D. Roberts, J. F. Murphy, and N. P. Goldberg. 2003. Compendium of pepper diseases. The American Phytopathological Society. USA. 63 p.
- Peres, N. A. R., Souza, N. L., Zítka, S. E., and Timmer, L. W. 2002. Activity of benomyl for control of postbloom fruit drop of citrus caused by *Colletotrichum acutatum*. *Plant Dis.* 86:620-624.
- Pliego, C., Ramos, C., Vicente, A., and Cazorla, F. M. 2011. Screening for candidate bacterial biocontrol agents against soilborne fungal plant pathogens. *Plant Soil* 340:505-520.
- Punja, Z. K. 1985. The biology, ecology and control of *Sclerotium rolfsii*. *Annual Review of Phytopathology* 23:97-127.
- Remesal, G. E. 2011. Diversidad genética y patogénica de *Sclerotium rolfsii* Sacc. como factor determinante de epidemias de Podredumbres de raíces. Tesis Doctoral. Universidad de Córdoba. Córdoba, España. 201 p.
- Romero, C. S. 1993. Hongos fitopatógenos. Universidad Autónoma Chapingo, México. 347 p.



- Sánchez, H. M. A., Mejía, C. J. A., Villanueva, V. C., Sahagún, C. J. Muñoz, O. A., y Molina, G. J. D. 2006. Estimación de parámetros genéticos en calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma* Huber). Rev. Fitotec. Mex. 29(2):127-136.
- Schisler, D. A., Slininger, P. J., Behle, R. W., and Jackson, M. A. 2004. Formulation of *Bacillus* spp. for biological control of plant diseases. Phytopathology 94:1267-1271.
- Sharon, E., Bar-Eyal, M., Chet, I., Herrera-Estrella, A., Kleifeld, O., and Spiegel, Y. 2001. Biological control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Trichoderma harzianum*. Phytopathology 91:687-693.
- Shim, M. Y., Starr, J. L., Keller, N. P., Woodard, K. E., and Lee, T. A., Jr. 1998. Distribution of isolates of *Sclerotium rolfsii* tolerant to pentachloronitrobenzene in Texas peanut fields. Plant Dis. 82:103-106.
- Sirtori, G. y E. Boffelli. 2007. Calabazas y Calabacines. Editorial De vecchi. Barcelona, España. 95 p.
- Snyder, W. C., and H. N. Hansen. 1940. The species concept in *Fusarium*. American Journal of Botany 27:64-67.
- Sturgeon, R. V. 1986. Peanut disease loss estimates for major peanut producing states in the United States for 1984 and 1985. Proceedings of the American Peanut Research and Education Society 18:24-26.
- Summerell, B. A., C. A. Rugg, and L. W. Burgess. 1993. Mycogeography of *Fusarium*: A survey of *Fusarium* species in forest and woodland soils in north Queensland, Australia. Mycological Research 97:1015-1019.
- Taylor, R. J., Salas, B., Secor, G. A., Rivera, V., and Gudmestad, N. C. 2002. Sensitivity of North American isolates of *Phytophthora erythroseptica* and *Pythium ultimum* to mefenoxam (metalaxyl). Plant Dis. 86:797-802.
- Vásquez, G. E. 2006. Industrialización de la calabaza pipiana en confitería. Tesis de Licenciatura Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Edo de México. 120 p.
- Velikorodov, A. V., Kovalev, V. B., Degtyarev, O. V. and O. L. Titova 2011.. Synthesis and Antifungal Activity of Some Carbamate Containing Azaheterocycles. Pharmaceutical Chemistry Journal 44(10):536-539.
- Villegas, F. E. 2009. Plan de negocios para una agroindustria de moles rojo y verde en Iguala gro. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. 93 p.



- Wantanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Morphologies of Cultures Fungi and Key to Species. Second edition. CRC PRESS. New York Washington, D.C. 500 p.
- Xie, C., and G. Vallad. 2010. Integrated Management of Southern Blight in Vegetable Production. University of Florida, Wimauma, FL 33598 p.
- Yang, M. M., Xu, L. P., Xue, Q. Y., Yang, J. H., Xu, Q., Liu, H. X., and Guo, J. H. 2012. Screening potential bacterial biocontrol agents towards *Phytophthora capsici* in pepper. Eur J Plant Pathol. 134:811-820.
- Zembek, P., Perlińska, L. U., Kurt, B., Reithner, B., Palamarczyk, G., Mach, R. L., and Kruszewska, J. S. 2011. Elevated Activity of Dolichyl Phosphate Mannose Synthase Enhances Biocontrol Abilities of *Trichoderma atroviride*. MPMI. The American Phytopathological Society 24(12):1522-1529.
- Zitter, T. A., Hopkins, D. L., and Thomas, C. E. 2004. Plagas y enfermedades de las *cucurbitaceas*. The American Phytopathological Society. Ediciones Mundi Prensa. 88 p.



CAPÍTULO II. IDENTIFICACIÓN MORFOLÓGICA Y MOLECULAR DE HONGOS FITOPATÓGENOS INVOLUCRADOS EN LA PUDRICIÓN DE FRUTOS DE CALABAZA PIPIANA *Cucurbita argyrosperma* Huber Y CEPAS NATIVAS DE *Trichoderma*

1. INTRODUCCIÓN

La calabaza pipiana (*C. argyrosperma*) es un cultivo importante en varias regiones del estado de Guerrero, que es el principal productor de semilla a nivel nacional; además, el precio por tonelada ha aumentado significativamente, lo que ha propiciado que tienda a incrementarse la superficie sembrada en la entidad (Ayvar *et al.*, 2007). No obstante, en algunas zonas se cultiva esta cucurbitácea, en suelos planos, pesados y mal drenados, que se conjuntan con el hábito de crecimiento rastrero e indeterminado del cultivo, para generar un microclima con condiciones óptimas para el ataque de hongos fitopatógenos habitantes del suelo, entre los que se tienen a *Fusarium*, *Macrophomina*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium*, entre otros; los cuales sólo se han identificado a nivel género y, en algunos casos también la especie (García, 2005; SAGARPA, 2012). Se ha observado que los frutos de calabaza pipiana son susceptibles a sufrir pudriciones por estos patógenos en diferentes estados de desarrollo, y los daños afectan directamente el rendimiento de semilla y la rentabilidad del cultivo (Díaz, 2011). A pesar de que la identificación y taxonomía de hongos tiene muchos años de realizarse usando criterios que incluyen tanto características de su estructura básica (morfología), y ciertos patrones de reproducción sexual (Wantanabe, 2002; Leslie y Summerell, 2006; Biswas *et al.*, 2012), todavía hoy en día existen dificultades para lograr una acertada identificación, porque existen especies muy similares a pesar de estar consideradas en grupos taxonómicos diferentes. La Biología molecular ha venido a corroborar la identidad de organismos en general y de hongos en particular, debido a que se basa en el análisis del genoma, y éste no es influenciado por el ambiente. El principal argumento en favor de la utilización de caracteres moleculares, es que éstos son universales. En muchos casos, principalmente cuando se requiere comparar linajes con divergencia temprana, es imposible establecer hipótesis de homología morfológica; en cambio, existen genes presentes en todos los genomas celulares como los ribosomales, que pueden proveer de información para reconstrucciones filogenéticas, donde los caracteres morfológicos son inaplicables. En los estudios morfológicos, los caracteres deben ser descubiertos y delimitados generalmente sin ningún criterio explícito para la selección o la codificación del carácter, por lo que tienen el riesgo de ser arbitrarios. Por todo lo mencionado anteriormente, resulta oportuna la identificación rápida y confiable de hongos mediante



técnicas moleculares, en contraste con la limitación que se tiene cuando se utilizan los caracteres morfológicos para diferenciar hongos estrechamente relacionados, así como la laboriosidad requerida en su estudio y, en algunos casos, la insuficiente resolución que proporcionan a nivel taxonómico. Hasta el momento, se han usado numerosas técnicas moleculares para el estudio taxonómico de los hongos, desde las clásicas técnicas de DNA, basadas en la determinación del contenido guanina/citosina del DNA nuclear hasta la hibridación DNA-DNA, para establecer la identidad o no de cepas morfológicamente similares. El estudio de hongos fitopatógenos mediante técnicas moleculares se ha convertido en una herramienta útil para la diferenciación de hongos estrechamente relacionados, que no se pueden clasificar taxonómicamente con base en sus caracteres morfológicos (Babu *et al.*, 2007; Le *et al.*, 2012; Salari *et al.*, 2012). La reacción en cadena de la polimerasa (PCR, por sus siglas en inglés), desde su primera descripción por Kar y Mullis en 1983, ha tenido un efecto importante en muchos de los campos de investigación de la Biología. La primera vez que se utilizó este tipo de análisis en micología, consistió en la amplificación y secuenciación del rDNA, estableciéndose relaciones filogenéticas de hongos (Bálbas, 2002; Riethmüller *et al.*, 2002; Voglmayr y Riethmüller, 2006).

2. OBJETIVO

En el cultivo de calabaza pipiana, no existen reportes suficientes sobre los agentes causales de la pudrición de frutos, lo cual motivó a la realización del presente trabajo, para generar información, planteando el siguiente objetivo:

- Realizar el diagnóstico de los agentes causales de la pudrición de frutos de calabaza pipiana y de dos cepas nativas de *Trichoderma*, mediante su identificación morfológica y molecular.



3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Área de muestreo y material vegetal

En agosto del año 2011 se recolectaron frutos de *C. argyrosperma*, con síntomas de pudrición (Figura 2.1) en dos predios bajo condiciones de temporal, el primer predio se ubica en el campo experimental del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, localizado en la zona norte del estado de Guerrero, en el municipio de Cocula, Gro (Figura 2.2), y ubicado geográficamente a 18° 19' N, 99° 39' O del meridiano de Greenwich, a una altitud de 640 msnm. Presenta suelos planos, en esta región predomina el clima tipo Awo (w) (i') g, que es el más seco de los cálidos semihúmedos. La precipitación media anual es de 797 mm; las lluvias más frecuentes se presentan en los meses de junio a septiembre. La temperatura media anual varía de 22 a 29 °C; los meses más cálidos son abril y mayo, con 40 °C o más; la mínima es de 10 °C o menor; la topografía regional es uniforme, sin pedregosidad, y con mínima erosión. El suelo de la región es el chernozem o negro con textura arcillo-arenosa o franco-arcillosa, con drenaje medio y poca materia orgánica (1.7 %), pH de 7.6 a 7.9. (Gobierno del Estado de Guerrero, 2012; García, 2005; Martínez *et al.*, 2011). El segundo predio pertenece a la zona centro del Estado de Guerrero en el municipio de Chilapa de Álvarez, Gro (Figura 2), ubicado geográficamente entre los paralelos 17° 17' 40" y 17° 40' 55" de latitud norte, y los 98° 53' 44" y 99° 17' 11" de longitud oeste, con una altitud de 1420 msnm. Los suelos predominantes están clasificados como podzol o podzólicos, que son utilizados para la ganadería; y los chernozem o negros, aptos para la agricultura con ligeras pendientes. Presenta un clima cálido subhúmedo, el semicálido subhúmedo y templado subhúmedo. La temperatura promedio es de 32 °C, con una precipitación pluvial que oscila entre los 900 y 1400 mm. El periodo de lluvias es de mayo a septiembre (Gobierno del Estado de Guerrero, 2012; García, 2005).



Figura 2.1. Frutos con síntomas de pudrición.

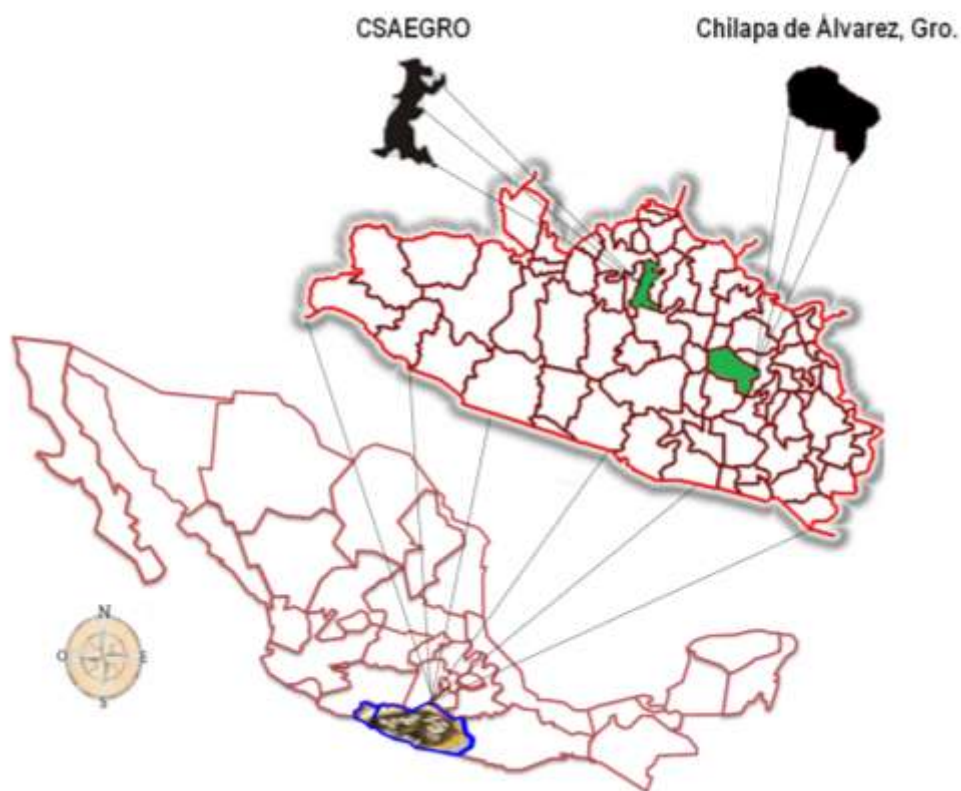


Figura 2.2. Localización de los sitios de colecta.

De los frutos de calabaza con síntomas y signos de pudrición, colectados en los dos predios mencionados, por predio de colecta, se tomaron porciones de tejido de 1 cm² con partes sana y enferma, se lavaron con



agua destilada y se desinfectaron por inmersión en una solución de hipoclorito de sodio al 1.5%, se enjuagaron con agua destilada estéril durante 3 minutos, posteriormente se colocaron en cajas Petri conteniendo medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA) y jugo de verduras Agar (V8-Agar), elaborados según Singleton *et al.* (1992). Después de cinco días de incubación a temperatura ambiente en el laboratorio, se observó el crecimiento micelial, el cual se purificó por punta de hifa en nuevas cajas Petri en los dos medios de cultivo. La obtención de colonias purificadas (monoconidiales, monoascospóricas y monozoosporicas), se logró mediante la incubación de los aislamientos fungosos a temperatura ambiente, hasta que formaran estructuras sexuales o asexuales y/o cuerpos fructíferos típicos de cada hongo para su identificación morfológica.

3.2 Identificación morfológica

De los cultivos puros obtenidos, se realizaron preparaciones en lactofenol y se observaron al microscopio compuesto; para la identificación de las especies se utilizaron las claves taxonómicas de Barnett y Hunter (1998), Leslie y Summerell (2006), Sneh *et al.* (1991) y Wantanabe (2002).

3.3 Identificación molecular

3.3.1 Extracción de DNA

De cada hongo purificado e incubado durante 15 días en medio de cultivo PDA y V8-Agar, con una asa bacteriológica, se transfirieron de 50 a 100 mg de micelio, a un tubo Eppendorf, se adicionaron 400 µL de Buffer AP1 y 4 µL de RNasa, se agitó en vortex, se incubaron las muestras en baño maría por 10 min a 65 °C, agitando por inversión 2 ó 3 veces; se adicionaron 130 µL de Buffer AP2 y se mantuvieron 5 min en hielo. La mezcla se colocó en la columna QIAshredder Mini spin y se centrifugó por 2 min a 14,000 rpm. Se transfirió el líquido que pasó por la columna a un nuevo tubo Eppendorf, al que se le adicionaron 1.5 volúmenes del buffer AP3/E; se colocó en una columna DNeasy Mini spin, se centrifugó por 1 min a 8 000 rpm, se pasó a un nuevo tubo, se agregaron 500 µL del buffer AW; se centrifugó por 1 min a 8 000 rpm, se agregaron otros 500 µL del buffer AW y se centrifugó por 2 min a 14, 000 rpm, con el propósito de lavar al ADN; finalmente, se transfirió la columna DNeasy Mini spin a un tubo nuevo, se pusieron 100 µL de buffer AE del DNeasy para la elución, se incubó por 5 min a temperatura ambiente y se centrifugó por 1 min a 8,000 rpm (Qiagen, 2012).



3.3.2 PCR y secuenciación

Para las reacciones de PCR se utilizó el ADN de 5 muestras de micelio aislamientos purificados a partir de los frutos de *C. argyrosperma* infectados. Se realizaron reacciones de PCR universal para hongos con los oligos ITS-1fu 5'-tccgtaggtgaacctgcgg-3' y ITS-4 5'-tcctccgcttattgatatgc-3' (White *et al.*, 1990); los cuales amplifican un espaciador intergénico interno (ITS) y generan un producto de talla variable entre 500 y 900 pares de bases (pb) aproximadamente. Esta práctica se realizó con una mezcla de reacción en un volumen final de 25 μ L, cuyos componentes fueron: amortiguador de reacción 5X, $MgCl_2$ 2 mM, dNTP's 200 nM, 20 pmoles de cada oligonucleótido y 1 unidad de *Taq* DNA polimerasa (Promega). El protocolo consistió en mantener una temperatura a 94°C durante 2 min, seguido de 35 ciclos a 94-55-72 °C durante 30-30-60 seg y una extensión final de 5 min a 72 °C. Los productos de las reacciones de PCR fueron separados por electroforesis en geles de agarosa a 1.5 %, y las bandas se observaron en un transiluminador de luz ultravioleta marca UVP y se tomaron fotografías. Los fragmentos amplificados por PCR fueron secuenciados directamente y se compararon los resultados con las secuencias disponibles en el banco de genes (Gen Bank) del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) del Instituto Nacional de Salud (NIH) de E.E.U.U. (Qiagen, 2012).

3.4 Obtención de especies nativas de *Trichoderma* spp.

3.4.1 Colecta de muestra de suelo

En cada sitio de estudio se obtuvieron cinco muestras de 1 kg de suelo bajo el método “cinco de oros”, las cuales se mezclaron y homogenizaron para tomar una submuestra representativa de 1 kg. En cada cepa, se eliminó la materia orgánica superficial y los primeros 4 cm de suelo, y se colectó suelo de una capa de 20 cm de profundidad, se transportó en bolsas de plástico al laboratorio de fitopatología del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, en donde se mantuvo en refrigeración a 10 °C, hasta el momento de su procesamiento.

3.4.2 Aislamiento e identificación de *Trichoderma* spp.

Los aislados de *Trichoderma* spp. se obtuvieron mediante el método de dilución de esporas en caja Petri; para esto, de cada muestra compuesta, se utilizó 1 g de suelo diluido en 10 mL (proporción 1/10 p/v) de agua destilada estéril hasta obtener diluciones 1/100 y 1/1000, de las cuales se tomaron alícuotas de 0.5 mL y se distribuyeron homogéneamente sobre la superficie de medio de cultivo PDA en cajas Petri; éstas



se incubaron a temperatura ambiente por 10 días. Se utilizaron en total 10 cajas Petri por cada muestra compuesta de suelo. Las colonias de *Trichoderma* spp. se reconocieron por su forma de crecimiento en parches verdes y formación de anillos concéntricos. De cada aislado se realizó la purificación por medio de cultivos monospóricos. Para identificarlas morfológicamente se utilizaron las claves propuestas por Barnett y Hunter (1998) y Wantanabe (2002).

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

4.1 Identificación morfológica de hongos fitopatógenos

Las colonias de las cepas aisladas mostraron características culturales diferentes en cuanto a pigmentaciones y crecimiento micelial; se obtuvieron colonias blanco algodonosas y otras con micelio castaño (Figura 2.3). La identificación se logró hasta nivel de especie en los cinco hongos estudiados (Cuadro 2.1). Todos éstos inoculados en frutos sanos de calabaza pipiana y mantenidos en invernadero, permitieron comprobar los postulados de Koch.



Figura 2.3. Crecimiento y características de las diferentes colonias de los hongos aislados de frutos de calabaza pipiana.



Cuadro 2.1. Hongos patógenos aislados e identificados de frutos de calabaza pipiana.

Muestra	Identificación morfológica	Referencias
1	<i>Macrophomina phaseolina</i>	Barnnett y Hunter (1998), Wantanabe (2002)
2	<i>Phytophthora capsici</i>	Waterhouse (1970), Singleton <i>et al.</i> (1992), Mendoza (1993), Wantanabe (2002)
3	<i>Rhizoctonia solani</i>	Sneh <i>et al.</i> (1991), Barnnett y Hunter (1998), Wantanabe (2002)
4	<i>Sclerotium rolfsii</i>	Barnnett y Hunter (1998), Wantanabe (2002)
5	<i>Fusarium solani</i>	Mendoza (1993), Barnnett y Hunter (1998), Wantanabe (2002), Leslie y Summerell (2006),

Macrophomina phaseolina

El agente causal se identificó como *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. El hongo en medio de cultivo PDA, forma hifas hialinas que se oscurecen con el tiempo; así como picnidios negros más o menos esféricos, muy similares en tamaño, forma y color, a los microesclerocios. Los conidios son unicelulares, hialinos y elipsoidales a oviodes. Los microesclerocios son pequeños, globosos, de color negro (Figura 2.4) y muy numerosos, por lo que confieren a la colonia un color negro-grisáceo, a través del tiempo.

Cohen *et al.* (2007) y Zitter *et al.* (2004) citan que *M. phaseolina* es el nombre aceptado del hongo con incidencia en cucurbitáceas; debido a que no se han observado estructuras sexuales reproductoras, la especie sólo existe aparentemente como micelio vegetativo, microesclerocios y picnidios. Dentro de la especie hay una considerable variación en virulencia, biosíntesis de pigmentos y producción conidial. Los microesclerocios varían en tamaño y forma; ésta puede ser esférica, oblonga, oval, elíptica o incluso ahorquillada. Las hifas jóvenes son hialinas y se oscurecen con la edad. Los picnidios son estructuras negras más o menos esféricas y parecidas a los microesclerocios en tamaño, forma y color; están casi totalmente incrustados en el tejido hospedante. Los conidios unicelulares son hialinos y de formas elipsoidales a oviodes; todas estas características son reportadas por Beas *et al.* (2004), y Ma *et al.* (2010).

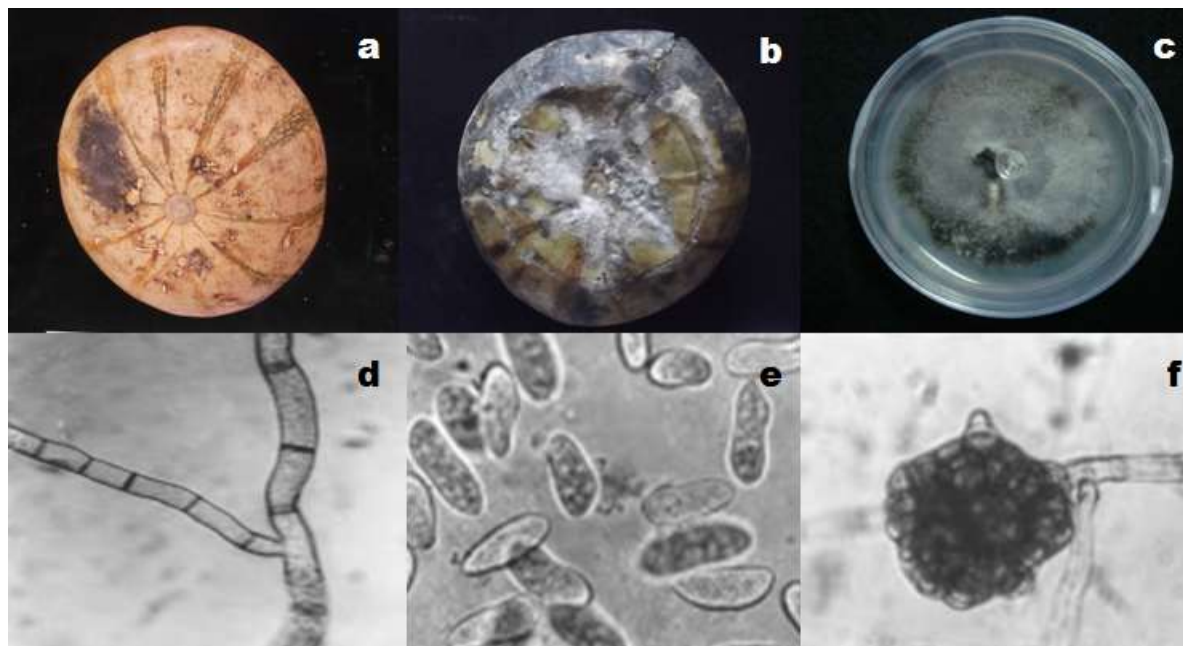


Figura 2.4. *M. phaseolina*. a) Fruto inoculado con síntomas iniciales, b) Fruto con signos de *M. phaseolina*, c) *M. phaseolina* creciendo en medio PDA, d), e) y f) Micelio, conidios y microesclerocio.

Phytophthora capsici

Después de 6-8 días en medio de cultivo V8-agar, el oomiceto reaislado de frutos inoculados que manifestaron síntomas; produjo una colonia con micelio liso, crecimiento algodonoso, con esporangios en simpodio simple, ovoides, elongados, elípticos, limoniformes, con una o dos papilas bien desarrolladas, así como oogonios esféricos, terminales anteridios claviformes, terminales anfíginos (Figura 2.5). Estas características morfológicas son similares a las descritas para *P. capsici*, por Singleton *et al.* (1992); Mendoza (1993) y Wantanabe (2002).

Este oomiceto se reporta en cucurbitáceas (Tian y Babadoost, 2004; Islam *et al.*, 2005; Granke *et al.*, 2009); causa pérdidas de hasta el 50%. Las oosporas son las únicas fuentes de inóculo primario y sobreviven en el suelo más de 2 años en ausencia del hospedante. El micelio es una fuente importante de inóculo secundario. En la semilla el hongo forma micelio y no sobrevive por más de un mes. Las condiciones ambientales que favorecen el desarrollo de la enfermedad son la alta humedad del suelo y temperaturas frescas. La etapa de fructificación de este cultivo coincide con mucha incidencia de lluvia. Los esporangios formados en las raíces, tallos y frutos de las plantas infectadas, liberan zoosporas, que son



dispersadas a través del riego o por el agua de superficie (Mendoza, 1996; Tian y Babadoost, 2004; Zitter *et al.*, 2004).

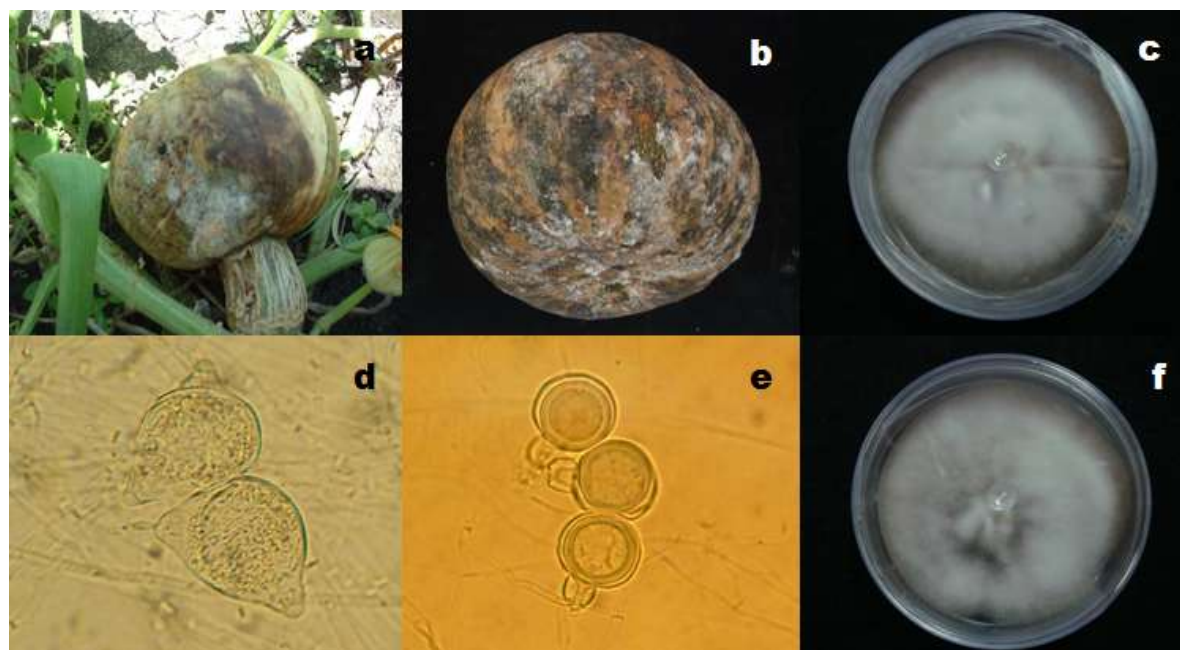


Figura 2.5. *Phytophthora capsici*. a) Fruto con síntomas en campo, b) Fruto inoculado con *P. capsici*, c) y f) *P. capsici* creciendo en medio de cultivo V8-Agar, d) Esporangios bipapilados, e) Oogonios y anteridios.

Rhizoctonia solani

Se aisló un hongo que mostró las características culturales siguientes: colonias con pigmentación café claro, micelio color canela o castaño oscuro, hifas gruesas con finas ramificaciones en ángulo recto, constricción en el punto de origen de la ramificación, formación de una septa cerca del origen de la rama y un septo tipo doliporo. El micelio tiene distribución uniforme sobre la superficie del sustrato y, algunas veces, agregado en cordones miceliales productores de esclerocio (Figura 2.6); estas características coinciden con las citadas para *R. solani*, por Mendoza (1993), Barnett y Hunter (1998), y Wantanabe (2002). El estado perfecto de este hongo es *Thanatephorus cucumeris* (Stevens y Jones, 2001; Zitter *et al.*, 2004). Se ha reportado a *R. solani* atacando la mayoría de las partes de la planta de cucurbitáceas cultivadas; por lo general, causa grandes daños en zonas cálidas (raíz, fruto) (Mendoza, 1996; Aegerter *et al.*, 2000; Zitter *et al.*, 2004).

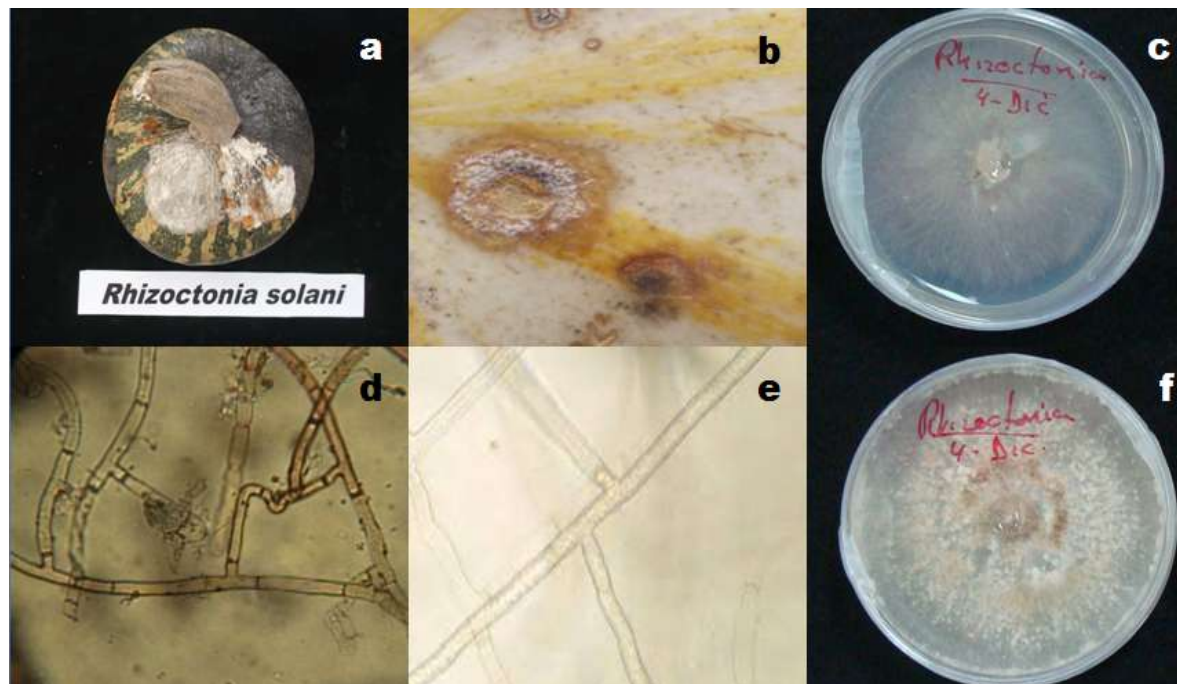


Figura 2.6. *Rhizoctonia solani*. a) y b) Frutos inoculados con signos de la enfermedad, c) y f) *R. solani* creciendo en medio de cultivo PDA, d) y e) Micelio.

Sclerotium rolfsii

Lo más característico de *S. rolfsii* es la formación de abundante micelio aéreo blanco y la producción de esclerocios como estructura de supervivencia. El crecimiento miceliar es rápido; una colonia en medio de cultivo PDA, es capaz de alcanzar los 9 cm de diámetro en 3-4 días de incubación a 25°C, con la formación de abundante micelio aéreo. Se observaron hifas hialinas, con pared celular delgada, formación de septos y un gran número de ramificaciones. Varios autores citan que esto ha dado lugar a que se diferencien tres tipos de estructuras hifales (Punja y Sun, 2001; Le *et al.*, 2012). Estas características coinciden con trabajos realizados que describen a *S. rolfsii* de la siguiente forma: Las hifas primarias o principales son de mayor diámetro (4.5-8 μm), con conexiones en argolla que dan lugar a las secundarias y terciarias, de menor diámetro (2-4.5 μm) y, que además, pueden anastomosar entre ellas (Punja y Grogan, 1983; Punja y Damiani, 1996; Punja y Sun, 2001) (Figura 2.7). Los esclerocios tienden a ser esféricos (0.5-2 mm), formados lateralmente en hifas principales y, cuando maduran, están constituidos por estas capas: una corteza exterior melanizada de dos a cuatro células de espesor, un córtex intermedio de seis a ocho células de espesor y una médula interior compuesta de hifas estrechamente entrelazadas entre sí con color blanquecina en su formación y de color parduzco una vez maduraz (Punja y Damiani, 1996; Punja y Sun, 2001).



En el estado sexual o teleomorfo de *A. rolfsii*, se forman basidios libres sin la protección que en otros basidiomicetos confiere el himenio; son ovalados y forman cuatro basidiosporas haploides en los extremos de los esterigmas. El desarrollo de la enfermedad es favorecida por climas cálidos y húmedos; en donde este hongo infecta sólo al fruto que está en contacto con el suelo; en el cual, casi siempre, produce esclerocios y micelio blanco algodonoso tipo nido (Figura 2.7) (Punja y Sun, 2001; Zitter *et al.*, 2004; Le *et al.*, 2012).

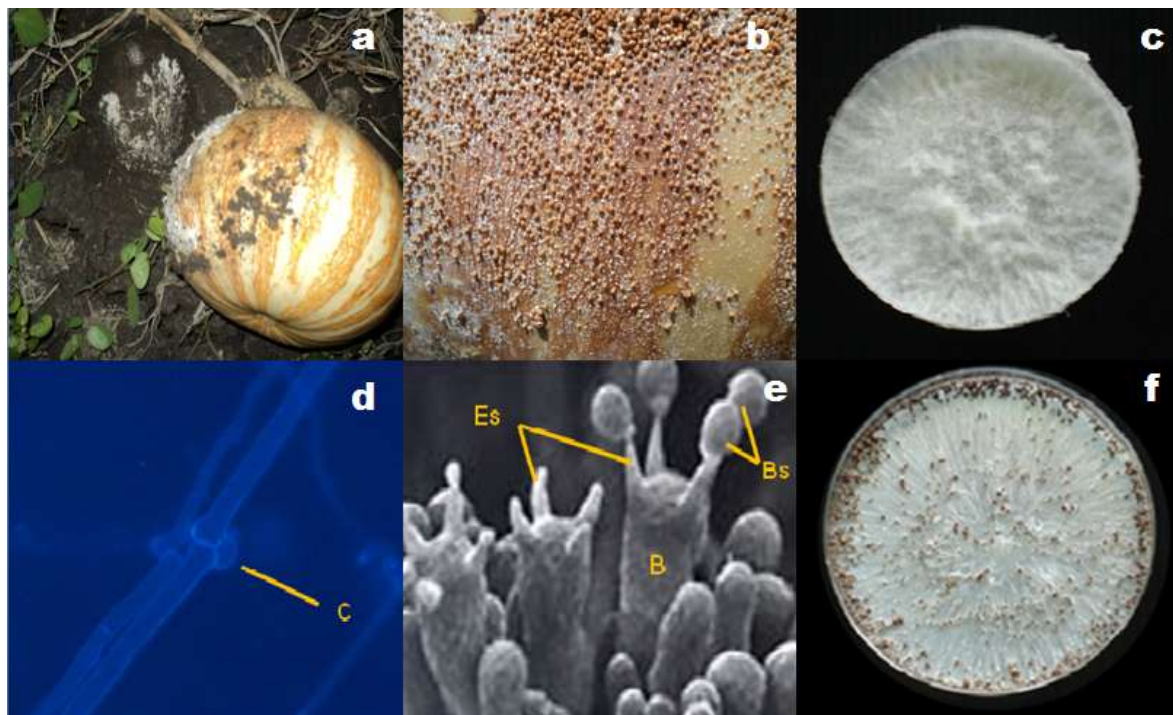


Figura 2.7. *Sclerotium rolfsii*. a) Fruto de calabaza pipiana en campo dañado infectado por *S. rolfsii*, b) esclerocios en campo, c) y f) *S. rolfsii* en medio de cultivo PDA, d) conexión en argolla en hifas primarias, e) Estructuras basidiales de *A. rolfsii*.

Fusarium solani

La cepa mostró una tasa de crecimiento lenta, con colonias decoloraciones rosa, rojiza, blanca algodonoso y arrosada; las cuales presentaron microconidios pequeños, hialinos y elípticos en falsas cabezas; son abundantes y ovoides, pueden tener una división; se producen en monofialides alagadas y finas, que nacen lateralmente de la hifa y, a veces, son ramificadas; se afilan en el ápice y presentan collaretes poco definidos. Además, macroconidios hialinos, alargados, ligeramente puntiagudos, de tipo C, forma elipsoidal, lisos, de tamaños medio a robusto, con células apicales y basales aplanadas; tiene de dos a tres septas, se forman en menor cantidad que los microconidios y nacen de conidióforos cortos y ramificados que



frecuentemente forman esporodoquios (Figura 2.8). La célula apical es corta y redondeada, la basal redondeada o claramente con forma de pie. Las clamidosporas son frecuentes, con una pared lisa o rugosa. Se observan aisladas o en parejas, terminales o intercalares. Todas las descripciones corresponden a las características reportadas para *F. solani* (Boughalleb *et al.*, 2005; Leslie y Summerell, 2006; Mehl y Epstein, 2007).

Se ha reportado la incidencia de *F. solani* en diferentes especies de cucurbitáceas cultivadas en el mundo, causando podredumbre de la corona y lesiones en frutos (Elmer, 1996). Se han registrado alrededor de diez especies de *Fusarium* en *Cucurbita* spp., asociadas principalmente a daños en frutos y marchitamientos (Elmer, 1996; Zitter *et al.*, 2004). El hongo se identificó por primera vez en tallos y frutos de cucurbitáceas en Estados Unidos, en California, en 1938, causando pudrición del cuello y fruto (Elmer *et al.*, 2007); presenta especificidad en cucurbitáceas con su forma especial *F. solani* f. sp. *cucurbitae* y cuenta con las razas 1 que afecta a la corona y tallos y la 2, sólo a frutos (Zitter *et al.*, 2004; Elmer *et al.*, 2007; Zhang *et al.*, 2007).

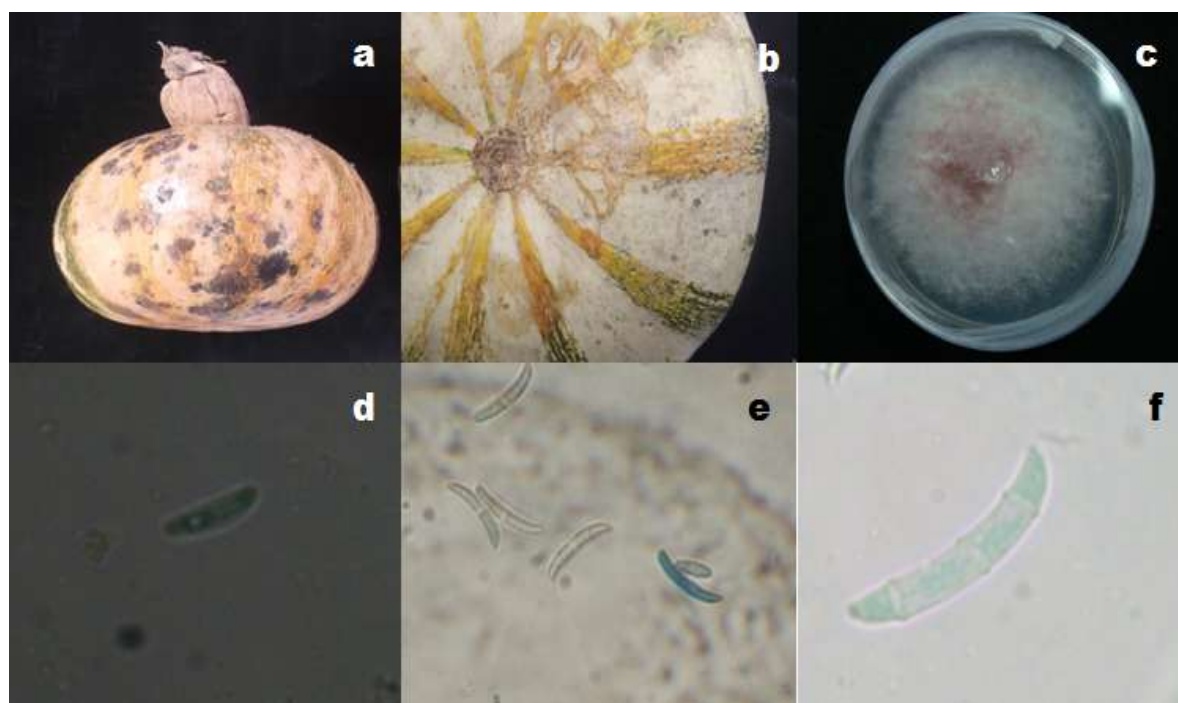


Figura 2.8. *Fusarium solani*. a) y b) Frutos inoculados con *F. solani*, c) *F. solani* en medio de cultivo PDA, d) Microconidio, e) Macro y microconidio, f) Macroconidio.



4.2 Identificación molecular

Se logró la amplificación del ADN de la región ITS en las 5 muestras de hongos asiladas a partir de frutos podridos. Estos primers son universales y se utilizan para amplificar la región ITS de todos los hongos. Se obtuvieron productos de talla variable para cada una de las muestras, entre 523 y 859 pb, aproximadamente (Figura 2.9).

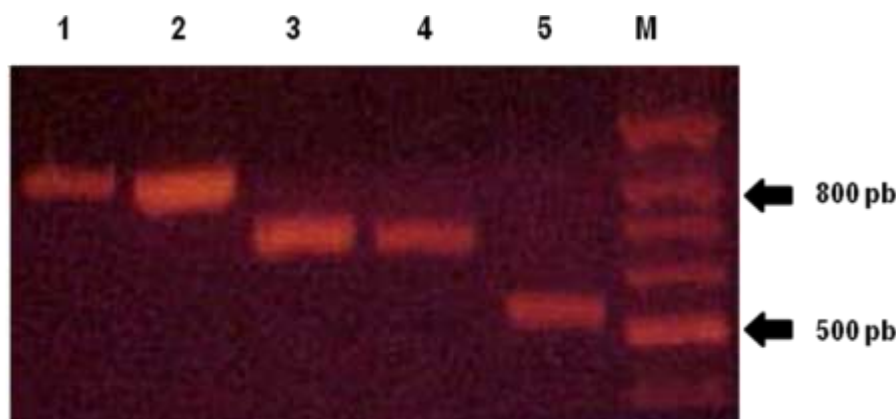


Figura 2.9. Amplificación por PCR a partir de ADN's aislados de micelio de hongos de frutos de *C. argyrosperma*: 1. *Macrophomina phaseolina*, 2. *Phytophthora capsici*, 3. *Rhizoctonia solani*, 4. *Sclerotium rolfsii* y 5. *Fusarium* spp. Los productos de amplificación obtenidos de los carriles 1 al 5 fueron: 859, 786, 700, 666 y 523 pb. M es el marcador de peso molecular ladder-100 de Axygen.

La secuenciación de los productos obtenidos se comparó con aquellas del Gen Bank (Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2. Identificación morfológica y molecular por PCR-ITS de genes ribosomales de 5 hongos aislados de frutos de calabaza pipiana (*C. argyrosperma*) basada en la comparación de sus secuencias con la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI: www.ncbi.nlm.nih.gov/).

Identificación morfológica	Identificación molecular	Índice de similitud (%)	Secuencia con mayor similitud
<i>Macrophomina phaseolina</i>	<i>Macrophomina phaseolina</i>	99	gb KC202823.1
<i>Phytophthora capsici</i>	<i>Phytophthora capsici</i>	95	gb KC311834.1
<i>Rhizoctonia solani</i>	<i>Rhizoctonia solani</i>	99	gb JX050241.1
<i>Sclerotium rolfsii</i>	<i>Athelia rolfsii</i>	99	gb KC894858.1
<i>Fusarium solani</i>	<i>Fusarium sacchari</i>	99	emb HE647912.1



M. phaseolina es uno de los patógenos más dañinos transmitido por el suelo; infecta alrededor de 500 especies de plantas en más de 100 familias en todo el mundo (Srivastava y Singh, 1990; Ma *et al.*, 2010; Salari *et al.*, 2012). La identificación de los aislamientos de *M. phaseolina* generalmente se basa en criterios morfológicos, que a menudo no son fiables por las amplias variaciones en el fenotipo de ellos (Babu *et al.*, 2007); no obstante, se ha mostrado recientemente que los métodos moleculares que implican el uso de la PCR son eficientes para resolver la variación genética de este hongo (Jana *et al.*, 2005a, Jana *et al.*, 2005b; Purkayastha *et al.*, 2006); el cual se ha encontrado causando daños severos en varias cucurbitáceas (Zitter *et al.*, 2004; Cohen *et al.*, 2007; Salari *et al.*, 2012). Por lo tanto, es importante y necesario un diagnóstico rápido, tanto *in vitro* como *in situ* que contribuya a identificarlo con exactitud. Los RDNA nucleares, en particular el espaciador interno transcrito (ITS), son útiles para el análisis filogenético y la detección selectiva de hongos de importancia agrícola (Irina *et al.*, 2005; Bagyalakshmi *et al.*, 2008; Biswas *et al.*, 2012).

Se han realizado estudios de morfología y variaciones genéticas para diferenciar distintos grupos virulentos de aislamientos de *P. capsici* obtenidos de calabaza *Cucurbita moschata* Duchesne ex Lam. Britt (Islam *et al.*, 2005; Tian y Babadoost, 2004; Quesada *et al.*, 2011); en esta cucurbitácea se ha logrado la identificación del hongo, por PCR utilizando PCAP, como cebador específico y el primer ITS1', de acuerdo al método desarrollado por Ristiano *et al.* (1998), que permite ampliar un producto de aproximadamente 172 pb de DNA ribosómico de *P. capsici*. Algunas investigaciones muestran el desarrollo de estrategias efectivas para el manejo de *P. capsici* en base a su virulencia, basadas en pruebas moleculares, que sugieren se prueben en cucurbitáceas (Lamour *et al.*, 2001; Lee *et al.*, 2001).

En cucurbitáceas *R. solani* causa daños severos, por pudriciones de raíz y frutos que están en contacto con el suelo, especialmente en condiciones climáticas favorables (Blancard *et al.*, 1991; Michereff *et al.*, 2008; Salari *et al.*, 2012). La detección precoz, rápida y fiable permite prevenir y combatir más eficientemente la enfermedad. La identificación del hongo por el método de PCR es rápido y facilita clasificarlo en base a su virulencia en los distintos hospedantes (Carling *et al.*, 2002; Paulitz *et al.*, 2006; Okubara *et al.*, 2008). El patógeno se puede detectar en tejidos infectados antes del que se formen micelio y esclerocios y de que aparezcan los síntomas de la enfermedad (Johanson *et al.*, 1998). Otra ventaja es de que el PCR en tiempo real, se puede utilizar para realizar el diagnóstico *in situ* utilizando máquinas portátiles (Schaad *et al.*, 2002).



Franke *et al.* (1998) reportan que las investigaciones moleculares revelan que existen ligeras variaciones genéticas de aislamientos de *S. rolfsii* obtenidos de un mismo campo. Las características fenotípicas de micelio y esclerocios se han estudiado molecularmente para determinar la diversidad genética y los grupos espaciadores transcritos internos de ADN ribosomal, a los que pertenecen, para diferenciarlos, debido a que la mayoría de las cepas tienen el típico micelio blanco y sedoso, con crecimiento redondo o irregular, y esclerocios de color marrón oscuro (Praveen *et al.*, 2011; Le *et al.*, 2012). Se han utilizado varias técnicas moleculares para revelar la variación inter e intraespecífica en poblaciones del patógeno, y se han obtenido resultados contradictorios. Así, el análisis del polimorfismo en la longitud de los fragmentos de restricción (RFLPs) de la región transcrita espaciadora interna (ITS) del ADN ribosómico nuclear (ADNr), ha indicado que los aislamientos de un mismo grupo, pueden presentar distintos perfiles RFLP-ITS, a la vez que éstos podían también ser comunes para diferentes grupos de compatibilidad miceliar (GCMs) (Harlton *et al.*, 1995; Okabe *et al.*, 1998). Sin embargo, Nalim *et al.* (1995) mostraron que los aislamientos pertenecientes a un GCM, tenían idénticos perfiles RFLP-ITS para la enzima *MboI*, sugiriendo que dichos GCMs eran de origen clonal. Además, observaron que varios GCMs compartían los mismos perfiles RFLP-ITS. Contradicciones similares en cuanto a la posible correlación entre los GCMs y las líneas clonales delimitadas mediante marcadores moleculares, se han observado mediante análisis del polimorfismo en la longitud de los fragmentos amplificados (AFLPs) o de los polimorfismos de ADN amplificados por iniciadores simples aleatorios (RAPD) (Cilliers *et al.*, 2000; Almeida *et al.*, 2001).

Las diferencias en las secuencias de ADN de los genes se han utilizado para apoyar la identificación morfológica de las especies de *Fusarium*. El análisis filogenético de las secuencias de ADN se ha empleado para distinguir y evaluar la relación genética entre las especies de este género estrechamente relacionadas (Yli *et al.*, 2002; Knutsen *et al.*, 2004; Jurjevic *et al.*, 2005; Morales *et al.*, 2007; Wulff *et al.*, 2010; Harrow *et al.*, 2010). Las relaciones filogenéticas de *Gibberella fujikuroi* Sawada y el complejo de especies que agrupa, se han estudiado por medio de PCR y secuenciación (O'Donnell *et al.*, 2000; Hsuan *et al.*, 2011).

Las especies *F. sacchari*, *F. subglutinans*, entre otras, forman parte del complejo de especies de *G. fujikuroi*, que se han reportado causando daño en frutos de calabaza (Ploetz, 2006; Elmer *et al.*, 2007; Otero *et al.*, 2010); y se encuentran entre los agentes causales de enfermedades más comunes reportados en los cultivos agrícolas en todo el mundo (Marasas *et al.*, 2006; Mohd *et al.*, 2008; Siti *et al.*, 2008). En estudios relacionados con filogenia molecular, se ha reportado a *F. subglutinans* en México infectando a



mango y maíz (Steenkamp *et al.*, 2000; Britz *et al.*, 2002); además, se reporta en otras gramíneas en zonas tropicales (Manshor *et al.*, 2012).

4.3 Identificación de *Trichoderma* spp.

De las dos muestras de suelo indicadas, se obtuvieron cepas nativas de *Trichoderma* spp., las cuales se identificaron a nivel de género, tomando en cuenta las características morfológicas de: conidios hialinos, unicelulares, ovoides, nacidos en pequeños racimos terminales (Barnett y Hunter, 1998; Wantanabe, 2002; Guigón *et al.*, 2010); aunque también presenta conidios globosos o subglobosos, elipsoidales, ovoides u oblongos, de color verde oscuro o verde olivo. Las dos cepas aisladas pertenecieron a la especie *Trichoderma asperellum* Samuels, las cuales se muestran en el Cuadro 2.3 y Figura 2.10. La identidad de la especie mencionada, se confirmó con la identificación molecular mediante la comparación de las secuencias obtenidas, con las secuencias reportadas en el banco de genes del NCBI (National Center for Biotechnology Information; www.ncbi.nih.gov).

Los aislamientos identificados como la especie *T. asperellum* presentaron las características morfológicas siguientes: conidióforo hialino muy ramificado no verticiliado, fiálides individuales o en grupos, con dimensiones de $4.6-6.1 \times 2.3-3.7 \mu$ de largo por ancho; conidios de una célula, ovoides, subglobosos y elipsoidales nacidos en pequeños racimos terminales de colores verdes fuerte y olivo, el largo y ancho del conidio osciló entre los $3.9 \mu \times 2.05 \mu$; presentan clamidosporas intercalares, terminales o solitarias, verdes, miden entre $7.5-8.8$ y $7.4-2.8 \mu$ de largo por ancho; la distancia entre septos es de 15 a 21μ .

Se logró la amplificación del ADN de la región ITS en las dos cepas de *T. asperellum* utilizadas en el control biológico, y aisladas a partir de muestras de suelo de dos regiones diferentes del estado de Guerrero (CSAEGro y Chilapa de Álvarez). Se utilizaron primers universales para amplificar la región ITS de todos los hongos. Se obtuvieron productos de talla variable para cada una de las muestras (Figura 2.10). El producto obtenido de la secuenciación se comparó en el Gen Bank y se identificaron como *T. asperellum* (Cuadro 2.3).

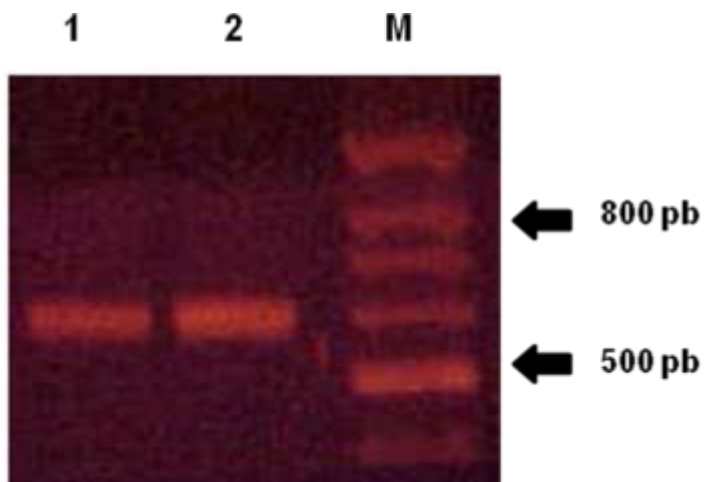


Figura 2.10. Amplificación por PCR a partir de ADN's de micelio de *Trichoderma* aislados de suelo: 1. *Trichoderma* aislado del sitio CSAEGRO, 2. *Trichoderma* aislado del sitio Chilapa de Álvarez. Los productos de amplificación obtenidos de los carriles 1 al 2 fueron: 589 y 586 pb. M es el marcador de peso molecular ladder-100 de Axygen.

Cuadro 2.3. Comparación de la secuencia de las cepas de *Trichoderma* de cada sitio de cultivo.

Cepas	Especie	Comparación de la secuencia con el Gen Bank
CSAEGRO	<i>T. asperellum</i>	gb HQ293149.1 <i>Trichoderma asperellum</i> strain BHU216
CHILAPA	<i>T. asperellum</i>	gb JN618341.1 <i>Trichoderma asperellum</i> strain BHU265

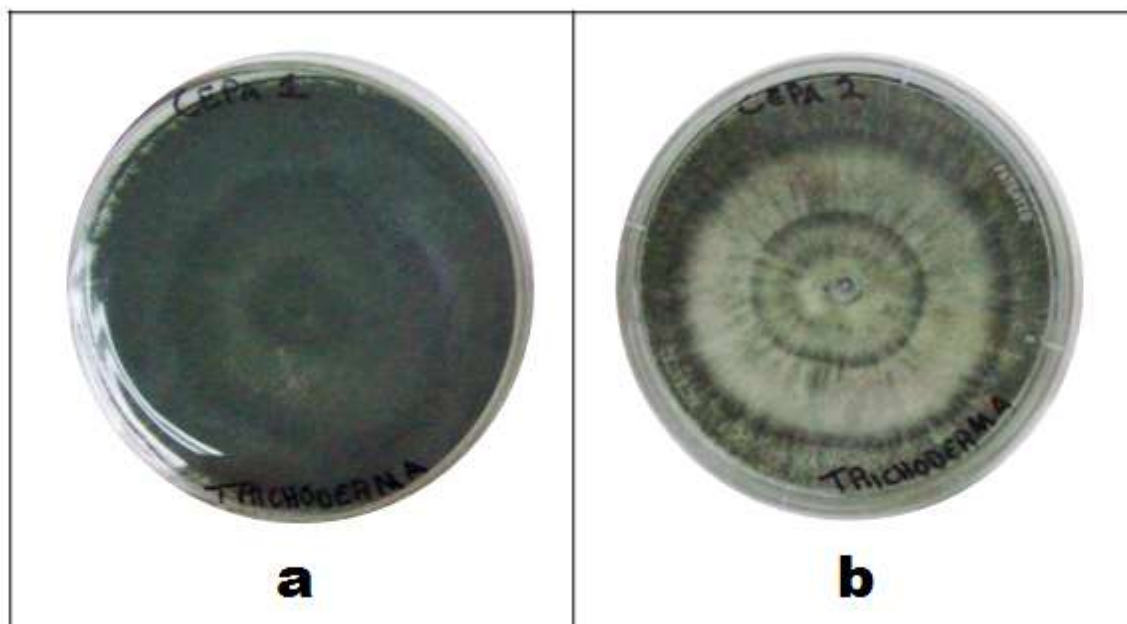


Figura 2.11. Colonias de: a) *T. asperellum*, sitio CSAEGro; b) *T. asperellum*, sitio Chilapa.

La presencia de diferentes especies de *Trichoderma* en suelos guerrerenses cultivados con calabaza pipiana, muestra la naturaleza cosmopolita de este género (Jensen y Wolffhenschel, 1995), sin excluir que es un habitante natural del suelo (Samuels, 2006). Debido a la similitud entre características morfológicas dentro de las especies del género *Trichoderma*, ha sido necesaria la reclasificación de éstas (Bissett *et al.*, 2003). Recientemente el número de especies filogenéticamente distintas se ha incrementado considerablemente, debido principalmente a la introducción de técnicas moleculares, a un muestreo geográfico más amplio y, por consecuencia, nuevos nichos ecológicos (Samuels, 2006). Además, las nuevas reclasificaciones han permitido determinar, a la vez, la relación con el teleomorfo, porque algunas especies de *Trichoderma* presentan como teleomorfo al género *Hypocrea* (Samuels, 2006); sin embargo, existen especies que aún no se les encuentra su fase sexual (Bissett *et al.*, 2003).

Las cepas nativas de *T. asperellum* obtenidas de los dos sitios de cultivo, son organismos antagónicos que se pueden utilizar en el control biológico del complejo de hongos que atacan frutos de calabaza pipiana (*S. rolfsii*, *R. solani*, *P. capsici*, *M. phaseolina* y *Fusarium* spp.). No obstante, para que los agentes antagónicos de control biológico tengan éxito, deben considerarse diferentes factores como las condiciones climáticas y el hábitat, los cuales deben ser adecuados para su crecimiento y para que invadan y afecten a los fitopatógenos que se desean controlar (Markovich y Kononova, 2003; Woo *et al.*, 2006).



5. CONCLUSIONES

Los hongos causantes de la pudrición de frutos de calabaza pipiana son *Macrophomina phaseolina*, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii* y *Fusarium solani* mismos que fueron identificados morfológicamente, y se confirmó cada especie mediante la identificación molecular, excepto la especie de *Fusarium*, que se identificó solamente a nivel de género. Las cepas nativas de *Trichoderma*, fueron identificadas morfológicamente a nivel género, molecularmente se identificaron como *T. asperellum*.

6. LITERATURA CITADA

- Aegerter, B. J., Gordon, T. R., and Davis, R. M. 2000. Occurrence and pathogenicity of fungi associated with melon root rot and vine decline in California. *Plant Dis.* 84:224-230.
- Almeida, A. M. R., Abdelnoor, R. V., Calvo, E. S., Tessnman, D., and Yorinori, J. T. 2001. Genotypic diversity among Brazilian isolates of *Sclerotium rolfsii*. *Journal of Phytopathology* 149: 493-502.
- Ayvar, S. S., Mena. B. A., Durán, R. J. A., R., Cruzaley, S. N. O., Gómez, M. 2007. La calabaza pipiana y su manejo integrado. Folleto técnico. Fundación Produce de Guerrero, A. C. Campo Experimental Iguala. CSAEGRO. Iguala, Gro. México. 26 p.
- Babu, B. K., Saxena, A. K., Srivastava, A. K. and Arora, D. K. 2007. Identification and detection of *Macrophomina phaseolina* by using species specific oligonucleotide primers and probe. *Mycologia* 99:797-803.
- Bagyalakshmi, R., Therese, K. L., Prasanna, S., and Madhavan, H. N. 2008. Newer Emerging Pathogens of Ocular Non-Sporulating Molds (NSM) Identified by Polymerase Chain Reaction (PCR)-Based DNA Sequencing Technique Targeting Internal Transcribed Spacer (ITS) Region. *Current Eye Research* 33:139-147.
- Barnett, H., and Hunter, B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. The American Phytopathological Society. Minesota. 4a. ed. 217 p.
- Bálbaz, P. 2002. De la Biología Molecular a la Biotecnología. Ed. Trillas. México. 323 p.
- Beas, F. R., Reyes, F. M. C., Medina, F. M., Hernández, D. S., y Mayek, P. N. 2004. *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) de Aguascalientes: relación patogénica y genética con aislamientos de otras regiones de México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:172-177.



- Biswas, C., Dey, P., Satpathy, S., Sarkar, S. K., Bera, A. and B. S. Mahapatra. 2012. A simple method of DNA isolation from jute (*Corchorusolitorius*) seed suitable for PCR-based detection of the pathogen *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. Letters in Applied Microbiology 56:105-110.
- Blancard, D., Lecoq, H., y Pitrat, M. 1991. Enfermedades de las *cucurbitáceas*. Madrid: Mundi-Prensa, p. 301.
- Boughalleb, N., Armengol, J., and El-Mahjoub, M. 2005. Detection of races 1 and 2 of *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* and their distribution in watermelon fields in Tunisia. J. Phytopathol. 153:162.
- Bissett, J., Szakacs, G. and Nolan, C. A. 2003. New species of *Trichoderma* from Asia. Canadian Journal Botanic 81:570-586.
- Britz, H., Steenkamp, E. T., Coutinho, T. A., Wingfield, B. D., Marasas, W. F. O., and Wingfield, M. J. 2002. Two new species of *Fusarium* section *Liseola* associated with mango malformation. Mycologia 94:722-730.
- Carling, D. E., Kuninaga, S., and Brainard, K. A. 2002. Hyphal anastomosis reactions, rDNA-internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-2 (AG-2) and AG-BI. Phytopathology 92:43-50.
- Cilliers, A. J., Herselman, L., and Pretorius, Z. A. 2000. Genetic variability within and among mycelial compatibility groups of *Sclerotium rolfsii* in South Africa. Phytopathology 90: 1026-1031.
- Cohen, R., Burger, Y., Horev, C., Koren, A., and Eldelstein, M. 2007. Introducing grafted cucurbits to modern agriculture. The Israeli experience. Plant Dis. 91:916-923.
- Díaz, N. J. F. 2011. Respuesta de la calabaza pipiana a la fertilización foliar y a las características fisicoquímicas del suelo. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. México. 80 p.
- Elmer, W. H. 1996. *Fusarium* fruit rot of pumpkins in Connecticut. Plant Dis. 80:131-135.
- Elmer, W. H., Covert, S. F., and O'Donnell, K. 2007. Investigation of an outbreak of *Fusarium* foot and fruit rot of pumpkin within the United States. Plant Dis. 91:1142-1146.
- Franke, M. D., Brenneman, T. B., Stevenson, K. L., and Padgett, G. B. 1998. Sensitivity of isolates of *Sclerotium rolfsii* from peanut in Georgia to selected fungicides. Plant Dis. 82:578-583.
- García, E. 2005. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen. 4ª Edición. Instituto de Geografía. Universidad autónoma de México. 217. p.



- García, L. N. 2005. Frecuencia de fertilización mineral (17-17-17) en calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma* Huber.) en Cocula, Guerrero. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. México. 67 p.
- Gobierno del Estado de Guerrero. 2012. Enciclopedia Guerrerense. Municipios del estado de Guerrero. En la red: <http://guerrero.gob.mx/municipios/>. Chilpancingo, Guerrero. México.
- Granke, L. L., Windstam, S. T., Hoch, H. C., Smart, C. D., and Hausbeck, M. K. 2009. Dispersal and movement mechanisms of *Phytophthora capsici* sporangia. *Phytopathology* 99:1258-1264.
- Guigón, L. C., Guerrero, P. V., Vargas, A. F., Carvajal, M. E., Ávila, Q. G.D., Bravo, L., L., Ruocco, M., Lanzuise, S., Woo, S. y Lorito, M. 2010. Identificación Molecular de Cepas Nativas de *Trichoderma* spp. su Tasa de Crecimiento in vitro y Antagonismo contra Hongos Fitopatogenos. *Revista Mexicana de Fitopatología* 28:87-96.
- Harlton, C. E., Uvesque, C. A., Punja, Z. K. 1995. Genetic diversity in *Sclerotium (Athelia) rolfsii* and related species. *Phytopathology* 85:1269-1281.
- Harrow, S.A., Ferrokhi-Nejad, R., Pitman, A. R., Scott, I.A.W., Bentley, A., Hide, C., Cromey, M.G. 2010. Characterization of New Zealand *Fusarium* populations using a polyphasic approach differentiates the *F. avenaceum*, *F. acuminatum*, *F. tricinctum* species complex in cereal and grassland systems. *Fungal Biol.* 114:293-311.
- Hsuan, H. M., Salleh, B., and Zakaria, L. 2011. Molecular Identification of *Fusarium* Species in *Gibberella fujikuroi* Species Complex from Rice, Sugarcane and Maize from Peninsular Malaysia. *Int. J. Mol. Sci.* 12:6722-6732.
- Irina, S., Druzhinina, A., Kopchinskiy, G., Komon, M., Bissett, J., Szakacs, G., and Kubicek, C. P. 2005. An oligonucleotide barcode for species identification in *Trichoderma* and *Hypocrea*. *Fungal Genetics and Biology* 42:813-828.
- Islam, S. Z., Babadoost, M., Lambert, K. N., Ndeme, A., and Fouly, H. M. 2005. Characterization of *Phytophthora capsici* isolates from processing pumpkin in Illinois. *Plant Dis.* 89:191-197.
- Jana, T. K., Singh, N. K., Koundal, K. R., and Sharma, T. R. 2005a. Genetic differentiation of charcoal rot pathogen, *Macrophomina phaseolina*, in to specific groups using URP-PCR. *Can J Microbiol.* 51:159-164.
- Jana, T. K., Sharma, T. R., and Singh, N. K. 2005b. SSR based detection of genetic variability in the charcoal root rot pathogen *Macrophomina phaseolina*. *Mycol. Res.* 109:81-86.



- Johanson, A., Turner, H. C., McKay, G. J., and Brown, A. E. 1998. A PCR-based method to distinguish fungi of the rice sheath-blight complex, *Rhizoctonia solani*, *R. oryzae* and *R. oryzae-sativae*. FEMS Microbiol. Lett. 162:289-294.
- Jurjevic, Z., Wilson, D.M., Wilson, J.P., Geiser, D.M., Juba, J.H., Mubatanhema, W., Widstrom, N. W., and Rains, G.C. 2005. *Fusarium* species of the *Gibberella fujikuroi* complex and fumonisin contamination of pearl millet and corn in Georgia, USA. Mycopathologia 159:401-406.
- Knutsen, A. K., Torp, M., and Holst-Jensen, A. 2004. Phylogenetic analyses of *Fusarium poae*, *Fusarium sporotrichioides* and *Fusarium langsethiae* species complex based on partial sequences of the translation elongation factor 1-gene. Int. J. Food Microbiol. 95:287-295.
- Lamour, K. H., and Hausbeck, M. K. 2001. Investigating the spatiotemporal genetic structure of *Phytophthora capsici* in Michigan. Phytopathology 91:973-980.
- Lee, B. K., Kim, B. S., Chang, S. W., and Hwang, B. K. 2001. Aggressiveness to pumpkin cultivars of isolates of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pepper. Plant Dis. 85:497-500.
- Le, C. N., Mendes, R., Kruijt, M., and Raaijmakers, J. M. 2012. Genetic and phenotypic diversity of *Sclerotium rolfsii* in groundnut fields in central Vietnam. Plant Dis. 96:389-397.
- Leslie, J. F. and Summerell B. A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Kansas Agricultural Experiment Station, Manhattan.
- Ma, J., Hill, C. B., and Hartman, G. L. 2010. Production of *Macrophomina phaseolina* conidia by multiple soybean isolates in culture. Plant Dis. 94:1088-1092.
- Marasas, W. F. O., Ploetz, R. C., Wingfield, M. J., Wingfield, B. D., and Steenkamp, E. T. 2006. Mango malformation disease and the associated *Fusarium* species. Phytopathology 96:667-672.
- Markovich, N. A. and G. L. Kononova. 2003. Lytic Enzymes of *Trichoderma* and Their Role in Plant Defense from Fungal Diseases: A Review. Applied Biochemistry and Microbiology 39(4):341-351.
- Manshor, N., Rosli, H., Ismail, N. A., Salleh, B. and Zakaria, L. 2012. Diversity of *Fusarium* Species from Highland Areas in Malaysia. Tropical Life Sciences Research 23(2):1-15.
- Martínez, R. R. D., Reyna, S. L., Torres, H. G., Mastache, L. A. A., y Michel, A. A. C. 2011. Evaluación de la fertilidad y prolificidad en ciclos reproductivos de ocho meses durante tres estaciones en ovejas pelibuey en el trópico seco mexicano. Revista Científica, FCV-LUZ 21(5):383-387.
- Mehl, H. L., and Epstein L. 2007. *Fusarium solani* species complex isolates conspecific with *Fusarium solani* f. sp. *cucurbitae* race 2 from naturally infected human and plant tissue and environmental



- sources are equally virulent on plants, grow at 37°C and are interfertile. *Environmental Microbiology* 9(9):2189-2199.
- Mendoza Z. C., 1993. Diagnóstico de enfermedades fungosas. Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma de Chapingo, Chapingo. 97 p.
- Mendoza, Z. C. 1996. Enfermedades Fungosas de las Hortalizas. Universidad Autonoma Chapingo. Departamento de ParasitologiaAgricola. 88 p.
- Michereff, S. J., Andrade, D. E., and Sales, J. R. 2008. Reaction of melon genotypes to *Rhizoctonia solani*. *Hortic. Brasileira* 26:401-404.
- Mohd, Z. N. A. I., Razak, A. A., and Salleh, B. 2008. Bakanae disease of rice in Malaysia and Indonesia: Etiology of the causal agent based on morphological, physiological and pathogenicity characteristics. *J. PlantProt. Res.* 48:476-485.
- Morales, R. I., Deyanex, M. M., Silva, R. H. V., Garcia, De-la-Santos, G., Guzman, and De-Pena. D. A. 2007. Biodiversity of *Fusarium* species in Mexico associated with ear rot in maize and their identification using phylogenetic approach. *Mycopathologia* 163:31-39.
- O'Donnell, K., Nirenberg, H. I., Aoki, T., and Cigelnik, E. 2000. A Multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: Detection of additional phylogenetically distinct species. *Mycoscience* 41:61-78.
- Okabe, I., Morikawa, C., Matsumoto, N., and Yokoyama, K. 1998. Variation in *Sclerotium rolfsii* isolates in Japan. *Mycoscience* 39:399-407.
- Otero, C. G., Rodríguez, A. G., Fernández, P. S., Maymon, M., Ploetz, R. C., Aoki, T., O'Donnell, K., and Freeman, S. 2010. Identification and characterization of a novel etiological agent of mango malformation disease in Mexico, *Fusarium mexicanum* sp. nov. *Phytopathology* 100:1176-1184.
- Okubara, P. A., Schroeder, K. L., and Paulitz, T. C. 2008. Identification and quantification of *Rhizoctonia solani* and *R. oryzae* using real-time polymerase chain reaction. *Phytopathology* 98:837-847.
- Paulitz, T. C., Okubara, P. A., and Schillinger, W. F. 2006. First report of damping-off of canola caused by *Rhizoctonia solani* AG 2-1 in Washington State. *Plant Dis.* 90:829.
- Ploetz, R. C. 2006. *Fusarium*-induced diseases of tropical, perennial crops. *Phytopathology* 96:648-652.
- Praveen, G., Singh, S. K., and Rakesh, P. 2011. Phylogenetic relationships of some phytopathogenic sclerotial fungi inferred from ribosomal DNA sequences and morphological characters. *International Journal of Agriculture Sciences* 3 (3):128-132.



- Punja, Z. K., and Damiani, A. 1996. Comparative growth, morphology, and physiology of three *Sclerotium* species. *Mycologia* 88:694-706.
- Punja, Z. K., and Grogan, R. G. 1983. Hyphal interactions and antagonism among field isolates and single-basidiospore strains of *Athelia* (*Sclerotium*) *rolfsii*. *Phytopathology* 73:1279-1284.
- Punja, Z. K., Sun, L. J. 2001. Genetic diversity among mycelial compatibility groups of *Sclerotiumrolfsii* and *Sclerotium delphinii*. *Mycological Research* 105: 537-546.
- Purkayastha, S., Kaur, B., Dilbaghi, N., Chaudhary, A. 2006. Characterization of *Macrophomina phaseolina*, the charcoal rot pathogen of cluster bean, using conventional techniques and PCR-based molecular markers. *Plant Pathology* 55:106–116.
- Quiagen. 2012. Manual del kit QIAamp® DSP DNA Blood Mini. Versión 2. Alemania.
- Quesada, O. L. M., Granke, L. L., Mercier, M. R., Olsen, J., and Hausbeck, M. K. 2011. Investigating the genetic structure of *Phytophthora capsici* populations. *Phytopathology* 101:1061-1073.
- Riethmüller, A., Voglmayr, H., Göker, M., Weiß, M., Oberwinkler, F. 2002. Phylogenetic relationships of the downy mildews (*Peronosporales*) and related groups based on nuclear large subunit ribosomal DNA sequences. *Mycologia* 94(5):834-849.
- Ristaino, J. B., Madritch, M., Trout, C. L., and Parra, G. 1998. PCR amplification of ribosomal DNA for species identification in the plant pathogen Genus *Phytophthora*. *Appl. Environ. Microbiol.* 64:948-954.
- SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2012. Publicado en línea en: <http://www.siap.gob.mx>.
- Salari, M., Panjehkeh, N. Nasirpoor, Z. and J. Abkhoo. 2012. Reaction of melon (*Cucumis melo* L.) cultivars to soil-borne plant pathogenic fungi in Iran. *African Journal of Biotechnology* 11(87):15324-15329.
- Samuels, G. J. 2006. *Trichoderma*: Systematics, the sexual state, and ecology. *Phytopathology* 96:195-206.
- Schaad, N. W., Opgenorth, D., and Gaush, P. 2002. Real-time polymerase chain reaction for one-hour on-site diagnosis of Pierce's disease of grape in early season asymptomatic vines. *Phytopathology* 92:721-728.
- Singlenton, L. L., Mihail J. D. and Rush Ch. M. 1992. Methods for research on soil borne Phytopathogenic Fungi. APS Press. St. Paul, Minesota.



- Siti, N, M. S., Nur, Ainlzzati, M. Z., Razak, A. A., Salleh, B. 2008. Distribution, morphological characterization and pathogenicity of *Fusarium sacchari* associated with pokkahboeng disease of sugarcane in Peninsular Malaysia. J. Trop. Agric. Sci. 31:279-286.
- Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* Species. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA.
- Steenkamp, E., Britz, H., Coutinho, T., Wingfield, B., Marasas, W., and Wingfield, M. 2000. Molecular characterization of *Fusarium subglutinans* associated with mango malformation. Mol. Plant Pathol. 1:187-193.
- Stevens, J., and Jones, R. K. 2001. Differentiation of three homogeneous groups of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 4 by analysis of fatty acids. Phytopathology 91:821-830.
- Su, G., Suh, S. O., Schneider, R. W., and Russin, J. S. 2001. Host specialization in the charcoal rot fungus, *Macrophomina phaseolina*. Phytopathology 91:120-126.
- Srivastava, A. K., Singh, R. B. 1990. Effect of organic amendment on interaction of *Macrophomina phaseolina* and *Meloidogyne incognita* on fresh bean (*Phaseolus vulgaris* L.). New Agriculturist 1:99-100.
- Tian, D., and Babadoost, M. 2004. Host range of *Phytophthora capsici* from pumpkin and pathogenicity of isolates. Plant Dis. 88:485-489.
- Voglmayr, H., and Riethmüller, A. 2006. Phylogenetic relationships of *Albugo* species (white blister rusts) based on LSU rDNA sequence and oospore data. Mycological research 110:75-85.
- Wantanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Morphologies of Cultures Fungi and Key to Species. Second edition. CRC PRESS. New York Washington, D.C. 500 pp.
- Waterhouse, G. M. 1970. Taxonomy of *Phytophthora*. Phytopathology 60:1141-1143.
- White, T.J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenies. In: M.A. Inns, D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White (eds.). PCR Protocols. Pp.315-322. Academic Press. San Diego, CA.
- Woo, S. L., Scala, F., Ruocco, M., and Lorito, M. 2006. The molecular biology of the interactions between *Trichoderma* spp., phytopathogenic fungi, and plants. Phytopathology 96:181-185.
- Wulff, E. G., Sorensen, J. L., Lübeck, M., Nielsen, K. F., Thrane, U., Torp, J. 2010. *Fusarium* spp. associated with rice Bakanae: Ecology, genetic diversity, pathogenicity and toxigenicity. Environ. Microbiol. 12:649-657.



- Yli, M. T., Paavaeen, H. S., Bulat, S. A., Alekhina, I. A., Nirenberg, H. I. 2002. Molecular, morphological and phylogenetic analysis of the *Fusarium avenaceum*/ *F. arthrosporioides*/ *F. tricinctum* species complex – a polyphasic approach. *Mycol. Res.* 106:655-669.
- Zhang, N., Geiser, D. M., and Smart, C. D. 2007. Macroarray detection of solanaceous plant pathogens in the *Fusarium solani* species complex. *Plant Dis.* 91:1612-1620.
- Zitter, T. A., Hopkins, D. L., and Thomas, C. E. 2004. Plagas y enfermedades de las *cucurbitaceas*. The American Phytopathological Society. Ediciones Mundi Prensa. 88 p.



CAPÍTULO III. CONTROL QUÍMICO Y BIOLÓGICO EN CAMPO DE HONGOS FITOPATÓGENOS EN CALABAZA PIPIANA *Cucurbita argyrosperma* Huber

1. INTRODUCCIÓN

Las cucurbitáceas han tenido un importante papel cultural y económico entre las diferentes sociedades. Varias especies se encuentran entre las primeras plantas domesticadas por los seres humanos. La calabaza pipiana, al igual que el maíz, frijol y chile, ha evolucionado en la agricultura y, en la actualidad, forma parte de la alimentación básica a nivel mundial (Lira *et al.*, 2002; Ayvar *et al.*, 2007); en México se consumen las flores masculinas frescas, las puntas de las guías, los frutos tiernos y maduros y, principalmente, las semillas (Lira, 1995; Montes *et al.*, 2005). El Estado de Guerrero, es el principal productor de semilla de calabaza pipiana; de acuerdo a datos de la SAGARPA en el 2011 se sembraron 5,742.00 ha, que produjeron 3,192.56 t, con un valor de \$ 38, 823, 330.00 de pesos (SAGARPA, 2012).

En las zonas norte, La montaña y las costas guerrerenses, se presentan características climáticas apropiadas para sembrarla en monocultivo de temporal. El hábito de crecimiento rastrero e indeterminado del cultivo, así como las características de los suelos planos y arcillosos, crean un microclima que favorece la incidencia de problemas fitosanitarios, principalmente enfermedades causadas por hongos habitantes del suelo, que pudren muchos frutos y reducen los rendimientos hasta en un 90%; por esta razón, disminuyen ingresos económicos beneficios de los productores dedicados a esta actividad (Ayvar *et al.*, 2007; Ayvar *et al.*, 2010; Díaz, 2011). Aunque el precio de venta por tonelada de semilla ha aumentado en los últimos 10 años, es escasa la información disponible sobre aspectos fitosanitarios en el cultivo.

En los agrosistemas, recientemente ha crecido la tendencia del control de enfermedades de las plantas sin utilizar productos químicos. Los patógenos se controlan normalmente con fungicidas sistémicos que son compuestos capaces de penetrar la cutícula de las hojas y dispersarse en la planta. Se caracterizan por mostrar propiedades protectoras y curativas, generalmente son compuestos con un único modo de acción, muy efectivos a bajas concentraciones, flexibles en su uso (es decir, con una eficacia aceptable sobre un amplio rango de crecimiento fúngico y estadios de infección) y que permiten un control de la enfermedad durante largos periodos de tiempo (Moorman y Kim, 2004; Gisi y Sierotzki, 2008). Sin embargo, su uso excesivo ha provocado contaminación ambiental y su eficacia disminuye al pasar el tiempo, debido a la evolución de patógenos resistentes (Bartlett *et al.*, 2002; Madriz, 2002).



En los últimos 30 años, se han implementado en la agricultura métodos de control alternativos, incluido el uso de microorganismos para el control biológico; esta práctica se basa en el uso de organismos (o de sus metabolitos o subproductos, principalmente producidos por hongos) que son enemigos naturales de una plaga o patógeno, con el fin de reducir o eliminar sus efectos dañinos en las plantas o sus productos (Lim y Kim, 2010; Pliego *et al.*, 2011; Yang *et al.*, 2012). No obstante que los éxitos comerciales, hasta el momento, son todavía limitados y se basan principalmente en hongos de los géneros *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Streptomyces*, *Coniothyrium* y *Candida*, así como bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Agrobacterium* (Kui *et al.*, 2008; Harman *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2012).

En diferentes trabajos se reporta que para tener un buen control sobre una enfermedad en los cultivos, se ha demostrado que una sola alternativa de control no es suficiente para manejar al patógeno y, por consiguiente, a la enfermedad que éste produce, por lo que es necesario integrar varias estrategias para tener un buen control de los patógenos en los cultivos (Ulacio *et al.*, 2003; Antonopoulos *et al.*, 2010; Bi *et al.*, 2012).

2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivos

- Estudiar el desarrollo, rendimiento y calidad de semilla de los tres genotipos criollos de calabaza.
- Comparar el efecto de las condiciones edáficas y ambientales de dos sitios de cultivo, sobre la incidencia de la pudrición fungosa de frutos, desarrollo del cultivo y rendimiento de semilla.
- Evaluar alternativas de control químico y biológico, contra los hongos asociados a la pudrición de frutos de calabaza pipiana, de tres genotipos, en dos sitios de cultivo.
- Comparar la eficiencia de productos químicos contra los biológicos para prevenir la pudrición de frutos.
- Determinar la estructura de costos y rentabilidad de los tratamientos.



2.2 Hipótesis

- Todos los genotipos de calabaza pipiana presentan un desarrollo, rendimiento y calidad de semilla similar.
- Las condiciones edáficas y ambientales de sitios de cultivo presentan la misma incidencia de pudriciones fungosas de frutos de calabaza, desarrollo del cultivo y rendimiento de semilla.
- Los tratamientos químicos y biológicos evaluados en este estudio, son eficientes para el control de los hongos causantes de la pudrición de frutos en calabaza pipiana, logrando que el rendimiento del cultivo no se vea afectado.
- Los grupos de tratamientos químicos y biológicos generan rendimientos semejantes.
- Los costos asociados al empleo de productos químicos y biológicos para el control de los hongos causantes de la pudrición de frutos de calabaza pipiana, son similares.

3. MATERIALES Y MÉTODOS

3.1 Sitios de cultivo

Con la finalidad de poder comparar el desarrollo de los tres criollos de calabaza y evaluar los productos propuestos, bajo diferentes condiciones agroecológicas, la presente investigación se realizó en dos localidades del estado de Guerrero, durante el ciclo Primavera-Verano del 2012.

3.1.1 Sitio CSAEGro

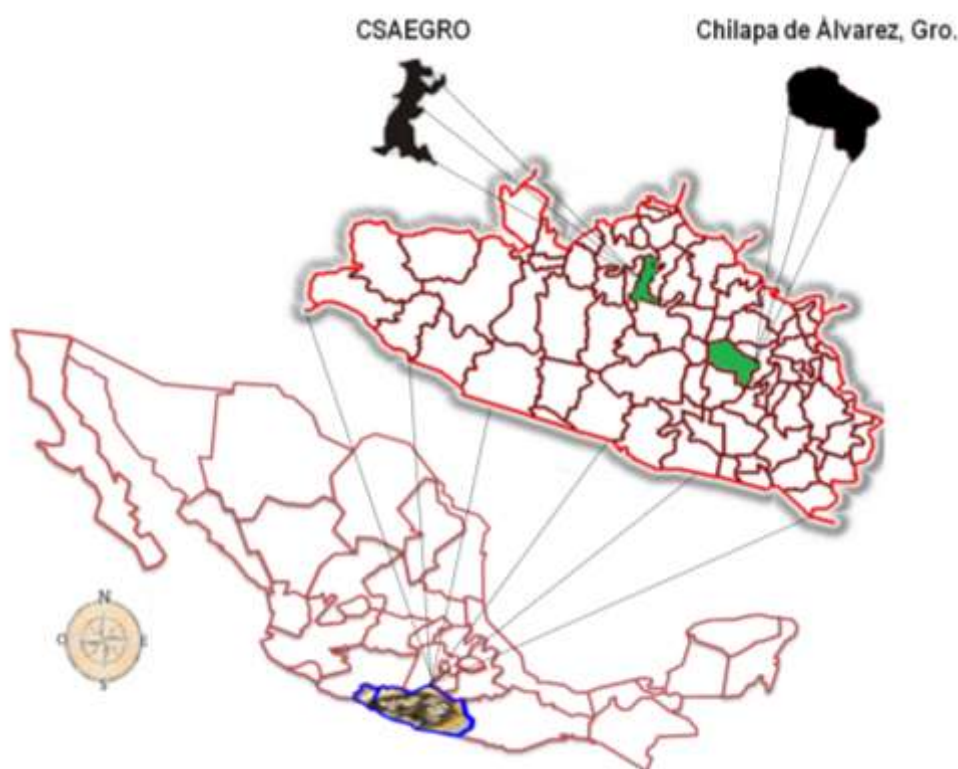
Este sitio corresponde al campo experimental del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGro), localizado en la zona norte del estado de Guerrero, en el municipio de Cocula (Figura 3.1), y ubicado geográficamente a 18° 19' N, 99° 39' O del meridiano de Greenwich, a una altitud de 640 m. En esta región predomina el clima tipo Awo (w) (i') g, que es el más seco de los cálidos semihúmedos. La precipitación media anual es de 797 mm; las lluvias más frecuentes se presentan en los meses de junio a septiembre. La temperatura media anual varía de 22 a 29 °C; los meses más cálidos son abril y mayo, con 40 °C o más; la mínima es de 10 °C o menor; la topografía regional es uniforme sin pedregosidad y con mínima erosión. Presenta suelos planos, correspondiendo a la clase chernozem o negro con textura arcillo-arenosa o franco-arcillosa, con drenaje medio y poca materia orgánica (1.7 %), pH de 7.6 a 7.9. (García, 2005; Martínez *et al.*, 2011; Gobierno del Estado de Guerrero, 2012).



3.1.2 Sitio Chilapa

Este segundo sitio de cultivo pertenece a la zona centro del Estado de Guerrero, en el municipio de Chilapa de Álvarez (Figura 3.1), ubicado geográficamente entre los paralelos 17° 17' 40" y 17° 40' 55" de latitud norte, y los 98° 53' 44" y 99° 17' 11" de longitud oeste, con una altitud de 1420 m. Los suelos predominantes se clasifican como podzol o podzólicos, utilizados para la ganadería; además, los chernozem o negros, aptos para la agricultura con ligeras pendientes. Presenta un clima cálido subhúmedo, el semicálido subhúmedo y templado subhúmedo. La temperatura promedio es de 32 °C; la precipitación pluvial oscila entre los 900 y 1400 mm. El periodo de lluvias es de mayo a septiembre (García, 2005; Gobierno del Estado de Guerrero, 2012).

3



i
c

Figura 3.1. Localización de los sitios de cultivo.

Se utilizaron tres diferentes materiales genéticos criollos de calabaza pipiana (*C. argyrosperma*) procedentes de las localidades de Apipilulco (AP), Chilapa (CH), y Santa Teresa (ST), ubicadas en las regiones Norte y Centro de estado de Guerrero (Figura 3.2).



Figura 3.2. Genotipos de calabaza pipiana.

3.2 Factores evaluados y diseño de tratamientos obtenidos

Los factores estudiados en la presente investigación fueron sitio de cultivo, tipo de control (químico y biológico), y genotipos. Para el primer factor se usaron los sitios CSAEGro y Chilapa; para el segundo factor, 10 tratamientos, incluyendo productos químicos y biológicos y un testigo. Se utilizaron los tres genotipos de calabaza pipiana mencionados anteriormente (AP, CH y ST). Los tratamientos se describen en el Cuadro 3.1. En general se hicieron dos aplicaciones con la dosis media recomendada; en el caso de los tratamientos 8 y 9 con las dos cepas nativas de *Trichoderma*, se utilizó una dosis de 1×10^8 conidios mL^{-1} de agua. La aplicaciones se realizaron a los 20 y 35 (inicio de la floración) días después de la emergencia (35 d.d.e.).

Cuadro 3.1. Lista de tratamientos utilizados.

No.	Tratamiento	Ingrediente activo
1	Benomil	benomilo
2	Previcur® Energy	propamocarb + fosetil
3	Pentaclor* 600F	quintozeno
4	Ridomil Gold® Bravo SC	metalaxil + clorotalonil
5	PHC® Biopak-F®	<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.
6	Q 2000	Yodo libre
7	PHC® Root Mate®	<i>Trichoderma virens</i> cepa G-41
8	<i>Trichoderma</i> cepa CSAEGro	<i>Trichoderma asperellum</i>
9	<i>Trichoderma</i> cepa CHILAPA	<i>Trichoderma asperellum</i>
10	Testigo	Sin aplicación

Fuente: Thompson (2012).

3.3 Diseño experimental

En cada uno de los sitios, se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas, con parcelas grandes arregladas como bloques completos al azar y parcelas chicas arregladas completamente al azar. Las parcelas grandes correspondieron a los genotipos y las parcelas chicas a los tipos de control (control químico y/o biológico); se utilizaron cuatro repeticiones y, por lo tanto, 144 unidades experimentales,



cada una de éstas constó de 4 surcos con una separación de 2.4 m y 8 m de longitud (Figura 3.3). La parcela útil donde se evaluaron algunas de las variables de respuesta, correspondió a los dos surcos centrales. El total de superficie utilizado en el presente trabajo fue de 8, 332 m² en cada sitio de cultivo, respectivamente.



Figura 3.3. Croquis de distribución de los tratamientos en campo.

3.4 Variables de respuesta

En este estudio se evaluaron diversas variables respuesta, relacionadas con el crecimiento, fenología, rendimiento y calidad de la semilla, las cuales se midieron en diferentes fechas (cada 15 días, en el sitio CSAEGro se obtuvieron tres evaluaciones y el Chilapa cinco), como diámetro de tallo, longitud de la guía principal, número de guías laterales, etc. Algunas otras relacionadas directamente con los componentes del rendimiento como número de frutos sanos, dañados y totales, diámetros vertical y horizontal, longitud de la cavidad y grosor de la pulpa de los frutos, y peso de la semilla seca.

Algunos de estos componentes del rendimiento se evaluaron también al momento de la cosecha. Enseguida se enlistan las variables en estudio con su respectiva unidad de medida (Cuadro 3.2).



Cuadro 3.2. Variables de respuesta y sus unidades de medida.

No.	Variable	Unidad de medida
1	Diámetro del cuello de la planta	cm
2	Longitud de la guía principal	m
3	Número de guías laterales	n.º
4	Número de frutos sanos (30 m ²)	n.º
5	Número de frutos dañados (30 m ²)	n.º
6	Diámetro vertical del fruto	cm
7	Diámetro horizontal del fruto	cm
8	Longitud de la cavidad del fruto	cm
9	Grosor de la pulpa del fruto	cm
10	Peso de semilla seca	g
11	Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	n.º
12	Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	n.º
13	Peso de semilla por unidad experimental	kg
14	Peso de semilla en kg ha ⁻¹	kg

3.5 Desarrollo del experimento

Preparación del terreno. Para hacer la preparación del terreno se realizó con desvaradora una limpia previa, así como barbecho, rastreo y surcado; éste, a 2.4 m distancia.

Siembra. Esta actividad se llevó a cabo en la época de temporal, en junio del 2012; previamente se trató con Gaucho® 70 WS (imidacloprid) la semilla, y ésta se sembró depositando de a tres por mata, a 3 cm de profundidad y a 2 m de distancia, en el lomo del surco. Se aplicó al suelo Counter 5% (terbufos) de manera preventiva contra posibles ataques de plagas del suelo.

Aclareo. Se realizó 15 días después de la siembra (d.d.s.), dejando dos plantas por mata, para cultivar 3, 573 plantas ha⁻¹.

Paso de cultivadora. Se realizaron dos pasos de cultivadora, con tractor, a los 12 y 21 d.d.e., con la finalidad de evitar competencia con malezas y proporcionar un buen desarrollo del cultivo.

Fertilización edáfica. Se utilizó el tratamiento de fertilización de 80-70-60. Las fuentes de fertilizantes fueron: Sulfato de amonio (20.5% de N), Fosfato diamónico (46 % de P₂O₅, 18% de N) y Cloruro de potasio (60% de K₂O). En la primera, de dos aplicaciones, se incorporó todo el fósforo y potasio, y la mitad del nitrógeno (12 d.d.s.); en la segunda, el resto de nitrógeno (25 d.d.s.), que se cubrió con suelo para optimizar su aprovechamiento.

Aplicación de los tratamientos. Se aplicaron los productos con los ingredientes activos mencionados anteriormente (Cuadro 3.2), con la dosis media recomendada por el fabricante (Thompson, 2012); se



utilizó una bomba aspersora de mochila (15 L), procurando que se cubriera homogénea y totalmente el follaje de las plantas tratadas; esta actividad se realizó a los 20 y 35 d.d.e. (antes del inicio de la floración), con el fin de proteger los frutos pequeños de las plantas.

Cosecha de frutos. La cosecha se realizó manualmente cuando los frutos alcanzaron la madurez fisiológica (color amarillo uniforme), a los 100 d.d.s., en todas las unidades experimentales.

Extracción y secado de la semilla. Ésta se extrajo manualmente después de partir diametralmente el fruto; se separó de la placenta, se eliminó el “pepeto”, y se secó al sol por 20 h, homogéneamente.

3.6 Análisis estadístico

A los datos obtenidos de las diferentes variables de estudio, se les realizaron análisis de varianza individuales para cada uno de los sitios, genotipos y fechas; así como análisis combinados a través de los diferentes niveles de los factores: sitios, genotipos y fechas de evaluación. De igual forma, se efectuaron pruebas de comparaciones múltiples de medias utilizando el método LSD con nivel de significancia al 5%. Todo este procesamiento estadístico se hizo con el software Statistical Analysis System (SAS, por sus siglas en inglés. SAS, 2009).



Preparación del terreno



Siembra manual



Tres semillas mata⁻¹



Dos plantas mata⁻¹



Fertilización edáfica



Paso de cultivadora



Aplicación de los tratamientos



Recolección de frutos



Extracción de semilla

Figura 3.4. Actividades realizadas durante el proceso de producción de semilla de calabaza pipiana.

3.7 Análisis económico

De acuerdo con la metodología propuesta por Durán (2009), se realizó un análisis económico por cada sitio de cultivo, para conocer la rentabilidad de los tratamientos, a través de los indicadores: Costo Total (CT), Ingresos Total (IT) y Neto (IN) y Ganancia por Peso Invertido (GPI).

Costo total de producción (CT). Se registraron todos los gastos efectuados por tratamiento.

Ingreso total (IT). Es el capital obtenido por la venta del producto, tomando en cuenta el precio por unidad, al momento de la comercialización. Se calcula con la fórmula:

$$IT = Py Y$$

Donde:

IT = Ingreso total

Py = Precio del producto

Y = Producción por hectárea



Ingreso neto (IN). Es la ganancia obtenida una vez que se han deducido los gastos; se obtiene mediante la fórmula:

$$IN = IT - CT$$

Donde:

IN = Ingreso neto

IT = Ingreso total

CT = Costo total

Ganancia por peso invertido (GPI). Permite determinar la rentabilidad de los tratamientos. Se determina por la fórmula:

$$GPI = IN \cdot CT^{-1}$$

Donde:

GPI = Ganancia por peso invertido

IN = Ingreso neto

CT = Costo total

4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Debido a la gran cantidad de factores evaluados en esta investigación, como son los sitios, genotipos y tipos de producto; además de que se evaluaron en diferentes fechas; por lo que se consideró necesario realizar análisis estadísticos individuales de los tratamientos para fecha, genotipo y sitio; además, de los combinados para los tratamientos a través de: i) las fechas, para cada uno de los sitios y genotipos, ii) los genotipos, para cada uno de los sitios, y iii) los genotipos y sitios. El resumen de estos análisis estadísticos, así como los resultados de las pruebas de comparaciones múltiples de medias de todas las variables en estudio, se muestran en los Cuadros 1-A al 56-A, del apéndice.

Diámetro del cuello de la planta

Para esta variable el análisis de varianza (Cuadros 5-A y 6-A del apéndice) detectó diferencias altamente significativas para fechas, genotipos y sitios de cultivo ($P < 0.0001$; $P < 0.0001$ y $P = 0.0006$, respectivamente). La prueba de comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos. Las fechas más sobresalientes fueron la 3 y la 5, en las cuales los promedios fueron de 2.03 y 2.07 cm, respectivamente. El genotipo que registró el mayor diámetro fue el AP con 1.67 cm. El sitio de cultivo CSAEGro favoreció más el desarrollo de las plantas, debido a que éstas tuvieron el mayor diámetro, de 1.89 cm, en comparación con el sitio Chilapa, en donde el diámetro promedió 1.43 cm (Figura 3.5).

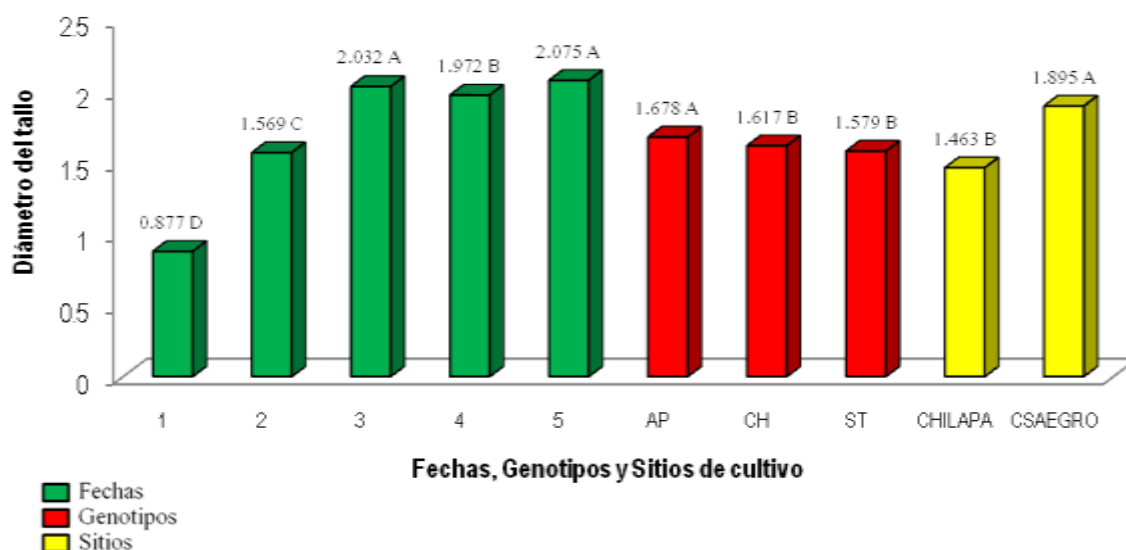


Figura 3.5. Diámetro del cuello de la planta en función de las fechas de muestreo, genotipos y sitios de cultivo.

En trabajos realizados en el Centro de Estudios Profesionales del Colegio Superior del Estado de Guerrero (CEP-CSAEGro), Aguirre (2007) evaluó dosis de fertilización con nitrógeno y fosforo, en el criollo de calabaza de Apaxtla; reportó un diámetro del cuello promedio de 1.53 cm, que es inferior al promedio de 2.05 cm encontrado en la presente investigación; sin embargo, Díaz (2011) evaluó el genotipo AP en Apipilulco Gro., y obtuvo una media general de 2.25 cm, que es también mayor que 2.03 y 2.08 cm, registrados en las fechas 3 y 5 en los sitios de cultivo CSAEGro y Chilapa, utilizados en esta investigación.

Longitud de la guía principal

En esta variable el análisis de varianza (Cuadros 5-A y 6-A del apéndice) detectó diferencias altamente significativas por efecto de las fechas ($P < 0.0001$), los genotipos ($P = 0.0003$) y los sitios de cultivo ($P = 0.001$). La prueba de comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos. En las fechas 3 y 5 se presentaron los valores más altos, de 5.22 y 4.95 m, respectivamente; mientras que las plantas del genotipo CH desarrollaron las guías de mayor longitud (4.01 m). Asimismo, el sitio Chilapa fue el más propicio para que las plantas desarrollaran los tallos primarios más vigorosos, de 4.95 m (Figura 3.6).

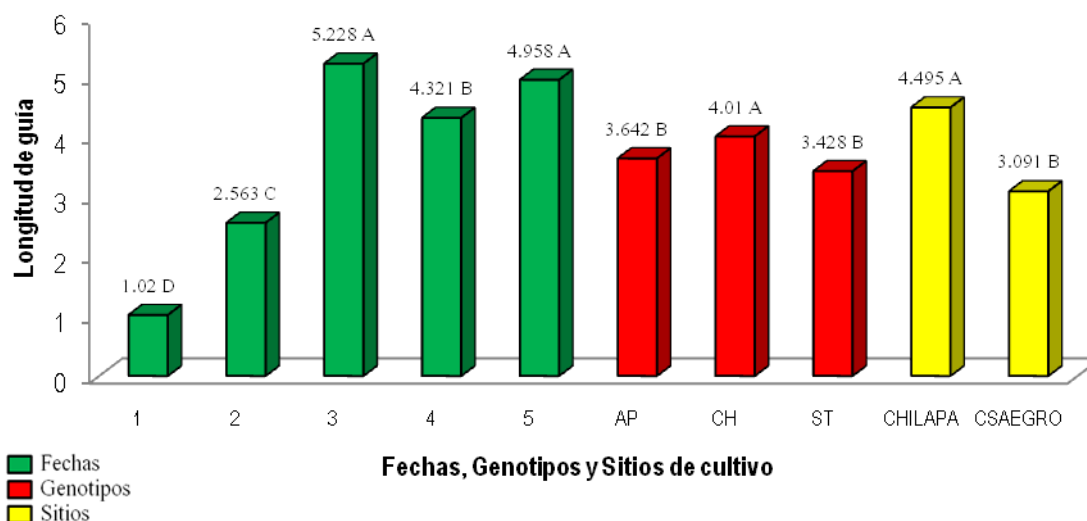


Figura 3.6. Longitud de la guía principal en función de las fechas de muestreo, genotipos y sitios de cultivo.

En esta misma característica evaluada por Aguirre (2007) y Díaz (2011), en el municipio de Cocula Gro., en ensayos de tipos de fertilización, presentó promedios respectivos de 9.60 y 7.55 m, los cuales son superiores a 3.61 m obtenido en el presente trabajo.

Número de guías laterales

Para esta característica, el análisis de varianza (Cuadros 5-A y 6-A del apéndice) encontró diferencias altamente significativas en las fechas, genotipos y sitio de cultivo ($P < 0.0001$; $P = 0.03$ y $P = 0.006$). La prueba de comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos para fechas y genotipos. Las plantas mostraron el mayor número de guías, de 9.99, durante la fecha 4; pero en la evaluación 5 se presenta una disminución y el promedio es de 6.9; este comportamiento probablemente se debió a que en esta fecha, se presentaron abundantes precipitaciones (según datos agrometeorológicos de la estación del CEP-CSAEGRO), que crearon un ambiente favorable para el ataque de patógenos habitantes del suelo, a las guías de la planta que estaban en contacto directo con la superficie del terreno (Sergio Ayvar Serna, Comunicación personal, 2012). Las plantas del criollo AP formaron 7.09 guías, que es el mayor promedio de los tres genotipos cultivados. En los sitios de cultivo, esta variable no tuvo diferencias estadísticamente significativas; pero varió de 6.86 a 6.87 (Figura 3.7).

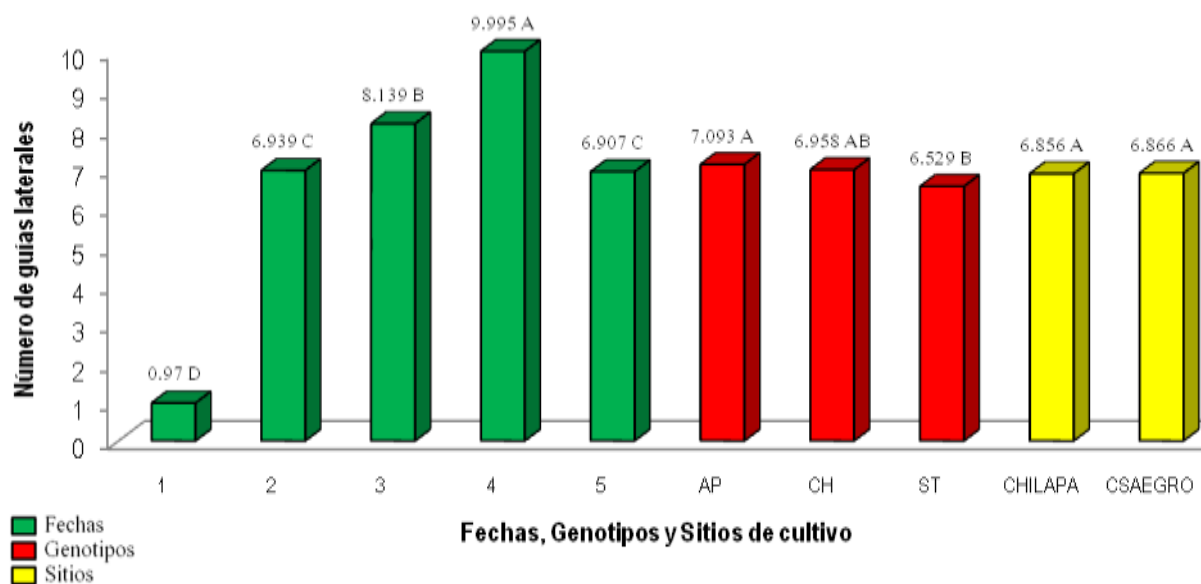


Figura 3.7. Número de guías laterales en función de la fecha de muestreo, genotipos y sitio de cultivo.

En estudios previos realizados en Cocula, Gro., por Lozano (2002), quien comparó el rendimiento de 10 genotipos de calabaza pipiana y observó una variación de 9 a 11 guías planta⁻¹. En otro ensayo realizado por Díaz (2011) para estudiar niveles de fertilización foliar en el genotipo AP, encontró que esta misma característica del vegetal, varío 7 a 13.

Número de frutos sanos (30 m²)

Para el sitio de cultivo CSAEGro se realizó un análisis individual porque esta variable se midió sólo una vez (fecha 3); presentó diferencias altamente significativas para los tres genotipos ($P=0.001$; $P<0.0001$; y $P=0.0002$) (Cuadros 7-A y 8-A del apéndice), la prueba de comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos en cada uno de los genotipos. Las plantas del genotipo Apipilulco no presentaron diferencias estadísticas en esta variable, por efecto de los tratamientos; pero formaron mayor cantidad de frutos planta⁻¹, que en aquellas del testigo, porque éstas tuvieron el menor promedio (1.43); aunque numéricamente, los fungicidas benomilo y quintozeno (PCNB), favorecieron más la formación de frutos sanos (3.64 y 3.77, respectivamente), que los demás productos asperjados al follaje. En el genotipo Chilapa, también benomilo y *T. asperellum* cepa CSAEGro fueron los mejores con 3.77 y 3.90 frutos, en comparación con el testigo, en donde se obtuvo el menor promedio (1.04). Finalmente en el genotipo Sta. Teresa, el benomilo continuó siendo el mejor tratamiento; seguido, en orden de importancia, por los tratamientos con propamocarb+fosetylo y el paquete *Bacillus* spp.+*Streptomyces* spp.,+*Trichoderma* spp., en las plantas tuvieron 3.90 frutos sanos (Cuadro 3.3).



Cuadro 3.3. Número de frutos sanos (30 m²) por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo CSAEGro.

Nº	Tratamiento	Genotipos		
		Apipilulco	Chilapa	Sta. Teresa
1	Benomil (benomilo 50%)	3.64 A ^a	3.77 A	4.68 A
2	Previcur [®] energy (propamocarb y fosetil)	3.12 A	3.38 AB	3.90 AB
3	Pentaclor* 600 F (quintozeno: PCNB 46%)	3.77 A	3.25 AB	3.51 B
4	Ridomil gold [®] Bravo (metalaxyl y clorotalonil)	3.12 A	2.73 B	2.86 B
5	PHC [®] Biopak-F [®] (<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)	3.25 A	3.12 AB	3.90 AB
6	Q 2000 (iodo libre)	3.12 A	3.25 AB	3.90AB
7	PHC [®] RootMate [®] (<i>T. virens</i> cepa G-41)	3.51 A	3.25 AB	3.25 B
8	<i>Trichoderma</i> Cepa CSAEGro (<i>T. asperellum</i>)	2.86 A	3.90 A	3.64 AB
9	<i>Trichoderma</i> Cepa CHILAPA (<i>T. asperellum</i>)	3.12 A	3.25 AB	3.38 B
10	Testigo (sin aplicación)	1.43 B	1.04 C	1.56 C
	LSD	0.98	0.82	1.11

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05).

El fungicida benomil se aplicó contra *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina*; sin embargo, este producto se ha usado ampliamente para el control de otros géneros de hongos, que afectan las partes aéreas de diversos cultivos (Thompson, 2012). Ha mostrado resultados efectivos en la reducción del crecimiento micelial de varios hongos, así como la inhibición de la esporulación y germinación de microconidios, atribuible a que presenta un modo de acción específico (Araujo *et al.*, 2008).

Los resultados obtenidos con este fungicida, en la presente investigación, coinciden con los reportados por Alcano *et al.* (2002), al evaluarlo contra *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*; los autores señalan un efecto inhibitor sobre este hongo, por lo que puede inferirse que, benomilo tiene una acción preventiva y curativa. En otros trabajos realizados con varios patógenos tratados con este producto químico, se ha notado que ha reducido considerablemente el número de colonias formadas, en comparación con el testigo, por el efecto inhibitor que tiene sobre hongo fitopatógenos (Gutiérrez y Gutiérrez, 2003; Pérez *et al.*, 2003).

El grupo de fungicidas que incluye propamocarb, fosetylo, metalaxil, mefenoxan y otros, es específico contra oomicetos, como *P. capsici*; en la mayoría de los casos, ejerce un buen control como el obtenido en esta investigación, por lo que contribuye a cosechar mayor cantidad de frutos sanos por unidad de superficie cultivada (Brown *et al.*, 2004; Gisi y Sierotzki, 2008).

La cepa de *T. asperellum* originaria del CSAEGro, también influyó en que se cosecharan mas frutos sanos; este efecto positivo se ha señalado en diversos reportes sobre el biocontrol ejercido por el género *Trichoderma* sobre hongos fitopatógenos. Al respecto, Correa *et al.* (2007) aislaron y evaluaron el efecto de varias cepas de *Trichoderma* sobre *S. rolfsii*; doce de éstas mostraron buen control contra



el patógeno. Este hongo benéfico se ha empleado como biocontrolador de oomicetes en diferentes cultivos, en donde se han logrado buenos resultados (Porras *et al.*, 2007; Leiva *et al.*, 2009).

Asimismo, *Bacillus subtilis* y *Streptomyces* spp. han demostrado su gran potencial como agentes biocontroladores de patógenos importantes como *P. capsici* (Yang *et al.*, 2012), *Fusarium* spp. (Zhang *et al.*, 2009), *S. rolfsii* (Abd, 2005) y *R. solani* (Narayana y Vijayalakshmi, 2009). En el presente ensayo, se confirmó el efecto positivo de la aspersión foliar en campo de *Bacillus* spp. y *Streptomyces* spp., para prevenir el ataque de hongos habitantes del suelo.

En el sitio de cultivo Chilapa, en el genotipo Apipiluco, el análisis de varianza (Cuadros 9-A y 10-A del apéndice) detectó diferencias significativas en esta variable, por efectos de fecha y tratamiento foliar ($P=0.03$ y $P=0.0007$). La prueba de comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos en cada uno de los genotipos. En la fecha 4 las plantas produjeron más frutos sanos (13.78), que en la fecha 5, en donde el promedio fue de 8.56 frutos sanos. Asimismo, la prueba de comparación múltiple de medias (LSD) diferenció a los tratamientos (químicos y biológicos) del testigo, porque en este se cosecharon menos frutos (5.08); aunque los productos aplicados al follaje fueron estadísticamente no diferentes, los valores promedios indican que la cepa *T. asperellum* CSAEGro, fue la más sobresaliente para propiciar la formación de la mayor cantidad de frutos sanos, con 13.28 (Figura 3.8).

En el genotipo Chilapa, el análisis de varianza (Cuadros 11-A y 12-A del apéndice) detectó diferencias significativas y altamente significativas en esta variable, por efectos de las fechas y los tratamientos ($P=0.002$ y $P<.0001$); además, la prueba de comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos, dentro de cada uno de los dos factores. Así, en la fecha 4 se registraron más frutos sanos (12.81), que en la fecha 5 (9.41). En cuanto a los tratamientos (químicos y biológicos), se determinó que tuvieron un comportamiento estadísticamente similares, pero fueron superiores al testigo, porque en éste se tuvo el menor promedio, que fue 3.32; sin embargo, al comparar numéricamente los tratamientos, se nota que benomilo y *T. virens* cepa G-41, presentaron los promedios superiores, con 13.57 y 13.28, respectivamente (Figura 3.9).

Finalmente, se encontró que en el genotipo Sta. Teresa, el análisis de varianza (Cuadros 13-A y 14-A del apéndice) detectó diferencias significativas en esta característica, para fechas y tratamientos ($P=0.06$ y $P=0.009$); en las cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos; de manera que, nuevamente la fecha 4 fue la más destacada, por tener un promedio 13.00 frutos sanos, en comparación con la fecha 5, en la que se registró un valor de 10.43, con respecto al efecto de los



tratamientos, se encontró que *T. asperellum* cepa Chilapa, favoreció la formación de mayor cantidad de frutos, al registrar una media de 14.84 (Figura 3.10).

A pesar de que la resistencia o aparición de tolerancia a benomil, como lo reportan varios autores (Gisi y Sierotzki, 2008), en el presente trabajo este ingrediente activo controló satisfactoriamente las infecciones fungosas, por lo que favoreció que hubiera mayor cantidad de frutos sanos en las unidades experimentales, debido a que presenta un amplio espectro de actividad y gran eficiencia para controlar enfermedades en varios cultivos (Mendoza, 1990; Araujo *et al.*, 2008; Velikorodov *et al.*, 2011).

La especie *T. asperellum* se ha utilizado con éxito en el manejo de enfermedades fungosas en diversos cultivos de importancia económica. Se han logrado resultados positivos contra patógenos del suelo (*R. solani*, *Fusarium* spp. *P. capsici* y *S. rolfii*), tanto en campo como en invernadero (Reyes *et al.*, 2008; Michel *et al.*, 2009; Infante *et al.*, 2011); los cuales, se han confirmado y son similares a los encontrados en esta investigación desarrollada en campo.

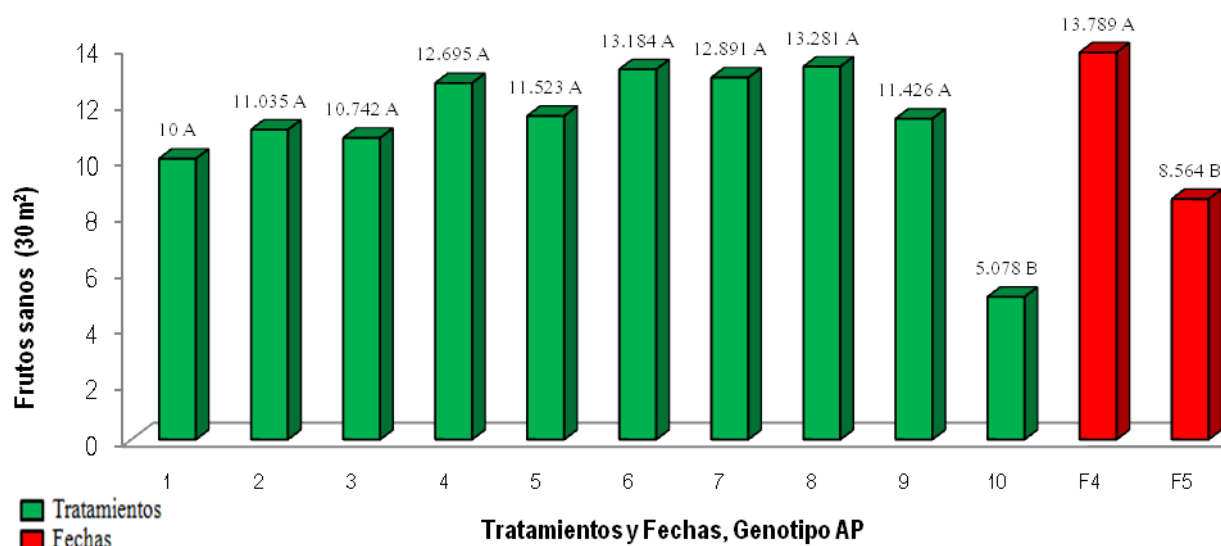


Figura 3.8. Número de frutos sanos (30 m²), en respuesta a los tratamientos y fecha de muestreo, en el genotipo Apipulco.

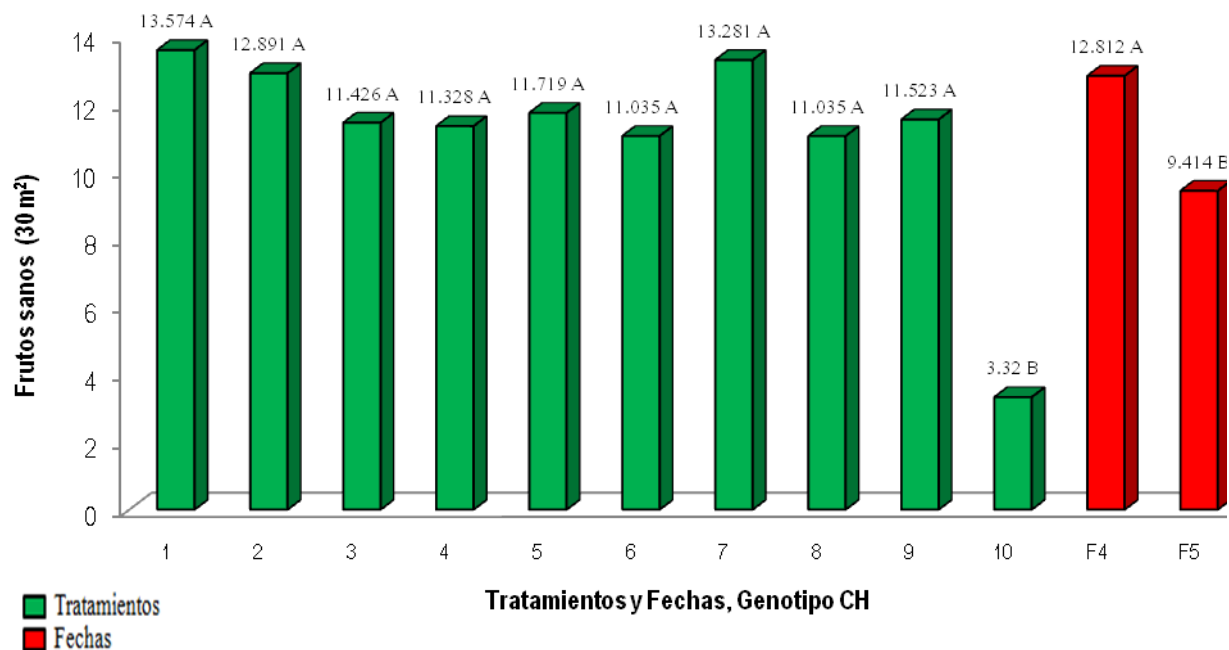


Figura 3.9. Número de frutos sanos (30 m²), en respuesta a los tratamientos y fecha de muestreo, en el genotipo Chilapa.

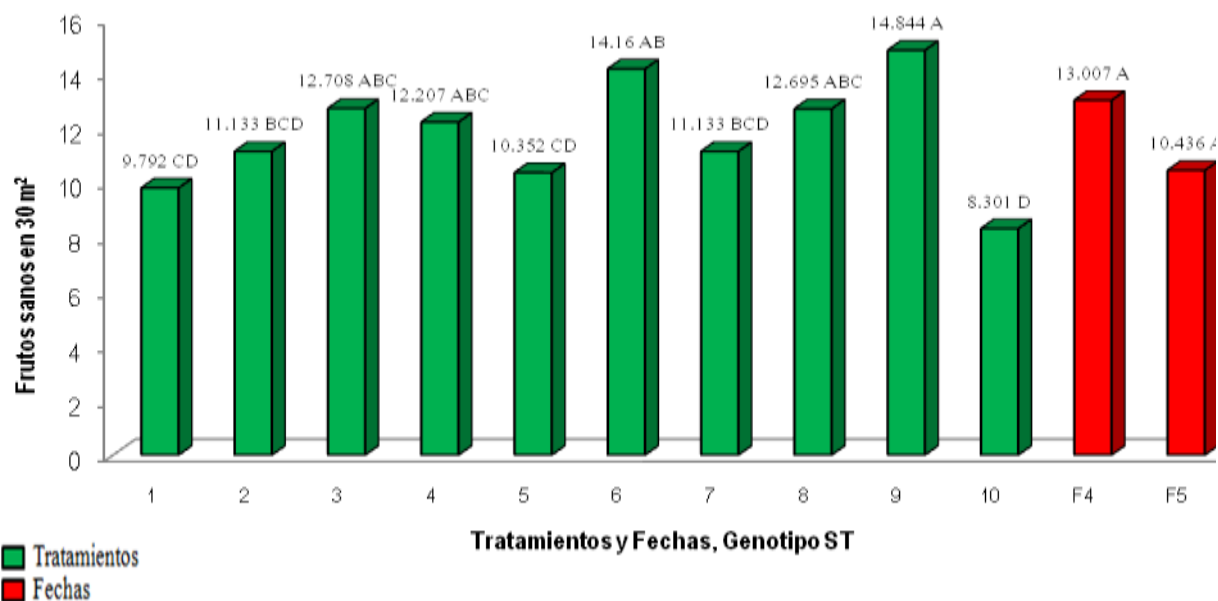


Figura 3.10. Número de frutos sanos (30 m²), en respuesta a los tratamientos y fecha de muestreo, en el genotipo Sta. Teresa.

Se realizó también un análisis combinado a través de los tres genotipos y fechas para cada uno de los sitios. En el sitio CSAEGro sólo se evaluó la fecha 3, en la cual esta variable tuvo diferencias altamente significativas (Cuadros 19-A y 20-A del apéndice) sólo para tratamientos ($P < .0001$). Los genotipos se comportaron estadísticamente no diferentes. El tratamiento metalaxil+clorotalonil fue el más



sobresaliente por tener el promedio mayor, con 4.03 frutos sanos, seguido por propamocarb+fosetylo y 8 *T. asperellum* cepa CSAEGro, cada uno de éstos con 3.47 (Cuadro 3.4).

En esta investigación los ingredientes activos metalaxil, propamocarb, y fosetyl, fueron los mejores porque permitieron que hubiera la mayor cantidad de frutos sanos. Los tres primeros compuestos se han usado ampliamente para el control de oomicetes y han tenido buenos resultados (Félix *et al.*, 2004; Kerns *et al.*, 2009; Ojiambo *et al.*, 2010). La especie *P. capsici* pertenece a este grupos de hongos; es un patógeno importante en el cultivo de calabaza pipiana porque destruye muchos frutos inmaduros, si no se realiza ningún tipo de control. Es importante mencionar que, el presente estudio es el primero donde investigan estos ingredientes activos formalmente en este cultivo, en donde se obtuvieron resultados favorables.

En el sitio de cultivo Chilapa en la fecha 4, el análisis de varianza (Cuadros 15-A y 16-A del apéndice) sólo mostró diferencias significativas para tratamientos ($P= 0.0003$), en los cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos; asimismo, se determinó que todos los tratamientos se comportaron mejor numéricamente que el testigo; los mejores fueron *T. asperellum* cepa CSAEGro y *T. asperellum* cepa Chilapa, ambos con promedios de 14.71 frutos sanos. Los genotipos no se diferenciaron estadísticamente; no obstante, el criollo de Apipilulco fue el más sobresaliente. En la fecha 5, nuevamente el análisis de varianza (Cuadros 17-A y 18-A) del apéndice sólo mostró evidencia altamente significativa para tratamientos ($P<.0001$); en los cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) sólo diferenció a los tratamientos del testigo; de los cuales, el más destacado fue el iodo libre. Los genotipos se comportaron estadísticamente similares, pero los promedios indican que el más sobresaliente, fue Sta. Teresa, por promediar 10.43 frutos sanos (Cuadro 3.4).

El rápido crecimiento, amplia plasticidad ecológica y producción de metabolitos antimicrobianos contribuyen al efecto biocontrolador de *Trichoderma* (Harman, 2006). Además, es importante mencionar que las cepas nativas (*T. asperulum* CSAEGro y *T. asperulum* Chilapa) utilizadas en este trabajo, representan una alternativa importante porque al asperjarlas *in situ* no se someten a condiciones agroecológicas contrastantes teniendo un crecimiento y desarrollo rápido, ejerciendo un buen control sobre patógenos.



Cuadro 3.4. Número de frutos sanos (30 m²) por tratamiento y fechas de muestreo en los dos sitios de cultivo.

N°	Tratamientos	Sitios de cultivo		
		CSAEGro	Chilapa	
		Fecha 3	Fecha 4	Fecha 5
1	Benomil (benomilo 50%)	4.03 A	12.76 A	9.44 A
2	Previcur® energy (propamocarb y fosetil)	3.47 B	13.54 A	9.83 A
3	Pentaclor* 600 F (quintozeno: PCNB 46%)	3.51 AB	13.41 A	9.71 A
4	Ridomil gold® Bravo (metalaxyl y clorotalonil)	2.90 C	13.47 A	10.67 A
5	PHC® Biopak-F® (<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)	3.42 BC	13.28 A	9.11 A
6	Q 2000 (iodo libre)	3.42 BC	14.51 A	11.06 A
7	PHC® Root Mate® (<i>T. virens</i> cepa G-41)	3.34 BC	14.64 A	10.22 A
8	<i>Trichoderma</i> Cepa CSAEGro (<i>T. asperellum</i>)	3.47 B	14.71 A	9.96 A
9	<i>Trichoderma</i> Cepa CHILAPA (<i>T. asperellum</i>)	3.25 BC	14.71 A	10.48 A
10	Testigo (sin aplicación)	1.34 D	6.96 B	4.16 B
LSD		0.56	3.35	2.46
Genotipo				
1	Apipilulco	3.09 A	13.78 A	8.56 A
2	Chilapa	3.09 A	12.81 A	9.41 A
3	Sta.Teresa	3.46 A	13.00 A	10.43 A
LSD		0.43	4.33	3.09

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

También se efectuó un análisis combinado a través de los dos sitios de cultivo y los tres genotipos. Se encontraron diferencias significativas (Cuadros 21-A y 22-A del apéndice) por efectos de tratamientos y sitios de cultivo ($P < 0.0001$ y $P = 0.0018$); pero los genotipos no exhibieron a diferencias estadísticas. La comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos; de tal manera que, los tratamientos químicos y biológicos fueron superiores al testigo; se nota que, numéricamente el iodo libre, fue el que obtuvo el mayor número de frutos sanos (4.03), seguido *T. asperellum* cepa Chilapa y *T. virens* cepa G-41, con medias respectivas de 9.48 y 9.40. El mejor sitio de cultivo fue Chilapa, porque en éste las plantas produjeron el mayor número de frutos sanos (11.35), en comparación con el sitio CSAEGro que tuvo un promedio de 3.22 (Figura 3.11).

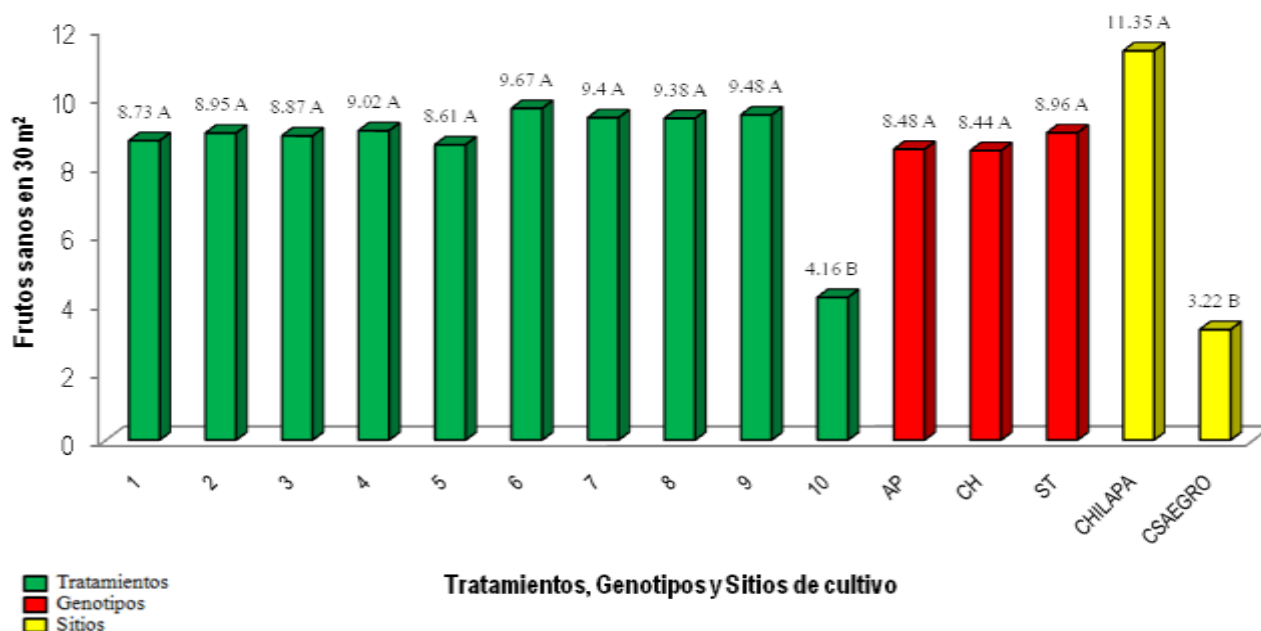


Figura 3.11. Número de frutos sanos (30 m²), en respuesta a los tratamientos, genotipos y sitios de cultivo.

Número de frutos dañados (30 m²)

Para el sitio de cultivo CSAEGro sólo se realizó un análisis individual, debido a que esta variable se midió en una sola fecha (fecha 3). El análisis de varianza (Cuadros 7-A y 8-A del apéndice) detectó diferencias altamente significativas para los tres genotipos ($P < .0001$; $P < .0001$; y $P < .0001$). La prueba de comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos dentro de cada genotipo. Así, se encontró que en el material criollo Apipilulco, los mejores tratamientos fueron metalaxyl+clorotalonil, *T. virens* cepa G-41 y *T. asperellum* cepa Chilapa, porque en éstos no hubo frutos dañados, comparativamente, en el testigo se presentó el mayor promedio (5.21). Asimismo, en el criollo Chilapa, los más destacados fueron *T. virens* cepa G-41 y *T. asperellum* cepa CSAEGro, porque no permitieron daño en ningún fruto, en cambio, en el testigo se registró el mayor valor (5.08). En el genotipo Sta. Teresa sólo el tratamiento con *T. asperellum* cepa CSAEGro tuvo el menor número de frutos dañados, y estadísticamente fue el mejor, al igual que los tratamientos 2, 3, 4, 7 y 9 (Cuadro 3.5).



Cuadro 3.5. Número de frutos dañados (30 m²) por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo Chilapa.

N°	Tratamientos	Genotipo		
		Apipilulco	Chilapa	Sta. Teresa
1	Benomil (benomilo 50%)	2.65 B ^a	2.26 B	2.00 B
2	Previcur [®] energy (propamocarb y fosetil)	0.13 D	0.13 C	0.26 C
3	Pentaclor* 600 F (quintozeno: PCNB 46%)	0.39 D	0.13 C	0.13 C
4	Ridomil gold [®] Bravo (metalaxyl y clorotalonil)	0.00 D	0.13 C	0.13 C
5	PHC [®] Biopak-F [®] (<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)	0.39 D	0.13 C	0.13 C
6	Q 2000 (iodo libre)	2.00 C	2.26 B	2.00 B
7	PHC [®] Root Mate [®] (<i>T. virens</i> cepa G-41)	0.00 D	0.00 C	0.13 C
8	<i>Trichoderma</i> Cepa CSAEGro (<i>T. asperellum</i>)	0.13 D	0.00 C	0.00 C
9	<i>Trichoderma</i> Cepa CHILAPA (<i>T. asperellum</i>)	0.00 D	0.13 C	0.13 C
10	Testigo (sin aplicación)	5.21 A	5.08 A	5.08 A
LSD		0.60	0.386	0.29

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob = 0.05)

El ingrediente activo metalxil, en este trabajo se aplicó para disminuir los daños de *P. capsici*, que es un oomiceto importante en el cultivo de calabaza pipiana, porque se ha observado en las regiones de estudio, que pudre flores y frutos pequeños durante las etapas fenológicas de floración femenina e inicio de desarrollo de frutos (frutos tiernos) (Sergio Ayvar Serna, comunicación personal, 2012; Díaz, 2011).

Los fungicidas del grupo de las fenilamidas, al que pertenece el metalaxil, desde su descubrimiento en 1977 (Mendoza, 1990), han mostrado un control eficaz de enfermedades causadas por miembros de la orden Peronosporales pertenecientes al reino Chromista y clase Oomictes (Mendoza, 1990; Gisi y Cohen, 1999). Sin embargo, después de 2 años de introducción, se reportaron los primeros aislamientos de *Peronospora cubensis* resistentes a metalaxil en Israel (Reuveni *et al.*, 1980).

La especie *T. virens* es uno de los más versátiles y eficientes agentes de control biológico (Harman *et al.*, 2008), como lo demostró en campo en este trabajo. La especie contiene un arsenal de mecanismos y metabolitos antimicrobianos, que le dan la capacidad para controlar un amplio espectro de diferentes patógenos responsables de diversas enfermedades (Howell, 2006; Navazio *et al.*, 2007; Mastouri *et al.*, 2010).

En el sitio de cultivo Chilapa, el análisis de varianza (Cuadro 9-A del apéndice) detectó diferencias significativas en esta variable para fechas y tratamientos. La prueba de comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos en cada uno de los genotipos.

En el genotipo Apipilulco existió diferencia significativa (Cuadros 9-A y 10-A del apéndice) entre los tratamientos y fechas ($P=0.0003$ y $P=0.02$); se determinó que hubo menor daño en las unidades



experimentales tratadas con propamocarb+fosetylo, *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. y *Trichoderma* spp. en la fecha 5, con 3.74 frutos dañados; no obstante, en la fecha 4 se registró el mayor promedio (6.59), y coincidió que en ella, la planta expresó el mayor potencial de producción de frutos (Figura 3.12).

Varios autores reportan que los ingredientes activos fosetylo, propamocarb y metalaxil son efectivos para suprimir el crecimiento micelial e inhibir la formación de esporangios de oomicetes, cuando se utilizan tanto *in vitro* como en condiciones de campo (Quiroga *et al.*, 2004; Cook *et al.*, 2009); particularmente, el fosetylo promueve mecanismos de defensa en las plantas para que resistan la infección de oomicetes (Gómez y Reis, 2011). En este experimento, estos productos demostraron un buen control.

Por otra parte, Ming *et al.* (2012) y Zeriuoh *et al.* (2011) citan que *Bacillus subtilis* tiene gran potencial como biocontrolador, debido a la producción de metabolitos secundarios con actividad antifúngica, así como esporas que aseguren la permanencia en diversos hábitats bajo condiciones ambientales adversas. Asimismo, Joo (2005) y Zhu *et al.* (2008) comentan que varias especies de *Streptomyces* spp. producen importantes enzimas quitinolíticas, que son las responsables del excelente control que tienen de hongos fitopatógenos. En el presente trabajo, el tratamiento PHC Biopack-f está formulado a base de diferentes cepas de *Bacillus* y *Streptomyces*, y ejerció un buen control en campo.

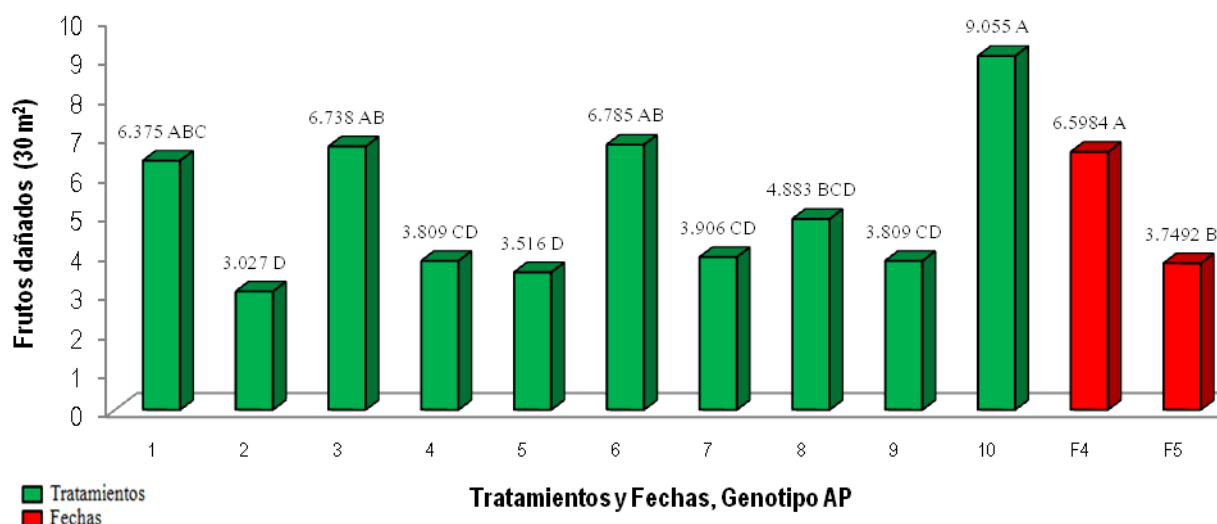


Figura 3.12. Número de frutos dañados (30 m²), por tratamiento y fecha de muestreo en el genotipo Apipilulco cultivado en el sitio Chilapa.

El ANOVA (Cuadros 11-A y 12-A del apéndice) identificó diferencia significativa en el genotipo Chilapa para tratamientos y fechas ($P=0.003$ y $P=0.05$). La prueba de comparación múltiple de medias (LSD)



diferenció a los tratamientos y se determinó que metalaxil+clorotalonil fue el mejor porque en éste hubo el menor número de frutos dañados (3.32), en comparación con el testigo (9.25). Las fechas tuvieron un comportamiento estadísticamente similar (Figura 3.13).

En el genotipo Sta. Teresa, el ANOVA (Cuadros 13-A y 14-A del apéndice) encontró diferencias significativas para tratamientos y fechas ($P < .0001$ y $P = 0.03$). La comparación múltiple de medias (LSD) diferenció varios grupos y se determinó que los mejores tratamientos fueron el 1, 2, 3, 4, 5, 7 y 8; sin embargo, el más destacado fue metalaxil+clorotalonil, por tener un promedio de 4.00, en contraste con el testigo que presentó 11.00 frutos dañados (Figura 3.14).

El producto comercial Ridomil Gold® Bravo tiene los ingredientes activos metalaxil y clototalonil; ha demostrado ser un fungicida eficaz en el control de oomicetos (Hill y Hausbeck, 2008); presenta la versatilidad, de que el clorotalonil actúa como protectante y es de acción multisitio, lo ayuda a retrasar la evolución de la resistencia en estos microorganismos (Félix *et al.*, 2004; Gisi y Sierotzki, 2008).

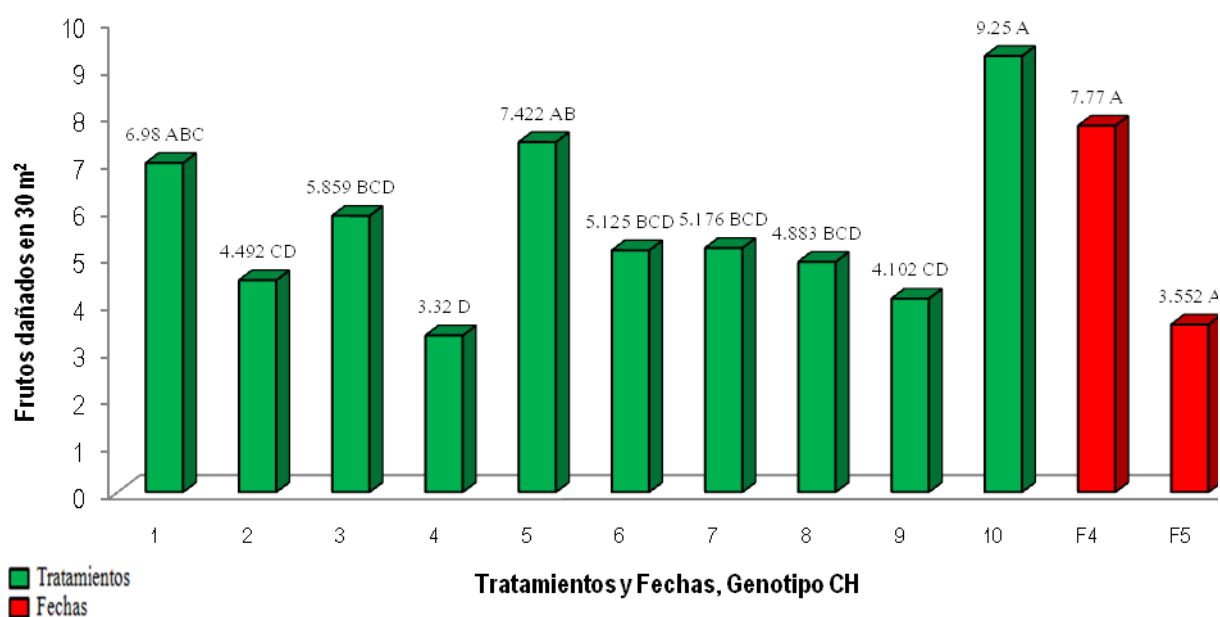


Figura 3.13. Número de frutos dañados (30 m²), por tratamiento y fecha de muestreo para el genotipo Chilapa cultivado en el sitio Chilapa.

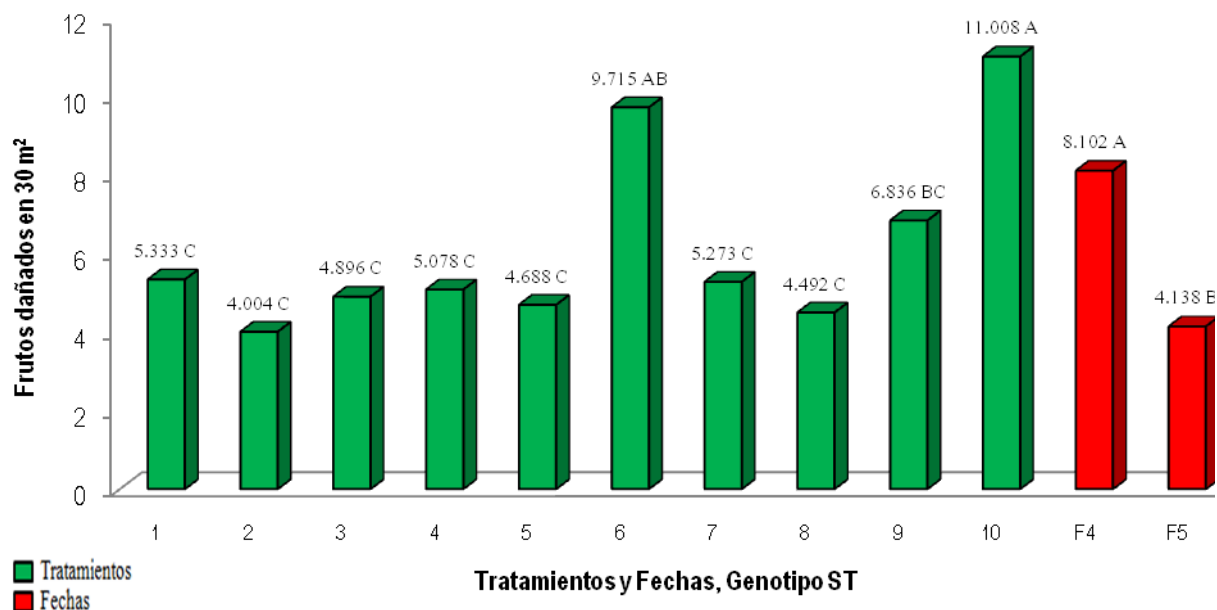


Figura 3.14. Número de frutos dañados (30 m²), por tratamiento y fecha de muestreo para el genotipo Sta. Teresa cultivado en el sitio Chilapa.

Se realizó un análisis combinado a través de los tres genotipos y fechas para cada uno de los sitios de cultivo. En el CSAEGro, sólo se evaluó la fecha 3 y en Chilapa, las fechas 4 y 5. En el primero de éstos sitios, el ANOVA (Cuadros 19-A y 20-A del apéndice) identificó diferencia altamente significativa sólo para tratamientos ($P < .0001$). La comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos en los tratamientos; en los cuales, hubo menos frutos dañados en las unidades experimentales tratadas con propamocarb+fosetyl, metalaxil+clorotalonil, *Bacillus* spp.+*Streptomyces* spp.+ *Trichoderma* spp.; *T. virens* cepa G-41; *T. asperellum* cepa CSAEGro y *T. asperellum* cepa Chilapa; comparativamente con todos éstos, el testigo registró 5.12 frutos dañados. Los genotipos se comportaron estadísticamente no diferentes; sin embargo, el Apipilulco registró un promedio mayor que 1 (Cuadro 3.6).

En cualquier producto químico utilizado como un agente de control de una enfermedad, se debe tener en cuenta el modo de acción de la molécula sobre uno o más sitios fisiológicos del ciclo de vida del patógeno. Por esto, el metalaxil es eficiente para inhibir la formación de esporangios de diferentes especies de *Phytophthora* (Matheron y Porchas, 2000); en el presente experimento se observó un buen control ejercido por esta molécula en condiciones de campo.

Las especies *B. cereus* y *B. megaterium* promueven el crecimiento de plantas e inducen también resistencia contra un amplio espectro de patógenos (Segarra *et al.*, 2009; Rudrappa *et al.*, 2010; Dong *et al.*, 2011). Asimismo, diversos autores han comprobado que varias especies de *Streptomyces* controlan eficazmente a *Sclerotinia sclerotiorum* (Baniyadi *et al.*, 2009), *R. solani* y *S. rolfsii* (Sadeghi



et al., 2006; Errakhi *et al.*, 2007), *Phytophthora* spp. (Ezziyyani *et al.*, 2007) y *Fusarium* spp. (Minuto *et al.*, 2006).

Las especies del género *Trichoderma* se conocen por su gran capacidad para colonizar una amplia variedad de nichos ecológicos, así como antagonizar y controlar numerosos hongos patógenos de plantas (Ruocco *et al.*, 2009). También tienen efectos benéficos directos sobre las plantas, incluida la mejora de crecimiento, la asimilación de nutrimentos y la resistencia sistémica a patógenos (Yedidia *et al.*, 2000; Woo *et al.*, 2006). Sin embargo, es importante tener en cuenta que, con una mezcla de diferentes microorganismos de control biológico, es posible una mejor supresión de los patógenos.

El uso de microorganismos del género *Bacillus* como agentes biocontroladores de patógenos de plantas, ha resultado favorable y es una alternativa para disminuir el empleo de plaguicidas químicos (Lim y Kim, 2010; Pliego *et al.*, 2011; Poleatewich *et al.*, 2012). Por ejemplo, *B. cereus* promueve el crecimiento e induce resistencia de las plantas contra un amplio espectro de patógenos, incluyendo *Pseudomonas syringae* (López *et al.*, 2007; Segarra *et al.*, 2009; Verhagen *et al.*, 2011). Además, *B. megaterium* impulsa el crecimiento y arquitectura del sistema radical, a través de un mecanismo de señalización por medios de auxinas y etileno (Mew *et al.*, 2004; Rudrappa *et al.*, 2010; Dong *et al.*, 2011).

Para el sitio de cultivo Chilapa en la fecha 4, el ANOVA (Cuadros 15-A y 16-A del apéndice) mostró diferencias significativas sólo para tratamientos ($P= 0.0005$). La prueba de comparación múltiple de medias (LSD) separó varios grupos en los tratamientos; de los cuales, destacaron propamocarby+fosetylo y metalaxil+clorotalonil, por tener los promedios menores (5.01 y 4.75 frutos dañados) con respecto al testigo (11.33). Los genotipos no se diferenciaron estadísticamente; sin embargo, Apipilulco obtuvo el menor número de frutos dañados, con 6.59.

El control químico es un enfoque actual para el manejo de enfermedades ocasionadas por *Phytophthora*; se utilizan comúnmente mefenoxam, metalaxil, propamocarb, fosetil aluminio y etridiazol. Cada uno de estos fungicidas tiene un modo de acción único, con una buena acción protectora y curativa (Hu *et al.*, 2007). Para lograr los mejores resultados, se debe tener en cuenta las etapas del ciclo de vida de patógenos como *Phytophthora* spp., porque la formación de esporangios y la liberación de zoosporas proporcionan una mayor y rápida oportunidad para la acumulación de propágulos infecciosos y mayor potencial de infección y desarrollo de la enfermedad (Zitter *et al.*, 2004). Al respecto, Matheron y Porchas (2000) demostraron en evaluaciones realizadas a través de años, que el uso de fosetylo suprime significativamente la formación de esporangios, la duración de la motilidad y la



germinación de zoosporas y clamidosporas, lo que reduce la capacidad de *Phytophthora* spp., para causar enfermedades. Sin embargo, Brown *et al.* (2004) citan que, en el caso de metalaxil para el control eficaz de oomicetos, las aplicaciones deben ser preventivas y no curativas. En la presente investigación todos los productos se aplicaron en forma preventiva antes del inicio de fructificación, con la finalidad de proteger a los frutos tiernos.

En la fecha 5 del sitio de cultivo Chilapa, nuevamente el análisis de varianza (Cuadros 17-A y 18-A del apéndice) sólo mostró variaciones altamente significativa por efecto de los tratamientos sobre esta variable ($P < .0001$). Al efectuar la comparación múltiple de medias (LSD) se encontró que todos los tratamientos se diferenciaron del testigo; pero destacaron, por tener menos frutos afectados, propamocarb+fosetyl; quintozeno: PCNB; *Bacillus* spp.+*Streptomyces* spp.+*Trichoderma* spp; *T. virens* cepa G-41; y *T. asperellum* cepa Chilapa, con promedios de 2.66, 2.98, 2.21, 2.60 y 2.73 frutos, respectivamente. Los genotipos se comportaron estadísticamente similares, pero el menor valor se obtuvo en el genotipo Chilapa (3.55), y resultó más susceptible a la pudrición, el criollo Sta. Teresa (4.14), que es un genotipo introducido (Cuadro 3.6).

Los resultados obtenidos en la presente investigación, acerca del control de *P. capsici*, asperjando el compuesto propamocarb+fosetil-Al, son similares a los descritos por Hu *et al.* (2007). El fosetil-Al tiene la característica de ser fácilmente absorbidos y translocado sistémicamente a través de los tejidos de la planta; además, en ésta estimula reacciones de defensa (Gisi y Sierotzki, 2008; Gómez y Reis, 2011), por lo que se utiliza frecuentemente contra oomicetos.

El producto comercial Pentaclor 600F, cuyo ingrediente activo es el quintozeno, al igual que otros fungicidas, permitió menor incidencia de frutos dañados. En general, se utiliza contra hongos habitantes del suelo, como *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina*. Se acepta que la fungitoxicidad se debe al aumento de la peroxidación de lípidos en las membranas celulares; asimismo, el producto interacciona con las enzimas involucradas en el transporte electrónico, bloquea a éste e induce la generación de radicales libres, que conllevan a la peroxidación de la membrana (Mendoza, 1990; Femenía, 2007).

Los productos biológicos con acción fungicida compuestos por más de un microorganismo como ingrediente activo, potencializan el control de patógenos; tal es el caso de PHC Biopack-f, que contiene la mezcla de los microorganismos *Streptomyces* spp.+*Trichoderma* spp., entre otros (Joo, 2005; El-Katatny y Emam, 2012).



Cuadro 3.6. Número de frutos dañados (30 m²) por tratamiento y fecha de muestreo en los dos sitios de cultivo.

Nº	Tratamiento	Sitio de cultivo		
		CSAEGro	Chilapa	
		Fecha 3	Fecha 4	Fecha 5
1	Benomil (benomilo 50%)	2.30 B	7.59 BC	4.769 BC
2	Previcur® energy (propamocarb y fosetil)	0.17 C	5.013 C	2.6693 D
3	Pentaclor* 600 F (quintozeno: PCNB 46%)	0.21 C	8.59 AB	2.9891 D
4	Ridomil gold® Bravo (metalaxyl y clorotalonil)	0.08 C	4.753 C	3.385 CD
5	PHC® Biopak-F® (<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)	0.21 C	8.203 B	2.2135 D
6	Q 2000 (iodo libre)	2.0868 B	9.096 AB	5.3203 B
7	PHC® Root Mate® (<i>T. virens</i> cepa G-41)	0.0434 C	6.966 BC	2.6042 D
8	<i>Trichoderma</i> Cepa CSAEGro (<i>T. asperellum</i>)	0.0434 C	6.250 BC	3.255 CD
9	<i>Trichoderma</i> Cepa Chilapa (<i>T. asperellum</i>)	0.0868 C	7.096 BC	2.7344 D
10	Testigo (sin nada)	5.1267 A	11.333 A	8.2083 A
LSD		0.2557	2.9286	1.6608
Genotipo				
1	Apipilulco	1.0906 A	6.5984 A	3.7492 A
2	Chilapa	1.0255 A	7.7703 A	3.5516 A
3	Sta. Teresa	0.9995 A	8.1023 A	4.1378 A
LSD		0.1953	1.8307	2.0923

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob= 0.05)

Finalmente, se realizó un análisis combinado a través de los dos sitios de cultivo y los tres genotipos. Se mostraron diferencias significativas (Cuadros 21-A y 22-A del apéndice) para tratamientos y sitios de cultivo ($P < 0.0001$ y $P = 0.0005$). En la comparación múltiple de medias (LSD) se separaron varios grupos, aunque no existió diferencia estadística entre genotipos. El compuesto propamocarb+fosetylo registró el menor daño en frutos (2.62), seguido de metalaxil+clorotalonil (2.74); el testigo promedió 8.22. El genotipo Apipilulco fue el más destacado por obtener el menor número de frutos dañados (3.81). Sin embargo para sitios de cultivo, en Chilapa se tuvo el mayor daño, pero también, la mayor producción de frutos, porque el ambiente es más favorable para el desarrollo y productividad de la planta (Figura 3.15).

May y Kimati (2000) consideran que, aunado a las aplicaciones de propamocarb contra *P. capsici*, es recomendable aplicar en mezcla a *Trichoderma* spp., como una estrategia de manejo integrado. Todos los tratamientos en esta investigación se asperjaron al follaje. Al respecto, Quiroga *et al.* (2004), citan que el fosetil aluminio y Ridomil Gold® Bravo SC (metalaxil+clorotalonil) aplicados al follaje han resultado efectivos, tanto en niveles bajos y altos de la enfermedad.

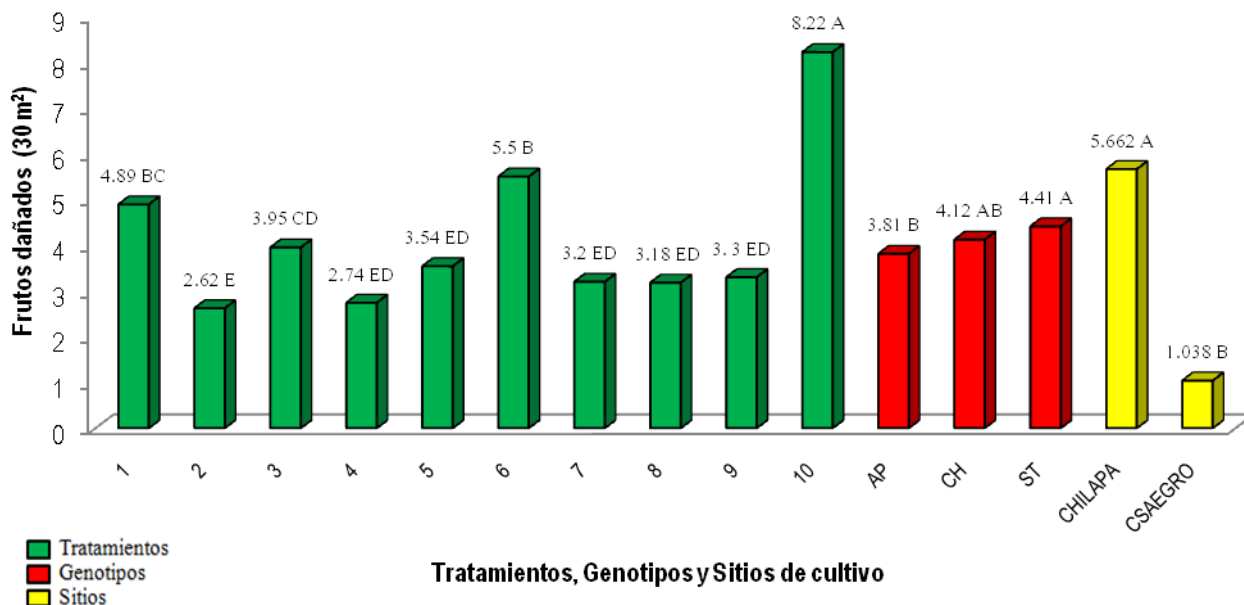


Figura 3.15. Número de frutos dañados (30 m²) por tratamiento, genotipos y sitios de cultivo.

Diámetro vertical del fruto

Para determinar el comportamiento de los genotipos utilizados en esta investigación, también se tomaron en cuenta las características del fruto. En el de la calabaza pipiana, son importantes la forma, tamaño, peso y tipo de semilla, que es el principal producto aprovechable. Es deseable tener frutos de cavidad grande con la finalidad de que se albergue la mayor cantidad posible de semillas fecundadas.

Se realizó un análisis de varianza combinado a través de los tres genotipos para cada sitio de cultivo. En el CSAEGro, los datos obtenidos y el análisis de varianza (Cuadros 37-A y 38-A del apéndice), indican que esta característica presentó diferencias significativas sólo para tratamientos ($P=0.0004$), en los cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) formó dos grupos, y se determinó que las aspersiones de quintozeno: PCNB) y *T. virens* cepa G-41, influyeron positivamente para que la planta produjera frutos con los mayores diámetros verticales. Asimismo, se encontró que los genotipos tuvieron un comportamiento estadísticamente similar (Cuadro 3.7).

En el sitio de cultivo Chilapa, el anova (Cuadros 35-A y 36-A del apéndice) mostró diferencia significativa marginal sólo para genotipos ($P=0.06$), en los cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) formó varios grupos; pero el criollo Apipilulco produjo los frutos con el mayor diámetro vertical (Cuadro 3.8).



En trabajos previos realizados en la zona, con calabaza pipiana, Cortés (2004), Gómez (2004) y Lozano (2002) reportaron promedios respectivos de 51, 45 y 51.42 cm en esta característica, valores mayores que 24 cm, registrado en el presente trabajo.

Diámetro horizontal del fruto

Se realizó un análisis de varianza combinado a través de los tres genotipos para cada sitio de cultivo. En el CSAEGro, los datos obtenidos y el análisis de varianza (Cuadros 35-A y 36-A del apéndice), indican que esta característica mostró diferencias significativas sólo para genotipos ($P=0.01$); en los cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) diferenció dos grupos, en uno de éstos se ubicó Apipilulco por tener los frutos con el promedio más alto (21.11 cm). En cuanto a los tratamientos, se determinó que en éstos no existió diferencia significativa, pero los valores promedio demuestran que los frutos producidos por las plantas tratadas con *T. asperellum* cepa Chilapa), fueron los que tuvieron el mayor diámetro horizontal (Cuadro 3.6).

Para el sitio de cultivo Chilapa, el ANOVA (Cuadros 35-A y 36-A del apéndice) sólo detectó evidencia significativa para genotipos ($P=0.006$); en los cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) formó dos grupos; en uno se ubicaron Apipilulco y Sta. Teresa, que sobresalieron por tener los promedios mayores, con 17.33 y 16.21 cm, respectivamente; aunque no existió diferencia significativa entre los tratamientos, los valores promedios indican que, en el tratamiento con *T. asperellum* cepa CSAEGro, se cosecharon los frutos de mayor diámetro horizontal (Cuadro 3.8).

El promedio general de 15.3 cm obtenido en esta variable, es mayor que las medias de 12.16 y 12.34 cm, obtenidas por Cortés (2004) y Gómez (2004), respectivamente, en investigaciones previas realizadas con el genotipo Apaxtla en los campos experimentales del CSAEGro, localizado en la región norte de Guerrero; en donde está el valle del Zoquital de Apipilulco, que es una región productora importante, en donde la experiencia en el cultivo ha permitido determinar que, los frutos de talla media son los que registran comúnmente el mayor número de semillas y de mayor calidad, en comparación con frutos muy pequeños o muy grandes que producen materiales criollos cultivados en comunidades como Huitzuco, Ceja Blanca, Coacoyula y otras (Díaz, 2011; Sergio Ayvar Serna, comunicación personal, 2012). El genotipo criollo de Apipilulco, municipio de Cocula, Gro., se considera el más prometedor para cultivarlo con fines comerciales en la zona norte del estado de Guerrero.



Longitud de la cavidad del fruto

Se realizó un análisis de varianza combinado a través de los tres genotipos para cada sitio de cultivo. En el CSAEGro, los datos obtenidos y el análisis de varianza (Cuadros 37-A y 38-A del apéndice), indican que esta característica mostró diferencias significativas sólo para genotipos ($P= 0.03$); en los cuales, al igual que las variables anteriores, la comparación múltiple de medias (LSD) diferenció dos grupos; en uno, se ubicó Apipilulco con el mayor promedio, de 15.74 cm. Aunque no existió diferencia significativa entre los tratamientos, los promedios obtenidos indican que *T. asperellum* cepa Chilapa, fue el que obtuvo la longitud más destacada, con 15.47 (Cuadro 3.7).

De igual forma para el sitio Chilapa, sólo existió evidencia significativa (Cuadros 35-A y 36-A del apéndice) para genotipos ($P= 0.007$); en éstos, la comparación múltiple de medias (LSD) diferenció como el grupo más destacado, el integrado por Apipilulco y Sta. Teresas el AP y ST, porque tuvieron los mayores promedios, con 14.95 y 14 cm, respectivamente; tampoco existió diferencias significativa para tratamientos, pero los frutos con la cavidad (14.37 cm), se cosecharon en las plantas tratadas con *T. asperellum* cepa CSAEGro (Cuadro 3.8).

En ensayos previos Lozano (2002) y Cortés (2004) reportaron, en esta misma característica del fruto, promedios de 14.90 y 14.16 cm, respectivamente; los cuales son similares a 15 cm, obtenido en la presente investigación, con los genotipos Apipilulco y Sta. Teresa. Asimismo, Sánchez *et al.* (2004) reportó una media general de 16.40 cm, obtenida de frutos de genotipos criollo en Chapingo Edo. de México.

Grosor de la pulpa del fruto

Al igual que en las variables anteriores, se realizó un análisis de varianza combinado a través de los tres genotipos para cada sitio de cultivo. En el CSAEGro, los datos obtenidos y el análisis de varianza (Cuadros 37-A y 38-A del apéndice), indican que esta variable registró diferencias significativas sólo para tratamientos ($P=0.007$), en los cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) formó diferentes grupos, y se determinó que los frutos con pulpa más gruesa, se cosecharon en las plantas tratadas con *T. vires* cepa G-41 y *T. asperellum* cepa Chilapa, que en los dos casos, el promedio fue de 5.63 cm. Los genotipos se comportaron estadísticamente similares (Cuadro 3.7).

En el sitio de cultivo Chilapa, los datos y el ANOVA (Cuadros 35-A y 36-A del apéndice), mostraron que existió diferencia significativa solo para genotipos ($P= 0.02$); en los cuales, la comparación múltiple de



medias (LSD) formó tres grupos; en uno se ubicó Apipilulco como el mejor, con 2.37 cm de grosor de la pulpa del fruto. Los tratamientos se comportaron estadísticamente similares (Cuadro 3.8).

En la presente investigación, se obtuvo una media general de 2.63 cm, que supera al promedio de 2.02 cm de grosor de la pulpa del fruto del genotipo Apaxtla, reportado por Gómez (2004); así como también, a la media general de 1.70 cm, registrada por Cortés (2004), en este mismo material genético cultivado en los campos experimentales del CSAEGro. Por otro lado, Lozano (2002) obtuvo 2.55 cm en un ensayo donde comparó el rendimiento de 10 genotipos, entre ellos, el de Apipilulco. En otros ensayos realizados en los campos experimentales de Chapingo, Sánchez *et al.* (2002) y Sánchez *et al.* (2004) reportan valores similares de esta variable, en dos genotipos de calabaza pipiana. Sin embargo, es importante mencionar que esta característica del fruto no es determinante y/o no está relacionada con el rendimiento y la calidad de la semilla obtenidos por unidad de superficie, porque comúnmente, la pulpa del fruto es un esquilmo utilizado para alimentar animales domésticos, o si no, se desecha (Sergio Ayvar Serna, comunicación personal, 2012).

Peso de semilla seca

Para esta variable también se realizó un análisis de varianza combinado a través de los tres genotipos para cada sitio de cultivo. En el sitio de cultivo CSAEGro, los datos obtenidos y el análisis de varianza (Cuadros 37-A y 38-A del apéndice), indicaron que esta variable obtuvo diferencias significativas marginal sólo para tratamientos ($P= 0.06$); en los cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) integró diferentes grupos, pero en las unidades experimentales asperjadas con metalaxil+clorotalonil y *T. asperellum* cepa CSAEGro, se registraron los mayores promedios de peso de semilla seca por fruto, con 71.34 y 71.89 g, respectivamente. Los genotipos tuvieron un comportamiento estadísticamente similar; sin embargo, numéricamente el genotipo Apipilulco destacó por obtener el mayor peso (Cuadro 3.7).

En el sitio de cultivo Chilapa, el ANOVA (Cuadros 35-A y 36-A del apéndice) no detectó diferencia significativa; sin embargo, al realizar la comparación múltiple de medias (LSD) se formaron diferentes grupos sólo en los tratamientos; de los cuales, *T. asperellum* cepa CSAEGro fue el más sobresaliente por lograr el mayor promedio (100.22 g). Los frutos del criollo Sta. Teresa destacaron por presentar el mayor peso de semilla seca, de 95.64 g (Cuadro 3.8).

En un experimento previo realizado en los lotes San Juan y San Martín del Campo Agrícola Experimental de la Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México., Sánchez *et al.* (2004) reportaron una media general de 65 g de semilla seca por fruto, valor similar a 66 g obtenido en el sitio



CSAEGro, pero inferior a 93.64 cm registrado en el sitio de cultivo Chilapa, en la presente investigación. Asimismo, Garza *et al.* (2010) evaluaron diferentes líneas y criollos de calabaza pipiana, reportaron una media general de 83.2 g en esta misma variable, la cual es superior al promedio de sitio CSAEGro pero inferior al obtenido en Chilapa. De igual forma, Sánchez *et al.* (2000) evaluó la variación genética y la respuesta a la selección combinada en una variedad criolla de calabaza pipiana; obtuvieron una media de 41.43 g de semilla seca por fruto; valor que es inferior a los promedios encontrados en esta investigación. En otro ensayo experimental realizado en terrenos del CSAEGro por Cortés (2004), se registró una media de 30 g de semilla seca por fruto del genotipo Apaxtla.



Cuadro 3.7. Comparación de medias del diámetro vertical del fruto (DVF), diámetro horizontal del fruto (DHF), longitud de la cavidad del fruto (LCF), grosor de la pulpa del fruto (GPF) y peso de la semilla seca del fruto (PSSF), por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo CSAEGro.

Nº	Tratamientos	DVF (cm)	DHF (cm)	LCF (cm)	GPF (cm)	PSSF (g)
1	Benomil (benomilo 50%)	13.38 B	19.59 BC	14.18 BC	5.41 AB	62.75 ABC
2	Previcur® energy (propamocarb y fosetil)	14.11 B	19.86 ABC	14.61 ABC	5.25 ABC	58.87 BC
3	Pentaclor* 600 F (quintozeno: PCNB 46%)	16.55 A	18.75 C	13.63 C	5.03 BC	67.71 AB
4	Ridomil gold® Bravo (metalaxyl y clorotalonil)	13.91 B	19.35 BC	14.50 ABC	4.91 C	71.34 A
5	Phc® Biopak-F® (<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)	14.36 B	19.26 BC	14.18 BC	5.08 BC	52.40 C
6	Q 2000 (iodo libre)	13.88 B	19.62 BC	14.29 BC	5.33 ABC	65.97 AB
7	Phc® Root Mate® (<i>T. virens</i> cepa G-41)	16.25 A	20.28 AB	14.72 ABC	5.63 A	68.53 AB
8	<i>Trichoderma</i> Cepa CSAEGro (<i>T. asperellum</i>)	12.80 B	20.09 AB	15.14 AB	4.95 C	71.89 A
9	<i>Trichoderma</i> Cepa CHILAPA (<i>T. asperellum</i>)	14.00 B	21.09 A	15.47 A	5.63 A	68.23 AB
10	Testigo (sin nada)	13.10 B	19.92 ABC	14.44 ABC	5.48 AB	62.14 ABC
LSD		1.82	1.26	1.12	0.46	11.71
Genotipo						
1	Apipilulco	14.14 A	21.11 A	15.74 A	5.34 A	69.87 A
2	Chilapa	15.32 A	19.46 B	14.18 B	5.30 A	64.44 A
3	Sta. Teresa	13.15 A	18.70 B	13.57 B	5.15 A	59.80 A
LSD		3.03	1.43	1.52	0.44	15.25

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 3.8. Comparación de medias del diámetro vertical del fruto (DVF), diámetro horizontal del fruto (DHF), longitud de la cavidad del fruto (LCF), grosor de la pulpa del fruto (GPF) y peso de la semilla seca del fruto (PSSF), por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo Chilapa.

Nº	Tratamientos	DVF (cm)	DHF (cm)	LCF (cm)	GPF (cm)	PSSF (g)
1	Benomil (benomilo 50%)	18.08 A	16.10 AB	13.94 ABC	2.15 A	99.04 AB
2	Previcur® energy (propamocarb y fosetil)	18.02 A	15.75 B	13.57 C	2.18 A	92.75 ABC
3	Pentaclor* 600 F (quintozeno: PCNB 46%)	18.12 A	16.00 AB	13.77 ABC	2.23 A	94.78 ABC
4	Ridomil gold® Bravo (metalaxyl y clorotalonil)	18.43 A	16.28 AB	14.08 ABC	2.20 A	90.04 BC
5	Phc® Biopak-F® (<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)	18.33 A	16.25 AB	14.05 ABC	2.20 A	93.92 ABC
6	Q 2000 (iodo libre)	18.30 A	16.20 AB	14.05 ABC	2.15 A	92.81 ABC
7	Phc® Root Mate® (<i>T. virens</i> cepa G-41)	18.56 A	16.42 AB	14.25 AB	2.17 A	85.90 C
8	<i>Trichoderma</i> Cepa CSAEGro (<i>T. asperellum</i>)	18.45 A	16.57 A	14.37 A	2.19 A	100.22 A
9	<i>Trichoderma</i> Cepa CHILAPA (<i>T. asperellum</i>)	17.89 A	15.78 B	13.63 BC	2.15 A	94.81 ABC
10	Testigo (sin nada)	18.38 A	16.28 AB	14.05 ABC	2.22 A	93.10 ABC
LSD		0.79	0.70	0.62	0.13	9.64
Genotipo						
1	Apipilulco	20.08 A	17.33 A	14.95 A	2.37 A	95.33 A
2	Chilapa	15.77 B	14.90 B	12.93 B	1.96 B	89.79 A
3	Sta. Teresa	18.84 AB	16.21 A	14.00 A	2.20 AB	95.64 A
LSD		3.62	1.17	1.00	0.25	9.95

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)



Número de frutos sanos cosechados (30 m²)

Esta es una característica importante, porque conforme se cosechan más frutos sanos, se incrementa el rendimiento y la rentabilidad económica del cultivo.

Al igual que en las variables anteriores, se realizó un análisis de varianza combinado a través de los tres genotipos para cada sitio de cultivo. En terrenos del CSAEGro, los datos obtenidos y el análisis de varianza (Cuadros 53-A y 54-A del apéndice), indican que esta variable presentó diferencias significativas sólo por efecto de los tratamientos evaluados ($P=0.0006$); en los cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) no diferenció grupos; no obstante, el mayor valor promedio se obtuvo en las plantas de las unidades experimentales asperjadas con *T. asperellum* cepa Chilapa; mientras que en el testigo hubo la menor cantidad de frutos sanos; aunque no existió evidencia significativa para genotipos, se cosecharon más frutos sanos en las plantas del criollo Sta. Teresa (Figura 3.16).

Viterbo y Chet, (2006) citan que las especies de *Trichoderma* poseen la capacidad de colonizar tejidos vegetales; se ha descubierto que *T. asperellum* realiza la colonización y protección de las raíces, por medio de compuestos de defensa. Al respecto, Velázquez *et al.* (2011) reportan que la secreción de enzimas hidrolíticas y el micoparasitismo son más relevantes que los antibióticos producidos por *Trichoderma* spp., en el control de *R. solani*. Por ello, en el manejo integrado de las enfermedades vegetales, se recomienda aprovechar los beneficios de estas especies benéficas, en combinación con métodos químicos; por ejemplo, utilizando *T. virens* junto con metalaxil contra *Pythium* spp. y *Phytophthora* spp. (Ezziyyani *et al.*, 2005; Porras *et al.*, 2007); porque existen cepas comerciales de *Trichoderma* compatibles con varios fungicidas, como captan, clorotalonil, iprodiona, tiofanato metilo, metalaxil, clorpirifos, vinclozolina (Ruocco *et al.*, 2009).

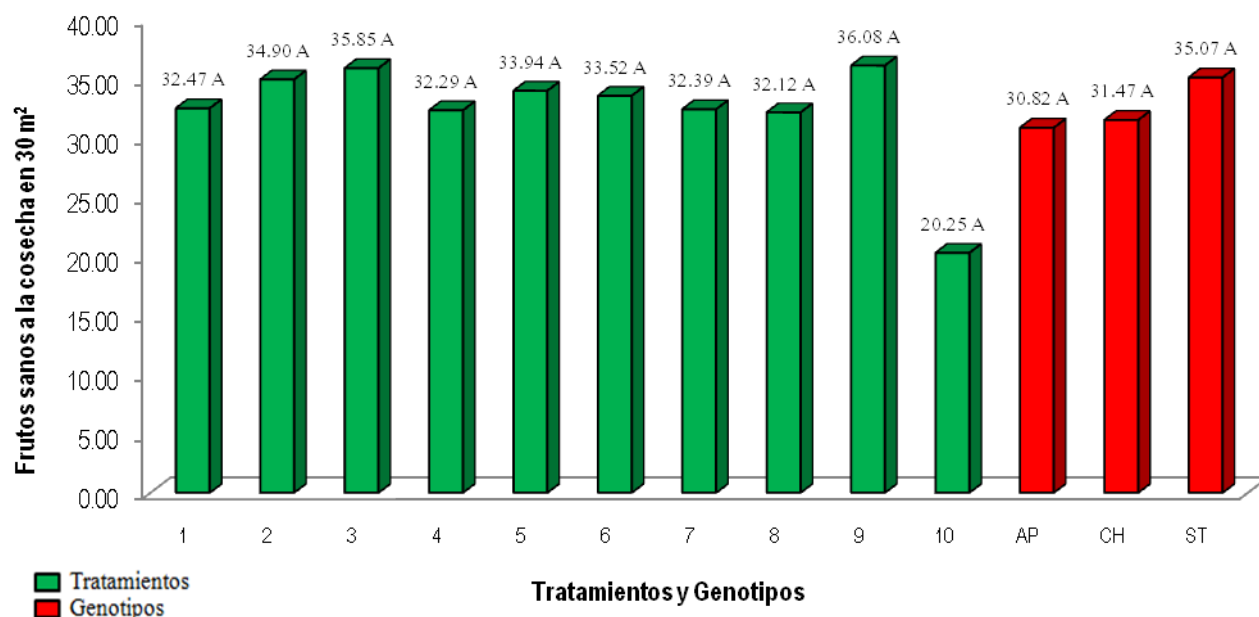


Figura 3.16. Número de frutos sanos cosechados (30 m²), por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo CSAEGro.

En el cultivo de Chilapa, los datos obtenidos y el análisis de varianza (Cuadros 51-A y 52-A del apéndice), indicaron que esta variable presentó diferencias altamente significativas por efecto de los tratamientos investigados ($P < .0001$); en los cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) determinó, que las plantas tratadas con *Bacillus* spp.+*Streptomyces* spp.+*Trichoderma* spp., produjeron la mayor cantidad de frutos sanos, con 43,14 frutos; comparativamente, en el testigo se cosechó el menor número de frutos (23.26). En cuanto al factor genotipos, se cosecharon más frutos sanos en las plantas de Sta. Teresa (Figura 3.17).

Por último, se realizó un análisis combinado a través de los dos sitios de cultivo y los tres genotipos. Se lograron identificar diferencias significativas (Cuadros 55-A y 56-A del apéndice) exclusivamente para tratamientos ($P < .0001$); porque al realizar la comparación múltiple de medias (LSD) se encontró que todos los tratamientos químicos y biológicos fueron mejores que el testigo; entre ellos, se obtuvo el mayor promedio, con *Bacillus* spp.+*Streptomyces* spp.+*Trichoderma* spp. Aunque no existió diferencia estadística para sitios y genotipos, se obtuvieron los valores más altos en terrenos de Chilapa y en el criollo Sta. Teresa (Figura 3.18).

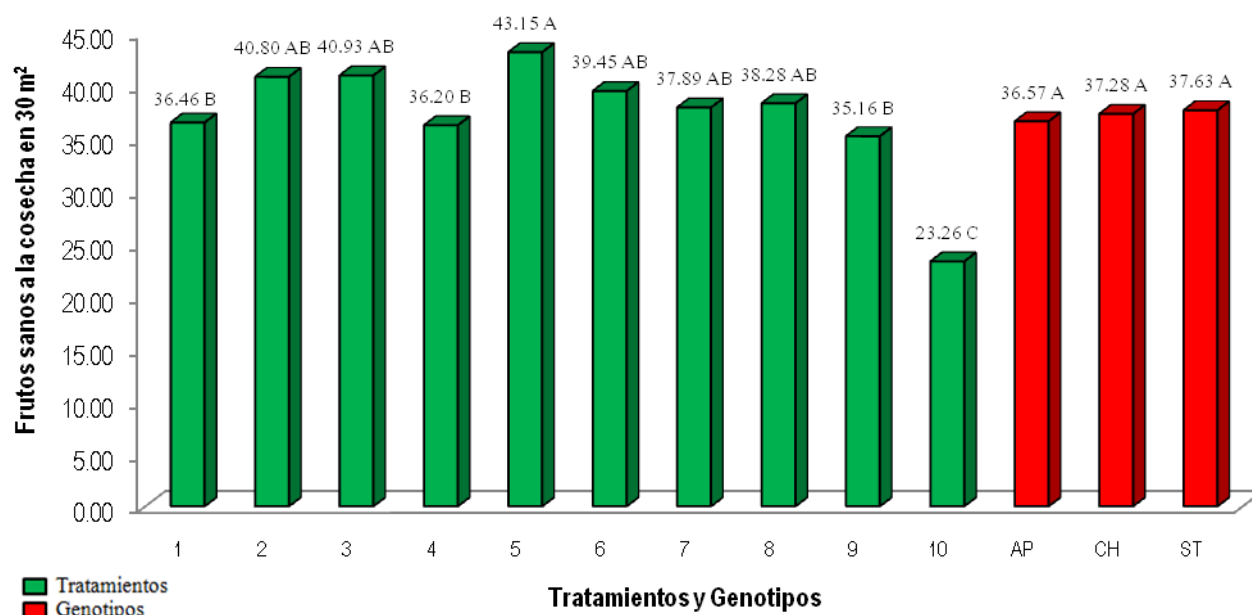


Figura 3.17. Número de frutos sanos cosechados (30 m²), por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo Chilapa.

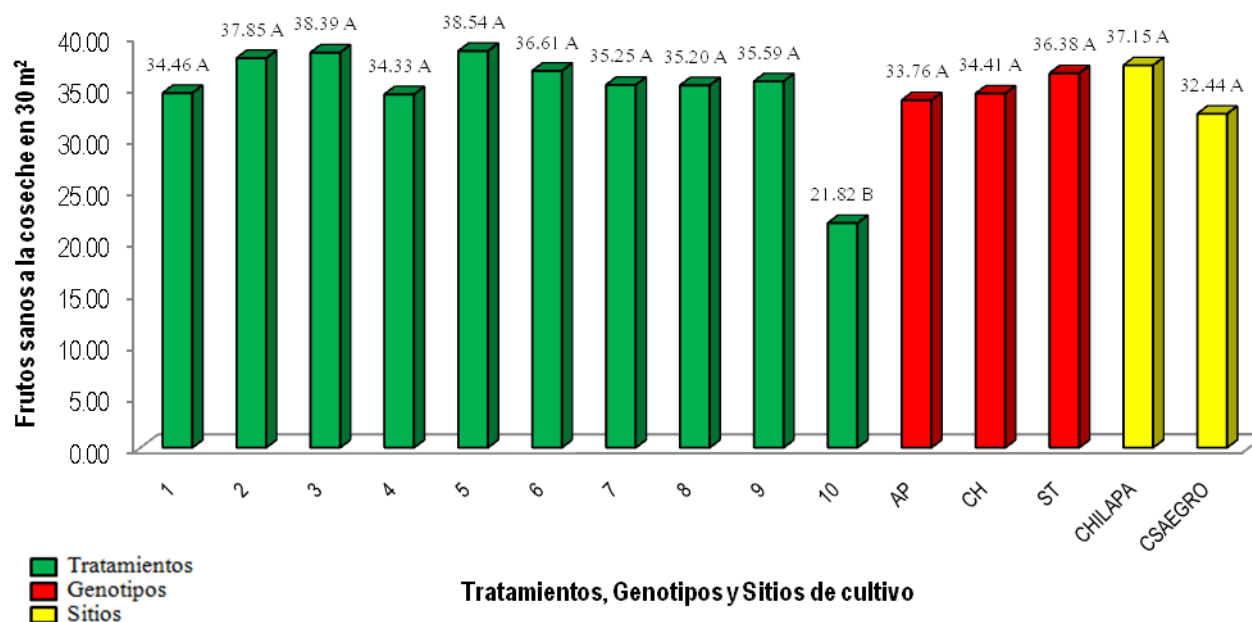


Figura 3.18. Número de frutos sanos cosechados (30 m²), por tratamiento y sitio de cultivo.



Los resultados obtenidos demuestran que, con la combinación de diferentes microorganismos biocontroladores, se potencializa el control de fitopatógenos en el cultivo de calabaza pipiana y esto se vio reflejado en la cosecha de más frutos sanos por unidad de superficie cultivada con esta cucurbitácea. Este efecto positivo coincide con la información reportada por Woo y Kim (2008) y Zhu *et al.* (2008), quienes mencionan que *B. subtilis* y *Streptomyces* spp., tienen importante actividad antifúngica, que logran a través de la producción de incluye enzimas líticas como quitinasa y celulasa, que degradan las paredes celulares de fitopatógenos. Además, promueven sinérgicamente el crecimiento de plantas (Lim *et al.*, 2009; Lim y Kim, 2009).

Frutos dañados cosechados (30 m²)

Es importante evaluar esta variable, porque permite determinar el impacto de los tratamientos sobre la incidencia de frutos dañados. De igual forma que en las anteriores variables, se realizó un análisis de varianza combinado a través de los tres genotipos para cada sitio de cultivo. En el cultivo CSAEGro, los datos obtenidos y el análisis de varianza (Cuadros 53-A y 54-A del apéndice), indicaron que esta variable presentó diferencias significativas solo por efecto de los tratamientos ($P=0.01$), de los cuales, con base en la comparación múltiple de medias (LSD), se determinó que el mejor fue el fungicidaquintozeno: PCNB, porque permitió el menor número de frutos dañados (5.46). Aunque no existió evidencia significativa para genotipos, el de Apipiluco presentó el menor promedio (Figura 3.19).

El ingrediente activo quintozeno (pentacloronitrobenceno: PCNB) es un fungicida de contacto con diferentes sitios de acción, entre los cuales se reportan: degradación de lípidos en membrana celular, destrucción mitocondrial y de enzimas involucradas en la síntesis de la pared celular (Latin, 2011). La actividad antifúngica de este hidrocarburo aromático, se debe a la peroxidación lipídica que afecta la integridad de la membrana celular (Edlich y Lyr, 1992). Por esto, en cucurbitáceas es efectivo para el control de patógenos como *Monosporascus cannonballus* Pollack & Uecker y en liliáceas contra *Sclerotium* (Cohen *et al.*, 1999; Granados, 2005).

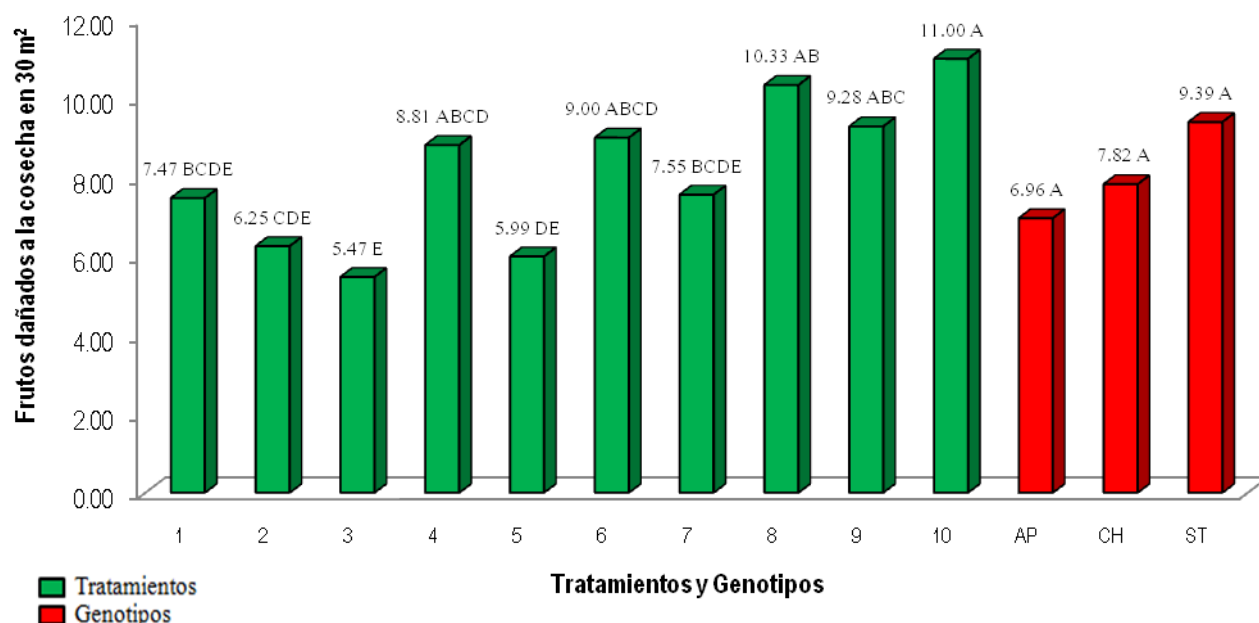


Figura 3.19. Número de frutos dañados cosechados (30 m²), por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo CSAEGro.

En el sitio Chilapa, nuevamente existió diferencia altamente significativa (Cuadros 51-A y 52-A del apéndice), solo por efecto de los tratamientos ($P < 0.0001$), y en la comparación múltiple de medias (LSD) se determinó que el mejor de ellos fue *Bacillus* spp., + *Streptomyces* spp., + *Trichoderma* spp., por registrar un promedio de 0.39 frutos; comparativamente, con el testigo donde se cosecharon 3.30 frutos dañados (Figura 3.20).

Existe evidencia de que los microorganismo biocontroladores incluidos en el producto PHC Biopack-f, son eficaces, porque las bacterias que contienen suprimen excepcionalmente el desarrollo de hongos fitopatógenos (Lee *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2007); por ejemplo, las especies pertenecientes al género *Bacillus*, forman endosporas que toleran los cambios ambientales externos (Chung *et al.*, 2007). Asimismo, las evaluaciones realizadas con *Streptomyces* en ensayos *in vitro* y en campo, ha demostrado que éste produce compuestos antifúngicos capaces de inhibir a *S. rolfsii* y mejorar el crecimiento vegetal (Xiao *et al.*, 2002; Errakhi *et al.*, 2007). Según varios investigadores, el potencial de *Trichoderma* spp., proporciona protección contra *Phytophthora* spp.; además, induce resistencia en plantas, como un mecanismo de defensa a la colonización de *Trichoderma* (Harman *et al.*, 2004; Alfano *et al.*, 2007; Bae *et al.*, 2011).

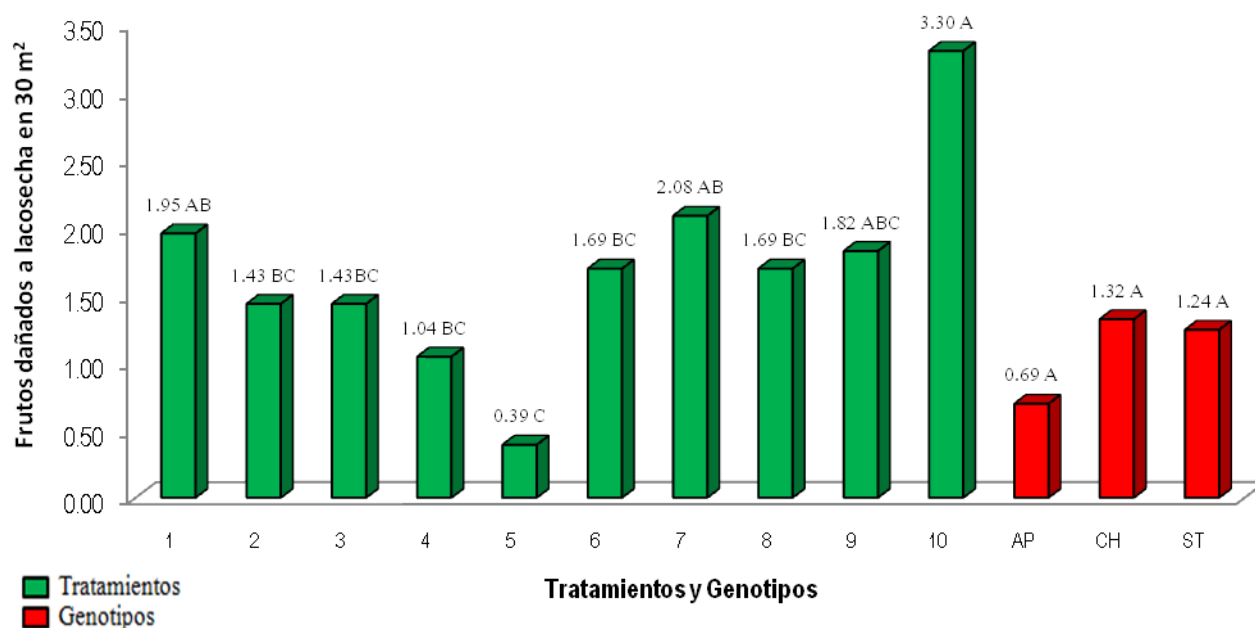


Figura 3.20. Número de frutos dañados cosechados (30 m²), por tratamiento y genotipo en el sitio de cultivo Chilapa.

En el análisis combinado a través de los dos sitios de cultivo y los tres genotipos. El ANOVA (Cuadros 55-A y 56-A del apéndice), identificó diferencias significativas para tratamientos y sitios de cultivo ($P < 0.0001$ y 0.007). La comparación múltiple de medias (LSD) formó diferentes grupos y determinó que la menor cantidad de frutos dañados, se obtuvieron en las plantas tratadas con propamocarb+fosetylo, 3 quintozeno: PCNB y *Bacillus* spp.+*Streptomyces* spp.+*Trichoderma* spp., aunque este último fue el más destacado por tener un promedio de 2.18 frutos dañados; en comparación con el testigo, que presentó 6.98. Los genotipos se comportaron estadísticamente similares; sin embargo, el de Apipilulco tuvo el menor número de frutos dañados. En el cultivo de Chilapa se cosecharon sólo 1.08 frutos (Figura 3.21).

La sensibilidad a propamocarb se ha evaluado en diferentes especies de *Phytophthora* en varias etapas de su ciclo biológico (Rapp y Richter, 1982), se ha encontrado que inhibe la formación de oosporas en *P. infestans*, reduciendo así, el número de propágulos infecciosos (Reiter *et al.*, 1995). Por otra parte, Gent *et al.* (2010) y Nelson *et al.* (2004) citan que fosetil-Al presenta un alto grado de actividad sistémica y eficacia contra oomicetos, en comparación con productos protectantes, y su efecto se potencializa cuando se aplica al follaje (Quiroga *et al.*, 2004). El quintozeno o pentacloronitrobenceno (PCNB), actúa contra *Fusarium*, *Rhizoctonia* y otros patógenos del suelo; ejerce su control modificando la integridad de la membrana celular (Edlich y Lyr, 1992); se ha utilizado en cucurbitáceas para el control de patógenos como *M. cannonballus* y



en liliáceas contra *Sclerotium* (Cohen *et al.*, 1999; Granados, 2005). En el presente trabajo estos productos controlaron eficazmente la pudrición de frutos, probablemente porque los hongos patógenos de la calabaza pipiana, no se han expuesto al quintozeno, fosetil y propamocarb y, por esto, son altamente susceptibles a la acción de estos productos químicos.

Las ventajas del empleo del producto biológico comercial PHC biopack-f, se respaldan porque contiene bacterias gram-positivas, tales como *Bacillus* y actinomicetes como *Streptomyces* spp., que producen esporas resistentes al calor y la desecación y se pueden preparar y empaquetar como productos secos y son compatibles con otros pesticidas, lo que hace que se incremente su eficacia en el control de fitopatógenos (Emmert y Handelsman, 1999; Silimela y Korsten, 2007; Poleatewich *et al.*, 2012). Otra de las bondades del uso de *Trichoderma* spp., es que secreta varios compuestos que inducen resistencia sistémica en las plantas; entre ellos se encuentran el etileno y los ácidos jasmónico y salicílico (Korolev *et al.*, 2007; Miklis *et al.*, 2007); quizá por estas propiedades fisiológicas y bioquímicas, presento resultados prometedores en este trabajo.

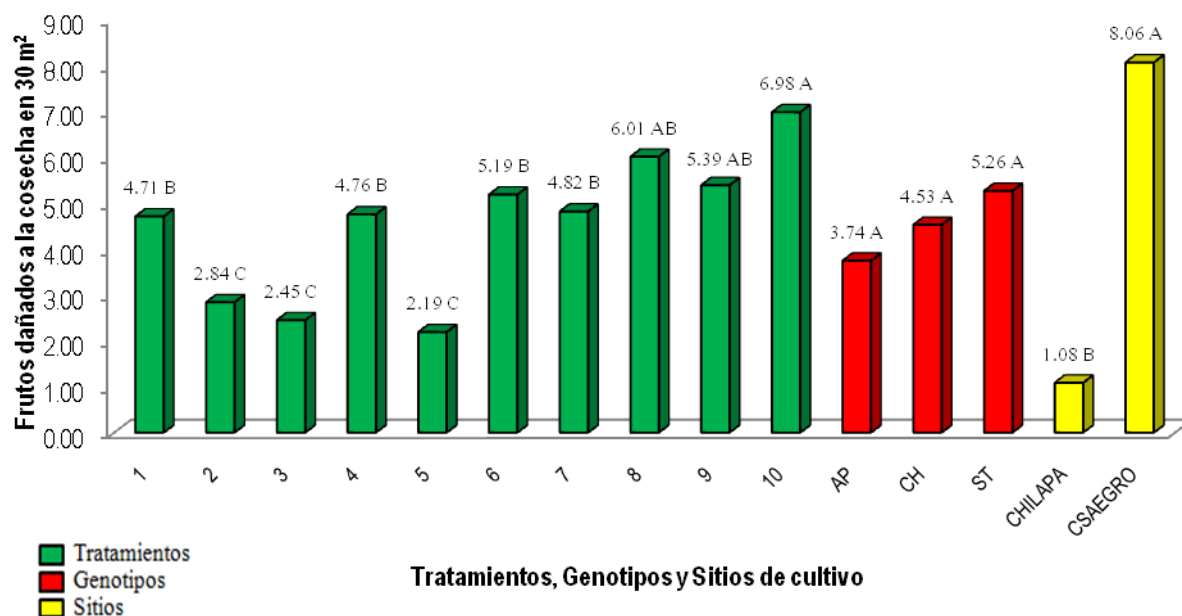


Figura 3.21. Número de frutos dañados cosechados (30 m²), por tratamiento, genotipo y sitio de cultivo.



Peso de semilla por unidad experimental

Se realizó un análisis de varianza combinado a través de los tres genotipos para cada sitio de cultivo. En el cultivo establecido en el CSAEGro, los datos obtenidos y el análisis de varianza (Cuadros 53-A y 54-A del apéndice), indican que esta variable presentó diferencia altamente significativa sólo por efecto de los tratamientos ($P < 0.0001$), de los cuales la comparación múltiple de medias (LSD), ubicó como los mejores tratamientos, a propamocar+fosetylo, quintozeno: PCNB y *Bacillus* spp.+ *Streptomyces* spp.+ *Trichoderma* spp., porque presentaron los mayores promedios, con 1.60, 1.66 y 1.61 kg de semilla seca por unidad experimental, respectivamente. Los genotipos no se diferenciaron estadísticamente, pero el criollo de Apipilulco tuvo el mayor rendimiento, 1.40 kg (Figura 3.22).

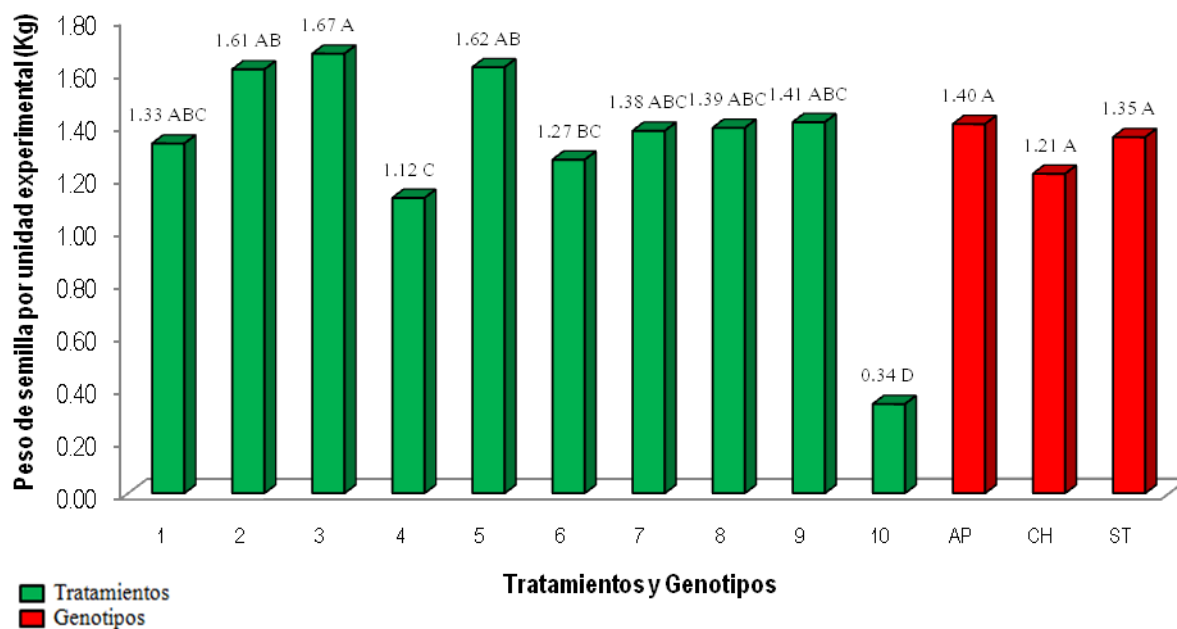


Figura 3.22. Peso de semilla por unidad experimental, en función de los tratamientos y genotipos en el cultivo establecido en el CSAEGro.

En el sitio chilapa, el ANOVA (Cuadros 51-A y 52-A del apéndice), también detectó diferencias altamente significativa únicamente para tratamientos ($P < 0.0001$); en los cuales, la comparación múltiple de medias (LSD) determinó, que los mismos tratamientos indicados (2, 3 y 5), fueron los más sobresalientes en esta variable, porque en las unidades experimentales tratadas con ellos, se cosecharon los rendimientos de semilla más altos, con 2.24, 2.36 y 2.26 kg, respectivamente. Aunque los genotipos se comportaron estadísticamente similares, las plantas de Sta. Teresa fueron las más productivas (Figura 3.23).

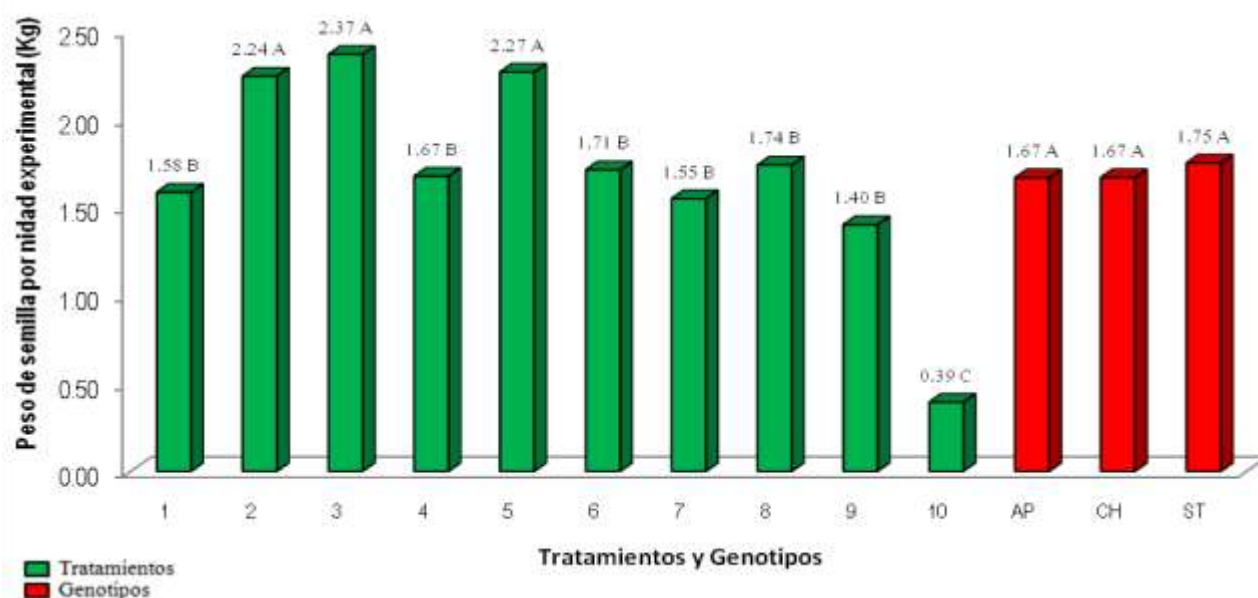


Figura 3.23. Peso de semilla por unidad experimental, en función de los tratamientos y genotipos en el sitio de cultivo Chilapa.

En el análisis combinado a través de los dos sitios de cultivo y los tres genotipos, los datos y el análisis de varianza indicaron que existió diferencia altamente significativa (Cuadros 55-A y 56-A del apéndice) nuevamente, solo para tratamientos ($P < 0.0001$); mediante la comparación múltiple de medias (LSD) se determinó que, nuevamente los mejores tratamientos fueron propamocar+fosetylo, quintozeno: PCNB y *Bacillus* spp.+ *Streptomyces* spp.+ *Trichoderma* spp., porque en las unidades experimentales en donde se aplicaron, se registraron los mayores rendimientos de semilla. Los genotipos tuvieron un comportamiento estadísticamente similar. Asimismo, aunque también no hubo diferencias estadísticas entre los sitios, se notó que en Chilapa fue mayor el peso de semilla por unidad experimental (Figura 3.24).

El Pentacloronitrobenceno (PCNB o quintozeno se ha utilizado con éxito moderado durante muchos años para el control de la podredumbre del tallo ocasionado por *S. rolfsii* en el cultivo de cacahuete y de *R. solani* en papa; un aspecto clave del efecto del producto, probablemente se debe a que presenta alta residualidad (Easton *et al.*, 1970; Breneman *et al.*, 1991); esta característica quizá contribuyó para que este fungicida controlara a patógenos como *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina* y *Sclerotium*, tanto en frutos tiernos como en frutos maduros de calabaza pipiana y, consecuentemente, este efecto se reflejó en cosechar más frutos sanos que produjeron, a la vez, más semilla de calidad comercial por unidad experimental.



El producto comercial Previcur energy, con ingredientes activos propamocarb+fosetylo, ejerció un buen control en campo en la presente investigación; estos resultados positivos coinciden con reportes que indican que con este producto se controló eficientemente a *Phytophthora* spp. (Johnson *et al.*, 2000). El fosetil de aluminio es un fungicida de alta sistemicidad, con movimiento ambimóvil en la planta; tiene predominantemente una translocación simplástica, por lo que resulta efectivo cuando se utiliza contra fitopatógenos en campo (Mendoza, 1990; Newman y Jacob, 1995).

Los actinomicetos, particularmente *Streptomyces* spp., son un grupo de microorganismos ampliamente explotados en la producción de metabolitos secundarios y enzimas de importancia comercial para el control biológico de enfermedades y en otras aplicaciones agrícolas (Kumar y Gupta, 2006; Narayana y Vijayalakshmi, 2009). Distintos autores describen que algunas especies de *Trichoderma* secretan compuestos extracelulares, como gliotoxinas, antibióticos y enzimas que son efectivas para la supresión de patógenos (Harman *et al.*, 2004; Montealegre *et al.*, 2010; Tariq *et al.*, 2010), es probable que por este efecto positivo, en las plantas de las unidades experimentales tratadas con este hongo benéfico, se obtuvieron buenos rendimiento de semilla, en la presente investigación conducida en campo.

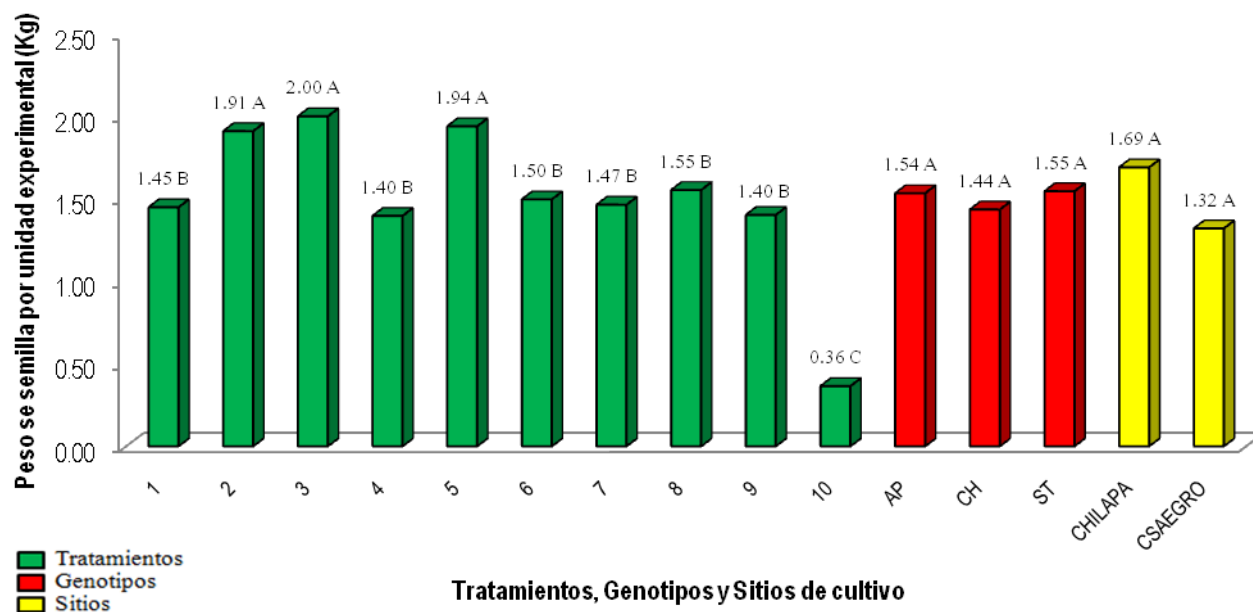


Figura 3.24. Peso de semilla por unidad experimental en función de los tratamientos, genotipos y sitios de cultivo.



Rendimiento de semilla (kg ha⁻¹)

Esta característica es la de mayor interés para determinar la productividad y rentabilidad que puede generar este cultivo. Se encontró, al igual que en todas las variables anteriores, que los datos y el análisis de varianza combinado, a través de los tres genotipos para cada sitio de cultivo, detectaron en el cultivo establecido en el CSAEGro, diferencia significativa por efecto de los tratamientos (Cuadros 53-A y 54-A del apéndice). Mediante la prueba de comparación múltiple de medias (LSD) se determinó que las plantas de las unidades experimentales tratadas con quintozeno:PCNB, tuvieron el rendimiento más alto, de 605 kg ha⁻¹ de semilla seca, seguido por los tratamientos con propamocarb+fosetylo y *Bacillus* spp.+*Streptomyces* spp.+*Trichoderma* spp., promedios de 579.75 y 574.07 kg ha⁻¹, respectivamente. El testigo tuvo el rendimiento más bajo, con sólo 282 kg ha⁻¹. No obstante que los genotipos presentaron un comportamiento estadísticamente similar, en Apipiluco se cosechó más semilla seca (Figura 3.25).

Para el sitio de cultivo Chilapa, nuevamente los datos y el análisis de varianza (Cuadros 51-A y 52-A del apéndice), indicaron que existió diferencia altamente significativa para tratamientos ($P<0.0001$); de los cuales, se determinó mediante la comparación múltiple de medias (LSD), que las plantas tratadas con quintozeno: PCNB, presentaron el máximo rendimiento de semilla seca (986.85 kg ha⁻¹), seguido por los tratamiento con propamocarb+fosetylo y *Bacillus* spp.+*Streptomyces* spp.+*Trichoderma* spp., que registraron rendimientos de 960.94 y 962.24 kg ha⁻¹, respectivamente. A pesar de que los genotipos no fueron diferentes estadísticamente, en Sta. Teresa se logró el mayor rendimiento (Figura 3.26).

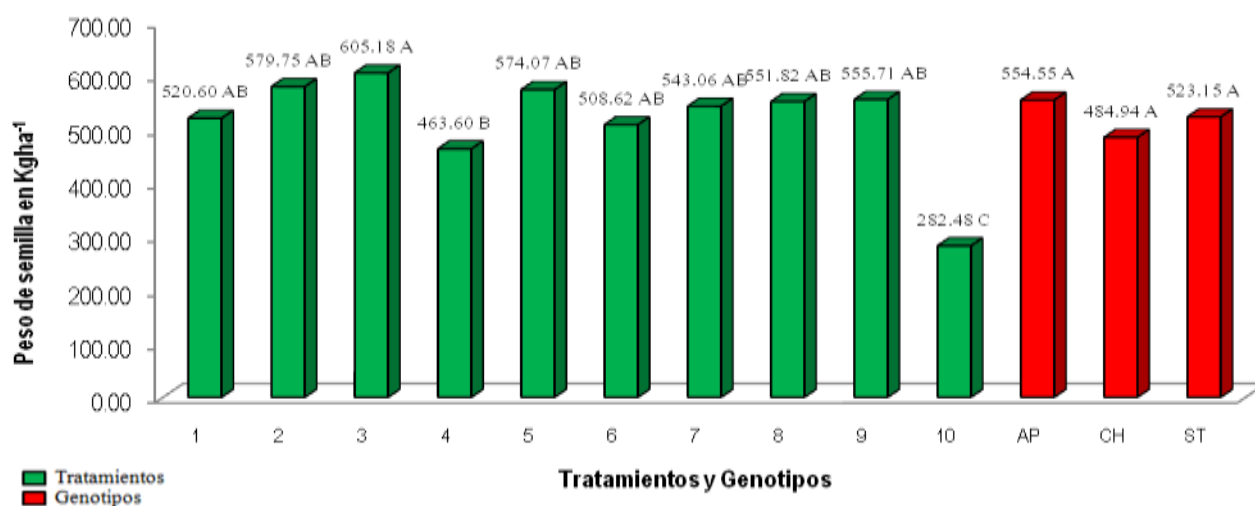


Figura 3.25. Peso de semilla seca (kg ha⁻¹), en función de los tratamientos y genotipos en el sitio de cultivo CSAEGro.

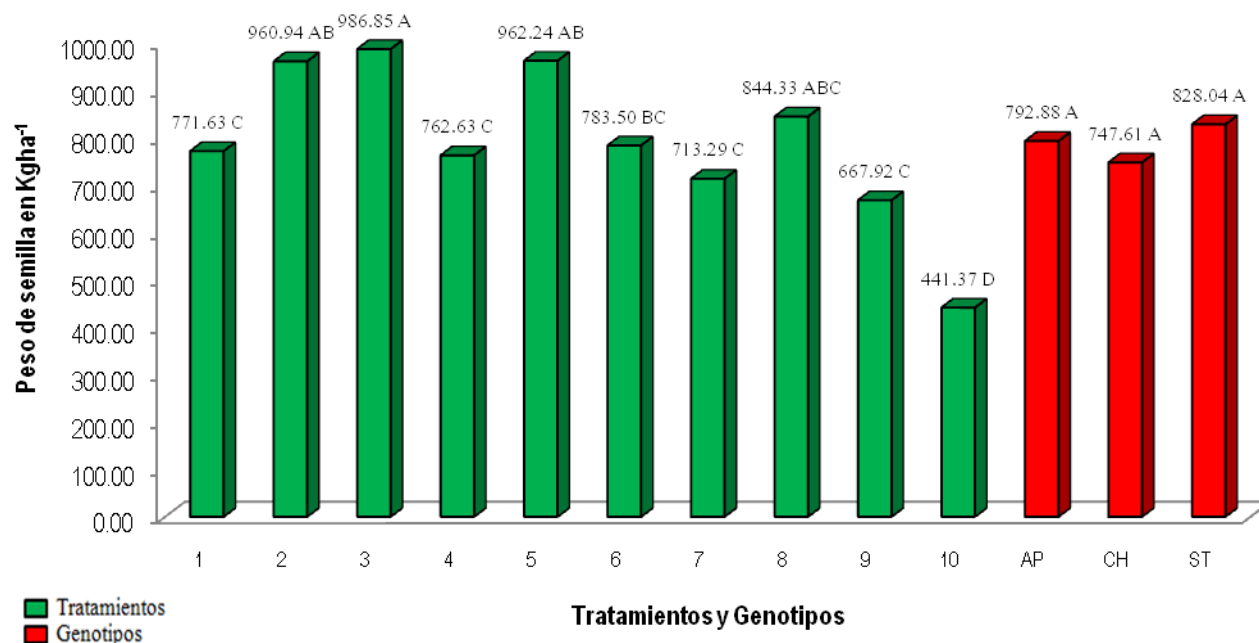


Figura 3.26. Peso de semilla seca (kg ha⁻¹), en función de los tratamientos y genotipos en el sitio de cultivo Chilapa.

Finalmente, en el análisis combinado a través de los dos sitios de cultivo y los tres genotipos, los datos y el análisis de varianza (Cuadros 55-A y 56-A del apéndice), demostraron que existió diferencia altamente significativa nuevamente, sólo por efecto de los tratamientos ($P < 0.0001$). La prueba de comparación múltiple de medias (LSD) determinó que el mejor tratamiento fue quintozeno: PCNB, al obtener 787.72 kg ha⁻¹ de semilla, que fue el mayor promedio, seguido por 768.16 y 762.06, cosechados en las parcelas que se asperjaron con el compuesto *Bacillus* spp.+*Streptomyces* spp.+ *Trichoderma* spp. y propamocarb+fosetylo. A pesar de que no existió diferencia estadística entre genotipos, en el de Apipilulco se tuvo más rendimiento de semilla. De igual forma, aunque no existió evidencia significativa para sitios de cultivo, en el cultivo establecido en Chilapa, el rendimiento fue mayor (Figura 3.27).

En el sitio de cultivo CSAEGro se obtuvieron rendimientos bajos en comparación con el sitio Chilapa, debido a que el primero se encuentra ubicado en la parte más baja del valle de Cocula y posee suelos muy pesados y húmedos, lo cual favorece la alta incidencia de patógenos habitantes del suelo principalmente hongos; esto hace que los frutos en diferentes etapas de crecimiento, desde el inicio de fructificación hasta la cosecha, sean infectados; por lo tanto, disminuye la cantidad de frutos sanos y el rendimiento de semilla por ha (Sergio Ayvar Serna, comunicación personal, 2013).



El efecto positivo de quintozeno (Pentacloronitrobenceno: PCNB) se debe a que, como se mencionó, afecta la integridad de la membrana y pared celulares, así como las mitocondrias en los hongos fitopatógenos (Latin, 2011); por esto disminuye la formación de esclerocios de *Sclerotinia minor* (Brenneman *et al.*, 1987), de *S. rolfsii* (Olivos y Mont, 1993; Rondón *et al.*, 1995). Un estudio realizado con quintozeno, a dosis de 3.64, 6.81 y 11.36 kg.ha⁻¹ aplicadas contra *R. solani* en cultivo de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.), reporta que a medida que aumentó la dosis, la incidencia y severidad de la enfermedad disminuyó, pero a nivel de 11.36 kg.ha⁻¹, el fungicida ocasionó fitotoxicidad (Pichardo, 1990). Estas evidencias sobre el control de hongos del suelo, respaldan los resultados logrados en cuanto al mayor rendimiento de semilla, en las unidades experimentales tratadas con este producto, en la presente investigación.

El fungicida propamocarb sigue siendo una opción efectiva para enfermedades ocasionadas por *Phytophthora* spp., es un fungicida útil en el manejo de la resistencia, pero debe usarse preventivamente y con suma precaución, el repetido uso de este producto debe ser evitado y la resistencia a este compuesto debe ser ampliamente vigilada (Hu *et al.*, 2007). British (1998) recomienda aplicaciones de fosetil de aluminio al follaje, ya que si se aplica al suelo es posible que se acumule en las partes bajas de la planta y no asciendan hasta las partes altas; además, su degradación en el suelo es rápida. En un trabajo realizado por Quiroga *et al.*, (2004), se aplicó fosetylo al suelo contra *Peronospora sparsa* y esto tuvo como resultado controles no aceptables en las variables evaluadas; dentro de las aspersiones foliares, los fungicidas a base de fosetil de aluminio (Fosetal® 80WP y Aliette® 80WP) fueron los que presentaron los valores más bajos de incidencia y severidad de la enfermedad. Aunque los niveles de control con estos dos productos comerciales fueron similares, su precio es diferente. Las aplicaciones de propamocarb y fostylo en este trabajo fueron foliares, y los resultados fueron favorables, similares a los repostados por Quiroga *et al.*, (2004).

Además, β -glucanasa y celulasa que son los principales agentes de disuasión biológicamente activos de *B. subtilis* y *B. licheniformis* que pueden hidrolizar la pared celular de *P. capsici*. Ambas cepas producen sideróforo hierro-secuestrante; en el suelo, lo resultante es el agotamiento de hierro puede impedir el crecimiento de patógenos (Kloepper *et al.*, 2004; Yao *et al.*, 2006). Varios estudios en *B. subtilis* han demostrado su eficacia para el control de varios hongos fitopatógenos habitantes del suelo tales como *Rhizoctonia* y *Fusarium* (Zhang *et al.*, 2009). A la fecha se sabe que varios activos antifúngicos contra patógenos fúngicos se han aislado y caracterizado a partir de *Streptomyces* spp., (Rodríguez *et al.*, 2002;



Remsing *et al.*, 2003), lo cual apoya las perspectivas prometedoras del uso de géneros de *Streptomyces* en el biocontrol de hongos patógenos de plantas (Narayana y Vijayalakshmi, 2009). Un atributo importante de agentes de control biológico con éxito de patógenos es su eficiencia en concentración relativamente baja. Por ejemplo cepas de *Trichoderma harzianum* han resultado ser generalmente eficaces en baja concentraciones de 1×10^6 a 1×10^8 conidios ml^{-1} ; estas concentraciones son incluso inferiores a las concentraciones recomendadas para otros agentes biocontroladores, lo que considera adecuado para el uso comercial (Wang *et al.*, 2008). Todas las características mencionadas hacen de estos microorganismos excelentes agentes biocontroladores, y se maximiza su eficacia si se aplican en mezcla y una alternativa comercial es el producto PHC Biopact-f, mismo que se utilizó en este trabajo con excelentes resultados, manifestados principalmente en el rendimiento.

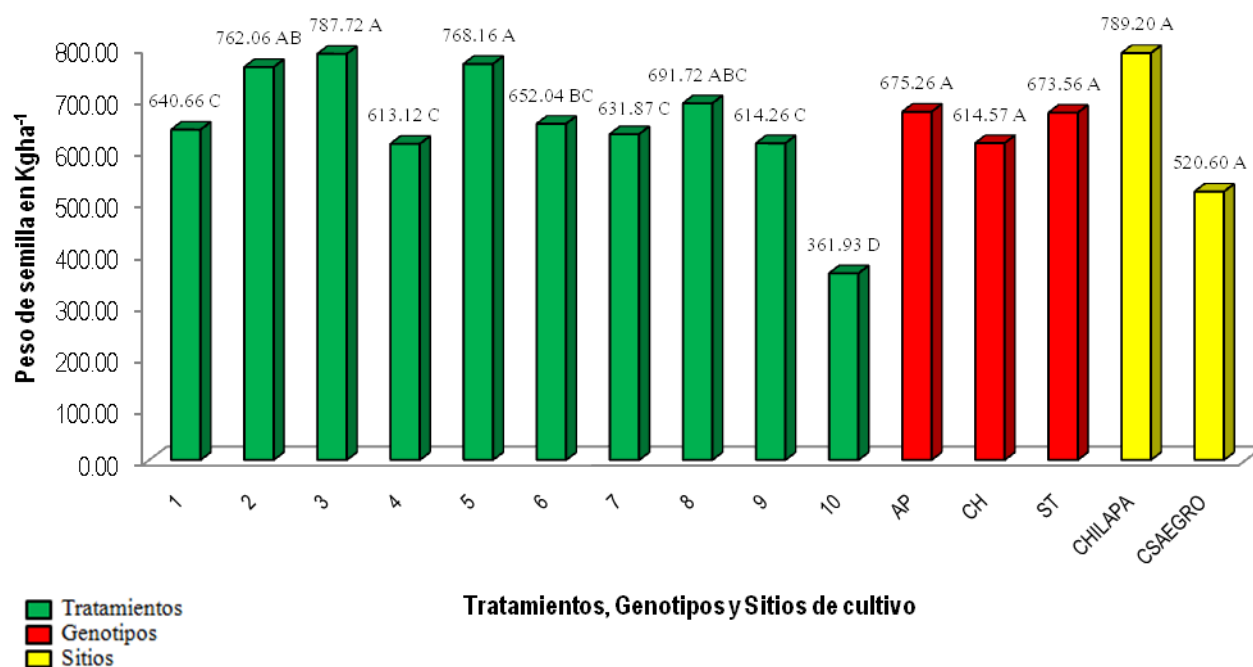


Figura 3.27. Peso de semilla en kg ha^{-1} , en función de los tratamientos, genotipos y sitio de cultivo.

Análisis económico

La finalidad fundamental de toda actividad agrícola es el aprovechamiento óptimo de los recursos disponibles, maximizando la rentabilidad y la obtención de beneficios; por esto, es importante efectuar este tipo de análisis para conocer la rentabilidad de los tratamientos aplicados en este cultivo. Debido a que los genotipos se comportaron estadísticamente similares en la mayoría de los análisis realizados y para las diferentes variables estudiadas, sólo se realizó el análisis económico por sitio de cultivo, cuyos costos de



producción de los tratamientos, y algunas consideraciones tomadas en cuenta para realizarlo, se muestran en el apéndice, del cuadro 57-A al 76-A. El precio promedio por kg, al momento de la venta se estimó considerando los datos publicados por la SAGARPA (2012).

La rentabilidad basada en los costos e ingresos totales y netos, así como la ganancia por peso invertido, se presenta de manera sintetizada en los Cuadros 3.9 y 3.10. Este análisis complementario permitió confirmar que, en general, todos los tratamientos fueron rentables; pero en el sitio de cultivo CSAEGro, destacaron los tratamientos con quintozeno: PCNB y *T. asperellum* cepa Chilapa, porque presentaron la mayor ganancia por peso invertido (GPI), que tuvo un valor de \$ 0.40 por peso invertido; mientras que en el sitio de cultivo Chilapa, sobresalieron el quintozeno: PCNB y *T. asperellum* cepa CSAEGro, puesto tuvieron los valores de la GPI más elevados (Cuadro 3.9 y 3.10).

En general, se obtuvieron mejores resultados económicos en el sitio de cultivo Chilapa; en donde comúnmente se cultiva calabaza intercalada con maíz; no obstante, en la presente investigación se sembró esta cucurbitácea en sistema de monocultivo, en el cual, no hubo la competencia de la gramínea y las condiciones predominantes favorecieron un mayor potencial de rendimiento de semilla de calabaza pipiana.

Cuadro 3.9. Rentabilidad de los tratamientos evaluados en calabaza pipiana en el sitio de cultivo CSAEGro.

Nº	Tratamientos	CT ^a	IT	IN	GPI
1	Benomil (benomilo 50%)	13,115.46	15,618.00	2,502.54	0.19
2	Previcur® energy (propamocarb y fosetil)	14,734.46	17,392.50	2,658.04	0.18
3	Pentaclor* 600 F (quintozeno: PCNB 46%)	12,971.66	18,155.40	5,183.74	0.40
4	Ridomil gold® Bravo (metalaxyl y clorotalonil)	13,626.56	13,908.00	281.44	0.02
5	Phc® Biopak-F® (<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)	13,739.76	17,222.10	3,482.34	0.25
6	Q 2000 (iodo libre)	12,662.06	15,258.60	2,596.54	0.21
7	Phc® Root Mate® (<i>T. virens</i> cepa G-41)	12,472.16	16,291.80	3,819.64	0.31
8	<i>Trichoderma</i> Cepa CSAEGro (<i>T. asperellum</i>)	11,891.66	16,554.60	4,662.94	0.39
9	<i>Trichoderma</i> Cepa CHILAPA (<i>T. asperellum</i>)	11,899.46	16,671.30	4,771.84	0.40
10	Testigo (sin nada)	10,982.66	8,474.40	-2,508.26	-0.23
^a : CT: Costo total		IT: Ingreso total	IT: Ingreso neto	GPI: Ganancia por peso invertido	



Los conceptos que más influyeron en el costo de producción, fueron, en orden de importancia, la fertilización y el control fitosanitario; pero se considera que todos tratamientos evaluados tuvieron una rentabilidad satisfactoria, no obstante que la ganancia por peso invertido puede mejorar, si se considera que en el estado de Guerrero, los productores cuentan con la entrega de fertilizante subsidiado y, además, pueden organizarse para comercializar el producto a un mejor precio, sin la intervención de agentes intermediarios.

Cuadro 3.10. Rentabilidad de los tratamientos evaluados en calabaza pipiana en el sitio de cultivo Chilapa.

Nº	Tratamientos	CT ^a	IT	IN	GPI
1	Benomil (benomilo 50%)	13,115.46	23,148.90	10,033.44	0.77
2	Previcur [®] energy (propamocarb y fosetil)	15,588.66	28,828.20	13,239.54	0.85
3	Pentaclor* 600 F (quintozeno: PCNB 46%)	13,830.16	29,605.50	15,775.34	1.14
4	Ridomil gold [®] Bravo (metalaxyl y clorotalonil)	14,364.66	22,878.90	8,514.24	0.59
5	Phc [®] Biopak-F [®] (<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)	14,615.36	28,867.20	14,251.84	0.98
6	Q 2000 (iodo libre)	13,281.20	23,505.00	10,223.80	0.77
7	Phc [®] Root Mate [®] (<i>T. virens</i> cepa G-41)	12,854.66	21,398.70	8,544.04	0.66
8	<i>Trichoderma</i> Cepa CSAEGro (<i>T. asperellum</i>)	12,548.78	25,329.90	12,781.14	1.02
9	<i>Trichoderma</i> Cepa CHILAPA (<i>T. asperellum</i>)	12,147.66	20,037.60	7,889.94	0.65
10	Testigo (sin nada)	11,343.46	13,241.10	1,897.64	0.17
^a : CT: Costo total		IT: Ingreso total	IT: Ingreso neto	GPI: Ganancia por peso invertido	

En terrenos del CSAEGro, en un ensayo experimental realizado para evaluar densidades de población en calabaza pipiana, Sánchez (2009) reportó que todos los tratamientos probados tuvieron valores de GPI negativos, que fluctuaron de -0.29 a -0.61; este investigador argumentó que estos resultados son atribuibles a los bajos rendimientos obtenidos, por la alta incidencia de pudrición de frutos. Asimismo, en la misma región de estudio, Martínez (2009) investigó el impacto de realizar el calzado de frutos y utilizar fertilizaciones química y biológica sobre el desarrollo de calabaza; también reportó valores de GPI negativos, que fluctuaron de -0.69 a -0.78; se atribuyó esta respuesta, a que se utilizó el genotipo criollo Chichiltepec, el cual no se adaptó a las condiciones ecológicas de la zona de estudio, y además, se tuvo una alta incidencia de pudrición de frutos y virosis, lo que ocasionó un rendimiento bajo de semilla seca.



En otro experimento conducido por Díaz (2011), para evaluar diferentes niveles de fertilización foliar en el genotipo Apipilulco; encontró que la GPI fluctuó entre -0.59 y 0.13. Así mismo, Gómez (2004), estudió la fluctuación de insectos e incidencia de virosis en el cultivo de calabaza pipiana en el CSAEGro; obtuvo valores de GPI de -0.36 a 0.51. En otros ensayos realizados en calabaza pipiana, García (2005) reportó promedios de GPI de -0.68 a 0.31, y Aguirre (2007), de -0.69 a -0.22.

5. CONCLUSIONES

En base a los resultados obtenidos de las variables en estudio y a los objetivos planteados se concluye, lo siguiente:

- Las plantas más vigorosas con mayor diámetro de tallo y más guías laterales se presentaron en el sitio de cultivo CSAEGro, con el genotipo Apipilulco.
- Las plantas del genotipo Chilapa desarrollaron las guías principales con la mayor longitud d en el sitio Chilapa.
- En el sitio de cultivo CSAEGro, el genotipo Apipiluco presentó las mejores características del fruto: diámetros vertical y polar, longitud de la cavidad, grosor de la pulpa y peso de semilla seca del fruto.
- En el sitio de cultivo Chilapa, el genotipo Apipilulco registró las mejores características de fruto como: diámetros vertical y polar, longitud de la cavidad, grosor de la pulpa y peso de semilla seca del fruto. El genotipo Sta. Teresa también registró el mejor peso de semilla seca.
- En el sitio de cultivo Chilapa, se obtuvo la mayor cantidad de frutos sanos a la cosecha. El genotipo Sta. Teresa fue el más destacado. El mejor tratamiento fue *Bacillus* spp.+ *Streptomyces* spp.+ *Trichoderma* spp.
- El menor número de frutos dañados a la cosecha, se logró en el sitio de cultivo Chilapa con el genotipo Chilapa. Los mejores tratamientos fueron propamocar+fosetylo, quintozeno: PCNB y *Bacillus* spp.+ *Streptomyces* spp.+ *Trichoderma* spp.).
- Los mejores rendimientos de semilla (kg ha^{-1}) se presentaron en el sitio de cultivo Chilapa, en los genotipos Apipilulco y Sta. Teresa. Los tratamientos más sobresalientes fueron propamocar+fosetylo, quintozeno: PCNB y *Bacillus* spp.+ *Streptomyces* spp.+ *Trichoderma* spp.).
- Dentro de la estructura de costos, los conceptos de fertilización y control fitosanitario, tuvieron los mayores costos de producción.



- En el sitio de cultivo CSAEGro, los tratamientos quintozeno: PCNB, *T. asperellum* cepa CSAEGro y *T. asperellum* cepa Chilapa, fueron los más rentables.
- En el sitio de cultivo Chilapa, los tratamientos más rentables fueron: quintozeno: PCNB, *Bacillus* spp.+ *Streptomyces* spp.+ *Trichoderma* spp. y *T. asperellum* cepa CSAEGro.
- El sitio de cultivo Chilapa fue el más rentable y el general fue el mejor.

6. RECOMENDACIONES

En la parte científica:

- Seguir validando esta investigación en este cultivo y en estos sitios de cultivo.
- Utilizar nuevas moléculas químicas para el control de patógenos del suelo.
- Evaluar un mayor número de cepas nativas de *Trichoderma*.
- Evaluar la tolerancia o resistencia de *Trichoderma* a fungicidas de diferentes grupos químicos.
- Aislar, identificar, purificar y reproducir masivamente cepas nativas de *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. y evaluarlas en campo en este cultivo.

En la parte de campo:

- Integrar alternativas de control, incluyendo aplicaciones químicas y biológicas juntas de forma preventiva, para un mejor control de patógenos.
- Aplicar en mezcla productos comerciales con los siguientes ingredientes activos: propamocarb, fosetylo, mtetalaxil, clorotalonil, *Bacillus* spp., *Streptomyces* spp. y *Trichoderma* spp.



7. LITERATURA CITADA

- Abd, A. E. E. 2005. Effect of a *Bacillus subtilis* Isolate on Southern Blight (*Sclerotium rolfsii*) and Lipid Composition of Peanut Seeds. *Phytoparasitica* 33(5):460-466.
- Aguirre, J. A. 2007. Fertilización edáfica con nitrógeno y fósforo en calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma* Huber.) en Cocula, Guerrero. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. México. 56 p.
- Alcano, M., Páez, M. y Albarracin, N. 2002. Evaluación *in vitro* del control químico y biológico de *Fusarium oxysporum* Schlechtend, agente causal de la gomosis en piña *Ananas comosus* L. *Fitopatología Venezolana* 14: 52 (Resumen).
- Alfano, G., Lewis Ivey, M. L., Cakir, C., Bos, J. I. B., Miller, S. A., Madden, L. V., Kamoun, S., and Hoitink, H. A. J. 2007. Systemic modulation of gene expression in tomato by *Trichoderma hamatum* 382. *Phytopathology* 97:429-437.
- Antonopoulos, D. F., Melton, T., and Mila, A. L. 2010. Effects of chemical control, cultivar resistance, and structure of cultivar root system on black shank incidence of tobacco. *Plant Dis.* 94:613-620.
- Araujo, D., Rodríguez, D. y Sanabria, M. E. 2008. Respuesta del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *cubense*, causante del Mal de Panamá a algunos extractos vegetales y fungicidas. *Fitopatol. Venez.* 21:2-8.
- Ayvar, S. S., A. Mena. B., J. A. Durán R. R., Cruzaley, S, N. O., Gómez, M. 2007. La calabaza pipiana y su manejo integrado. Folleto técnico. Fundación Produce de Guerrero, A. C. Campo Experimental Iguala. CSAEGRO. Iguala, Gro. México. 26 p.
- Ayvar, S. S., J. A. Durán R., E. Maya. P., E. Ocampo. R. 2010. Rendimiento de ocho genotipos de calabaza pipiana en Cocula Guerrero. Centro de Estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Iguala, Gro. México. XV Foro de estudios sobre Guerrero. Acapulco, Gro. pp. 511-513.
- Bae, H., Roberts, D. P., Lim, H. S., Strem, M. D., Park, S. C., Ryu, C. M., Melnick, R. L., and B. A. Bailey. 2011. Endophytic *Trichoderma* Isolates from Tropical Environments Delay Disease Onset and Induce Resistance Against *Phytophthora capsici* in Hot Pepper Using Multiple Mechanisms. *MPMI.* 24 (3):336-351.
- Baniasadi, F., Bonjar, G. H. S., Baghizadeh, A., Karimi, N. A., Jorjandi, M., Aghighi, S., Farokhi, P. R. 2009. Biological control of *Sclerotinia sclerotiorum*, causal agent of sunflower head and stem rot disease, by use of soil borne actinomycetes isolates. *Agric. Biol. Sci.* 4:146-151.



- Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M., Parr-Dobrzanski, B. 2002. The strobilurin fungicides. *Pest Manage. Sci.* 58: 649-662.
- Bi, Y., Jiang, H., Hausbeck, M. K., and Hao, J. J. 2012. Inhibitory effects of essential oils for controlling *Phytophthora capsici*. *Plant Dis.* 96:797-803.
- Brenneman, T. B., Phipps, P. M., Stipes, R. J. 1987. Control of *Sclerotinia blight* of peanut: sensitivity and resistance of *Sclerotinia minor* to vinclozolin, iprodione, dicloran, and PCNB. *Plant Dis.* 71(1): 87-90.
- Brenneman, T. B., Murphy, A. P., and Csinos, A. S. 1991. Activity of tebuconazole on *Sclerotium rolfsii* and *Rhizoctonia solani*, two soilborne pathogens of peanut. *Plant Dis.* 75:744-747.
- British Crop Protection Council. 1998. The pesticide manual. British Crop Protection Council, Londres.
- Brown, S., Koike, S. T., Ochoa, O. E., Laemmlen, F., and Michelmore, R. W. 2004. Insensitivity to the fungicide fosetyl-aluminum in California isolates of the lettuce downy mildew pathogen, *Bremia lactucae*. *Plant Dis.* 88:502-508.
- Chung, S., Lim, H. M., and Kim, S. D. 2007. Formulation of stable *Bacillus subtilis* AH18 against temperature fluctuation with highly heat-resistant endospores and micropore inorganic carriers. *Appl Microbiol Biotechnol.* 76:217-224.
- Cook, P. J., Landschoot, P. J., and Schlossberg, M. J. 2009. Inhibition of *Pythium* spp. and suppression of *Pythium* blight of turfgrasses with phosphonate fungicides. *Plant Dis.* 93:809-814.
- Cohen, R., Pivonia, S., Shtienberg, D., Edelstein, M., Raz, D., Gerstl, Z., and Katan, J. 1999. Efficacy of fluazinam in suppression of *Monosporascus cannonballus*, the causal agent of sudden wilt of melons. *Plant Dis.* 83:1137-1141.
- Cortés M., D. 2004. Rendimiento de calabaza pipiana en función de la poda y la densidad de población. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. México. 87 pp.
- Correa, S., Mello, M., Ávila, Z. R., Minaré, B. L., Pádua, R. R., Gómez, D. 2007. Cepas de *Trichoderma* spp. para el control biológico de *Sclerotium rolfsii* Sacc. *Fitosanidad* 11(1):3-9.
- Dong, D. N., Hong, X. L., Chun, H. J., Yun, P. W., Qing, Y. W., Hai, L. J., and Jian, H. G. 2011. The Plant Growth-Promoting Rhizobacterium *Bacillus cereus* AR156 Induces Systemic Resistance in *Arabidopsis thaliana* by Simultaneously Activating Salicylate- and Jasmonate/Ethylene-Dependent Signaling Pathways. *The American Phytopathological Society* 24:533-542.



- Díaz, N. J. F. 2011. Respuesta de la calabaza pipiana y a la fertilización foliar y a las características fisicoquímicas del suelo. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. México. 80 p.
- Durán R., J. A. 2009. Apuntes sobre Formulación y Evaluación de Proyectos Agropecuarios. CEP-CSAEGRO. Segunda edición. Cocula, Gro. México. 130 p.
- Easton, G. B., Maxwell, R. C., Oldenburg, C. R., and Anderson, P. D. 1970. Terraclor (PCNB) for control of *Rhizoctonia solani*. II. PCNB residues in tubers. 430-434 PP American Potato Journal 47: 430-434.
- Edlich, W., and Lyr, H. 1992. Target sites for fungicides with primary effects on lipid peroxidation. Pages 5368 in: Target Sites of Fungicide Action. W. Köller, ed. CRC Press, Boca Raton.
- El-Katatny, M. H., and Emam A. S. 2012. Control of postharvest tomato rot by spore suspension and antifungal metabolites of *Trichoderma harzianum*. Journal of Microbiology, Biotechnology 1 (6) 1505-1528.
- Emmert, E. A. B., and Handelsman, J. 1999. Biocontrol of plant disease: a (gram-) positive perspective. FEMS Microbiol. Lett. 171:1-9.
- Errakhi, R., Bouteau, F., Lebrihi, A., Barakate, M. 2007. Evidences of biological control capacities of *Streptomyces* spp. against *Sclerotium rolfsii* responsible for damping-off disease in sugar beet (*Beta vulgaris* L.). World J Microbiol Biotechnol. 23:1503-1509.
- Ezziyyani, M., Requena, M. E., and Candela, M. E. 2005. Production of PR proteins during the induction of resistance to *Phytophthora capsici* in pepper (*Capsicum annuum* L.) plants treated with *Trichoderma harzianum*. An. Biol. 27:143-153.
- Ezziyyani M, Requena ME, Egea-Gilabert C, Candela ME. 2007. Biological control of phytophthora root rot of pepper using *Trichoderma harzianum* and *Streptomyces rochei* in combination. Phytopathology 155:342-349.
- Félix, G. R., Gálvez, F. C. A., y Trinidad, C. R. 2004. Aplicación de los sistemas Blitecast y Tomcast en el manejo del tizón tardío, *Phytophthora infestans* (Mont.) de Bary, en papa (*Solanum tuberosum* L.) y tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el norte de Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 22:259-267.
- Femenía, R. M. E. 2007. Caracterización química de cepas de hongos del género *Colletotrichum*: síntesis de gloeosporiol. Diseño y síntesis de modelos de agentes fungiestáticos. Tesis doctoral. Departamento de Química Orgánica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz. Cádiz, España. 364 p.



- García, E. 2005. Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köpen. 4ª Edición. Instituto de Geografía. Universidad autónoma de México. 217. p.
- García, L. N. 2005. Frecuencia de fertilización mineral (17-17-17) en calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma* Huber.) en Cocula, Guerrero. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. México. 67 p.
- Gent, D. H., Ocamb, C. M., and Farnsworth, J. L. 2010. Forecasting and management of hop downy mildew. *Plant Dis.* 94:425-431.
- Gisi, U., and Cohen, Y. 1996. Resistance to phenylamide fungicides: A case study with *Phytophthora infestans* involving mating type and race structure. *Annual Review of Phytopathology* 34:549-572.
- Gisi, U., and Sierotzki, H. 2008. Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. *Eur J Plant Pathol.* 122:157-167.
- Gómez, D. E., Reis, E. M. 2011. Inductores abióticos de resistencia contra fitopatógenos. *Química Viva* 10(1):6-17.
- Gómez, M. E. A. 2004. Fluctuación poblacional de moscas blancas y áfidos e incidencia de virosis en función de la poda e insecticidas en calabaza pipiana. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. México. 111 p.
- Gobierno del Estado de Guerrero. 2012. Enciclopedia Guerrerense. Municipios del estado de Guerrero. En la red: <http://guerrero.gob.mx/municipios/>. Chilpancingo, Guerrero. México.
- Granados, M. Del M. 2005. Pudrición blanca de la cebolla: una enfermedad difícil de combatir. *Agronomía Costarricense* 29(2): 143-156.
- Gutiérrez, A. O., y Gutiérrez, A. J. G. 2003. Evaluación de resistencia a benomil, thiabendazol y azoxystrobin para el control de antracnosis (*Colletotrichum gloesporioides* Penz.) en frutos de guayaba (*Psidium guajava* L.) en postcosecha. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:228-232.
- Harman, G. E. 2006. Overview of mechanisms and uses of *Trichoderma* spp. *Phytopathology* 96:190-194.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nat. Rev. Microbiol.* 2:43-56.
- Harman, G., Bjorkman, T., Ondik, K. L., and Shores, M. 2008. Changing paradigms on the mode of action and uses of *Trichoderma* spp. for biocontrol. *Outlooks Pest Manage* 19:24-29.
- Harman, G. E., Obregón, M. A., Samuels, G. J., Lorito, M. 2010. Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developing and the developed world. *Plant Dis.* 94(8):928-939.



- Hill, S. N., and Hausbeck, M. K. 2008. Virulence and fungicide sensitivity of *Phytophthora cactorum* isolated from American ginseng gardens in Wisconsin and Michigan. *Plant Dis.* 92:1183-1189.
- Howell, C. R. 2006. Understanding the mechanisms employed by *Trichoderma virens* to effect biological control of cotton diseases. *Phytopathology* 96:178-180.
- Hu, J., Hong, C., Stromberg, E. L., and Moorman, G. W. 2007. Effects of propamocarb hydrochloride on mycelial growth, sporulation, and infection by *Phytophthora nicotianae* isolates from Virginia nurseries. *Plant Dis.* 91:414-420.
- Infante, D., González, N., Reyes, Y., B. Martínez. 2011. Evaluación de la efectividad de doce cepas de *Trichoderma asperellum* Samuels sobre tres fitopatógenos en condiciones de campo. *Rev. Protección Veg.* 26(3):194-197.
- Joo, J.G. 2005. Purification and characterization of an extracellular chitinase from the antifungal biocontrol agent *Streptomyces halstedii*. *Biotechnol. Lett.* 27:1483-1486.
- Johnson, D. A., Cummings, T. F., and Geary, B. 2000. Postinfection activity of selected late blight fungicides. *Plant Dis.* 84:1116-1120.
- Kerns, J. P., Soika, M. D., and Tredway, L. P. 2009. Preventive control of *Pythium* root dysfunction in creeping bentgrass putting greens and sensitivity of *Pythium volutum* to fungicides. *Plant Dis.* 93:1275-1280.
- Kim, H. J., Lee, S. H., Kim, C., Lim, E. K., Choi, K. H., Kong, H. G., Kim, D. W., Lee, S. W., and Moon, B. J. 2007. Biological control of strawberry gray mold caused by *Botrytis cinerea* using *Bacillus licheniformis* N1 formulation. *J Microbiol Biotechnol.* 17:438-444.
- Kloepper, J. W., Ryu, C. M., and Zhang, S. 2004. Induced systemic resistance and promotion of plant growth by *Bacillus* spp. *Phytopathology* 94:1259-1266.
- Korolev, N., David, R., and Elad, Y. 2007. The role of phytohormones in basal resistance and *Trichoderma*-induced systemic resistance to *Botrytis cinerea* in *Arabidopsis thaliana*. *Biocontrol* 53:667-668.
- Kui, J. L., Seralathan, K. K., Han, S. S. 2008. Biological control of *Phytophthora blight* in red pepper (*Capsicum annuum* L.) using *Bacillus subtilis*. *World Journal of Microbiology and Biotechnology* 24:1139-1145.
- Kumar, D., Gupta, R. K. 2006. Biocontrol of wood rotting fungi. *Indian J. Biotechnol.* 5: 20-25.
- Latin, R. 2011. Practical Guide to Turfgrass Fungicides. APS PRESS. St. Paul, Minnesota U.S.A. 270 p.



- Lee, J. P., Lee, S. W., Kim, C. S., Son, J. H., Song, J. H., Lee, K. Y., Kim, H. J., Jung, S. J., and Moon, B. J. 2006. Evaluation of formulations of *Bacillus licheniformis* for the biological control of tomato gray mold caused by *Botrytis cinerea*. Biol Control. 37:329-337.
- Leiva, M. M., Bernal, C. A., Alvarado, C. Y., Portal, G. Y., Acosta, S. M., Cruz, M. M., Sánchez, S., Roque, M. B. 2009. Evaluación in vitro de la actividad antifúngica de microorganismos biocontroladores frente a *Pythium derbayanum* Heese. Centro Agrícola. 36(2): 53-56.
- Lim, J. H., Jung, H. Y., and Kim, S. D. 2009. Development of the microbial consortium for the environmental friendly agriculture by the antagonistic rhizobacteria. J Appl Biol Chem. 52:116-120.
- Lim, J. H., and Kim, S. D. 2009. Synergistic plant growth promotion by the indigenous auxin-producing PGPR *Bacillus subtilis* AH18 and *Bacillus licheniformis* K11. J Korean Soc Appl Biol Chem. 52:231-538.
- Lim, J. H. and Kim, S. D. 2010. Biocontrol of Phytophthora Blight of Red Pepper Caused by *Phytophthora capsici* Using *Bacillus subtilis* AH18 and *B. licheniformis* K11 Formulations. J. Korean Soc. Appl. Biol. Chem. 53(6):766-773.
- Lira S., R. 1995. Estudios taxonómicos y ecogeográficos de las cucurbitáceas latinoamericanas de importancia económica. Instituto de Biología. Universidad Autónoma de México. México D.F. 151 p.
- Lira, R., Villaseñor, J. L., Ortiz, E. 2002. A proposal for the conservation of the family Cucurbitaceae in Mexico. Biodiversity and Conservation 11:1699-1720.
- López, B. J., Campos, C. J. C., Hernández, C. E., Velásquez, B. E., Farías, R. R., Macías, R. L. I., and Valencia, C. E. 2007. *Bacillus megaterium* Rhizobacteria Promote Growth and Alter Root-System Architecture Through an Auxin- and Ethylene-Independent Signaling Mechanism in *Arabidopsis thaliana*. The American Phytopathological Society 20:207-217.
- Lozano H., L. 2002. Adaptación de 10 genotipos de calabaza pipiana en Cocula, Gro. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro., México. 98 p.
- Madriz, K. O. A. 2002. Mecanismos de defensa en las interacciones planta-patógeno. Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica) 63:22-32.
- Martínez, H. I. 2009. Rendimiento de calabaza pipiana en respuesta al calzado de fruto y a las fertilizaciones química y biológica. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. México. 49 p.



- Martínez, R. R. D., Reyna, S. L., Torres, H. G., Mastache, L. A. A., Michel, A. A. C. 2011. Evaluación de la fertilidad y prolificidad en ciclos reproductivos de ocho meses durante tres estaciones en ovejas pelibuey en el trópico seco mexicano. *Revista Científica, FCV-LUZ* 21(5):383-387.
- Mastouri, F., Björkman, T., and Harman, G. E. 2010. Seed treatment with *Trichoderma harzianum* alleviates biotic, abiotic, and physiological stresses in germinating seeds and seedlings. *Phytopathology* 100:1213- 1221.
- Matheron, M. E., and Porchas, M. 2000. Impact of azoxystrobin, dimethomorph, fluazinam, fosetyl-Al, and metalaxyl on growth, sporulation, and zoospore cyst germination of three *Phytophthora* spp. *Plant Dis.* 84:454-458.
- May, L. L., and Kimati, H. 2000. Controle de *Phytophthora parasitica* com fungicidas e efeito desses produtos no crescimento micelial de *Trichoderma*. *Sum. Phytopathol.* 26:52-57.
- Mendoza, Z. C. 1990. Fungicidas sistémicos y su modo de acción. Universidad Autonoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. 91 p.
- Mew, T. W., Cottyn, B., Pamplona, R., Barrios, H., Xiangmin, L., Zhiyi, C., Fan, L., Nilpanit, N., Arunyanart, P., Kim, P. V., and Du, P. V. 2004. Applying rice seed-associated antagonistic bacteria to manage rice sheath blight in developing countries. *Plant Dis.* 88:557-564.
- Michel, A. A. C., Otero, S. M. A., Solano, P. L. Y., Ariza, F. R., Barrios, A. A. y Rebolledo, M. A. 2009. Biocontrol *in vitro* con *Trichoderma* spp. de *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *F. oxysporum* Schlecht., agentes causales de la “escoba de bruja” del mango (*Mangifera indica* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 27:18-26.
- Ming, M. Y., Liu, P. X., Qing, Y. X., Jing, H. Y., Quan, X., Hong, X. L., Jian, H. G. 2012. Screening potential bacterial biocontrol agents towards *Phytophthora capsici* in pepper. *Eur J Plant Pathol.* 134:811-820.
- Miklis, M., Consonni, C., Bhat, R. A., Lipka, V., Schulze-Lefert, P., and Panstruga, R. 2007. Barley MLO modulates actin-dependent and actin-independent antifungal defense pathways at the cell periphery. *Plant Physiol.* 144:1132-1143.
- Minuto, A., Spadaro, D., Garibaldi, A., Gullino, M. L. 2006. Control of soilborne pathogens of tomato using a commercial formulation of *Streptomyces griseoviridis* and solarization. *Crop Protection* 25:468-475.
- Moorman, G. W., and Kim, S. H. 2004. Species of *Pythium* from greenhouses in Pennsylvania exhibit resistance to propamocarb and mefenoxam. *Plant Dis.* 88:630-632.



- Montealegre, J., Valderrama, L., Sánchez, S., Herrera, R., Besoain, X., Perez, L. M. 2010. Biological control of *Rhizoctonia solani* in tomatoes with *Trichoderma harzianum* mutants. Elect. J. Biotechnol. 13(2):1-11.
- Montes, H. S., Merrick, L. C., Eguiarte, L. E. 2005. Maintenance of squash (*Cucurbita spp.*) landrace diversity by farmers' activities in Mexico. Genetic Resources and Crop Evolution 52: 697-707.
- Narayana, K. J. P., Vijayalakshmi, M. 2009. Chitinase production by *Streptomyces* sp. Anu 6277. Brazilian Journal of Microbiology 40:725-733.
- Navazio, L., Baldan, B., Moscatiello, R., Zuppini, A., Woo, S. L., Mariani, P., and Lorito, M. 2007. Calcium-mediated perception and defense responses activated in plant cells by metabolite mixtures secreted by the biocontrol fungus *Trichoderma atroviride*. BMC Plant Biol. 7:41-49.
- Nelson, M. E., Eastwell, K. C., Grove, G. G., Barbour, J. D., Ocamb, C. M., and Alldredge, J. R. 2004. Sensitivity of *Pseudoperonospora humuli* (the casual agent of hop downy mildew) from Washington, Idaho, and Oregon to fosetyl-Al (Aliette). Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2004-0811-01-RS.
- Newman, S. T. y F. Jacob. 1995. Principles of uptake and systemic transport of fungicides within the plant. pp. 53-73. En: H. Lyr (ed). Modern selective fungicides. Properties, applications, mechanisms of action. Gustav Fischer Verlag, Jena.
- Ojiambo, P. S., Paul, P. A., and Holmes, G. J. 2010. A quantitative review of fungicide efficacy for managing downy mildew in cucurbits. Phytopathology 100:1066-1076.
- Olivos, M. I., Mont, R. 1993. Use of fungicides and *Trichoderma viride* for the control of *Sclerotium rolfsii*. Fitopatología 28:16-20.
- Pérez, L., Battle, A., Hernández, A., Pérez, M., Trujillo, R., Álvarez, C., y A. Méndez. 2003. Evolución de la sensibilidad a fungicidas de las poblaciones de *Mycosphaerella fijiensis* Morelet en banano en Cuba. Fitosanidad 7(3):49-54.
- Pichardo, G. S. 1990. Evaluación de pentacloronitrobenceno (PCNB) en el control de la pudrición radicular causada por *Rhizoctonia solani* kuhn en frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Agronomía Mesoamericana 1:55-61.
- Pliego, C., Ramos, C., Vicente, A., Cazorla, F. M. 2011. Screening for candidate bacterial biocontrol agents against soilborne fungal plant pathogens. Plant Soil. 340:505-520.
- Poleatewich, A. M., Ngugi, H. K., and Backman, P. A. 2012. Assessment of application timing of *Bacillus* spp. suppress pre- and postharvest diseases of apple. Plant Dis. 96:211-220.



- Porras, M., Barrau, C., Arroyo, F. T., Santos, B., Blanco, C., and Romero, F. 2007. Reduction of *Phytophthora cactorum* in strawberry fields by *Trichoderma* spp. and soil solarization. Plant Dis. 91:142-146.
- Quiroga B., Nini, J., Arbeláez T. G. 2004. Evaluación de la eficacia de fungicidas aplicados al suelo y al follaje para el control de mildew veloso, ocasionado por *Peronospora sparsa* en un cultivo comercial de rosa. Agronomía Colombiana 22(2):110-118.
- Rapp, L., and Richter, J. 1982. Effect of propamocarb-hydrochloride (Previcur N) on several isolates of some *Pythium* and *Phytophthora* species in vitro and in vivo. J. Plant Dis. Prot. 89:487-497
- Reiter, B., Wenz, M., Buschhaus, H., and Buchenauer, H. 1995. Zűr Wirkung von propamocarb-hydrochlorid auf *Phytophthora infestans* in vitro und an kartoffeln und tomaten. Gesunde Pflanzen 47:43-50.
- Remsing, L., González, A. M., Nur-e-Alam, M., Fernández, L. M. J., Braña, A. F., Rix, U., Oliveira, M. A., Méndez, C., Salas, J. A., Rohr, J. 2003. Mithramycin SK, a novel antitumor drug with improved therapeutic index generated by combinatorial biosynthesis in the mithramycin producer *Streptomyces argillaceus*. Journal American Chemistry Society 125: 5745-5753.
- Reuveni, M., Eyal, M., and Cohen, Y. 1980. Development of resistance to metalaxyl in *Pseudoperonospora cubensis*. Plant Dis. 64:1108-1109.
- Reyes, Y., Martínez, B., Infante, D. 2008. Evaluación de la actividad antagónica de trece aislamientos de *Trichoderma* spp. sobre *Rhizoctonia* sp. Rev. Protección Veg. 23(2):112-117.
- Rodríguez, L., Aguirrezabalaga, I., Allende, N., Braña, A. F., Méndez, C., Salas, J. A. 2002. Engineering deoxysugar biosynthetic pathways from antibiotic-producing microorganisms: A tool to produce novel glycosylated bioactive compounds. Chemistry and Biology 9:721-729.
- Rondón, A., Flores, Y., Mujica, Y., Soto E. 1995. Control químico *in vitro* y en umbráculo del hongo causante de la pudrición blanca. Revista de la Facultad de Medicina Universidad del Zulia Maracaibo 12(1):1-13.
- Rudrappa, T., Biedrzycki, M. L., Kunjeti, S. G., Donofrio, N. M., Czymmek, K. J., Pare, P. W., and Bais, H. P. 2010. The rhizobacterial elicitor acetoin induces systemic resistance in *Arabidopsis thaliana*. Commun. Integr. Biol. 3:130-138.
- Ruocco, M., Lanzuise, S., Vinale, F., Marra, R., Turrà, D., Sheridan Lois Woo, S. L., and Lorito, M. 2009. Identification of a New Biocontrol Gene in *Trichoderma atroviride*: The Role of an ABC Transporter



- Membrane Pump in the Interaction with Different Plant-Pathogenic Fungi. *Molecular Plant-Microbe Interactions* 22(3):291-301.
- Sadeghi, A., Hessian, A. R., Askari, H., Aghighi, S., and Bonjar, G. H. S. 2006. Biological control potential of two *Streptomyces* isolates on *Rhizoctonia solani*, the causal agent of damping-off of sugar beet. *J Biol Sci* 9:904-910.
- SAGARPA. Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2012. Publicado en línea en: <http://www.siap.gob.mx>.
- Sánchez, H. M. Á., Villanueva, V. C., Sahagún, C. J., Channing, M. L. 2000. Variación genética y respuesta a la selección combinada en una variedad criolla de calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma* Huber var. *stenosperma*). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 6(2):221-240.
- Sánchez, R. I. 2009. Efecto de la densidad de población en el rendimiento de la calabaza pipiana. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. México. 50 p.
- Sánchez, H. M. Á., Mejía, C. A., Villanueva, V. C., Sahagún, C. J., Muñoz, O. A., Molina, G. J.D. 2004. Selección combinada de genotipos de calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma* Huber var. *stenosperma*) en el sistema milpa. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 10(1):57-66.
- SAS Institute Inc. 2009. SASuser's guide: Statistics. Release 6.03. Ed. SAS Institute incorporation, Cary, N.C. USA. 1028 p.
- Segarra, G., Van der Ent, S., Trillas, I., and Pieterse, C. M. J. 2009. MYB72, a node of convergence in induced systemic resistance triggered by a fungal and a bacterial beneficial microbe. *Plant Biol.* 11:90-96.
- Silimela, M., and Korsten, L. 2007. Evaluation of pre-harvest *Bacillus licheniformis* sprays to control mango fruit diseases. *Crop Prot.* 26:1474-1481.
- Tariq, M., Yasmin, S., Hafeez, F. Y. 2010. Biological control of potato black scurf by rhizosphere associated bacteria. *Braz. J. Microbiol.* 41:439-451.
- Thompson, 2012. Diccionario de especialidades agroquímicas 16a Edición. México, D.F. 1840 pp.
- Ulacio, D., E. Zavaleta, R. García, F. Delgadillo, A. Pedroza y A. Martínez. 2003. Materia orgánica y microorganismos antagonistas como estrategias de manejo de *Sclerotium cepivorum* Berk. y su impacto en el progreso de la pudrición blanca en ajo (*Allium sativum* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:346-354.



- Velázquez, R. R., Contreras, C. H. A., Macías, R. L., Hernández, M. A., Aguirre, J., Casas, F. S., López, B. J., and Herrera, E. A. 2011. Role of the 4-Phosphopantetheinyl Transferase of *Trichoderma virens* in Secondary Metabolism and Induction of Plant Defense Responses. MPMI. The American Phytopathological Society 24(12):1459-1471.
- Velikorodov, A. V., Kovalev, V. B., Degtyarev, O. V. and O. L. Titova 2011.. Synthesis and Antifungal Activity of Some Carbamate Containing Azaheterocycles. Pharmaceutical Chemistry Journal 44(10):536-539.
- Verhagen, B., Trotel-Aziz, P., Jeandet, P., Baillieul, F., and Aziz, A. 2011. Improved resistance against *Botrytis cinerea* by grapevine-associated bacteria that induce a prime oxidative burst and phytoalexin production. Phytopathology 101:768-777.
- Viterbo, A., and Chet, I. 2006. TasHyd1, a new hydrophobin gene from the biocontrol agent *Trichoderma asperellum*, is involved in plant root colonization. Mol. Plant Pathol. 7:249-258
- Wang, Y., Bao, Y., Shen, D., Feng, W., Yu, T., Zhang, J., Zheng, X. D. 2008. Biocontrol of *Alternaria alternata* on cherry tomato fruit by use of marine yeast *Rhodospiridium paludigenum* Fell & Tallman. Int. J. Food Microbiol. 123:234-239.
- Woo, S. M., Jung, H. K., and Kim, S. D. 2006. Cloning and characterization of a cellulase gene from a plant growth promoting rhizobacterium, *Bacillus subtilis* AH18 against *Phytophthora* blight disease in red-pepper. Korean J Microbiol Biotechnol. 34:311-317.
- Woo, S. M., and Kim, S. D. 2008. Structural identification of siderophore AH18 from *Bacillus subtilis* AH18, a biocontrol agent of *Phytophthora* blight disease in red-pepper. Korean J Microbiol Biotechnol. 36:326-335.
- Xiao, K., Kinkel, L. L., Samac, D. A. 2002. Biological control of *Phytophthora* root rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces*. Biol Control. 23:285-295.
- Yang, M. M., Xu, L. P., Xue, Q. Y., Yang, J. H., Xu, Q., Liu, H. X., Guo, J. H. 2012. Screening potential bacterial biocontrol agents towards *Phytophthora capsici* in pepper. Eur J Plant Pathol. 134:811-820.
- Yao, A. V., Bochow, H., Karimov, S., Boturov, U., Sanginboy, S., and Sharipov, A. K. 2006. Effect of FZB24® *Bacillus subtilis* as a biofertilizer on cotton yields in field tests. Arch Phytopathol Plant Prot. 39:1-6.



- Yedidia, I., Benhamou, N., Kapulnik, Y., and Chet, I. 2000. Induction and accumulation of pathogenesis related protein activity during the early stages of root colonization by *Trichoderma harzianum*. Plant Physiol. Biochem. 38:863-873.
- Zeriuouh, H., Romero, D., García, G. L., Cazorla, F. M., De Vicente, A., and Pérez, G. A. 2011. The Iturin-like Lipopeptides Are Essential Components in the Biological Control Arsenal of *Bacillus subtilis* Against Bacterial Diseases of Cucurbits. 24:1540-1552.
- Zhang, J. X., Xue, A. G., and Tambong, J. T. 2009. Evaluation of seed and soil treatments with novel *Bacillus subtilis* strains for control of soybean root rot caused by *Fusarium oxysporum* and *F. graminearum*. Plant Dis. 93:1317-1323.
- Zhu, Y., Jieru, P., Junzhi., Xiong, G. 2008. Isolation and characterization of a chitinase gene from entomopathogenic fungus *Verticillium lecanii*. Braz. J. Microbiol. 39:314-320.
- Zitter, T. A., Hopkins, D. L., Thomas, C. E. 2004. Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas. The American Phytopathological Society. Ediciones Mundi Prens. 88 p.



CAPÍTULO IV. CONTROL QUÍMICO Y BIOLÓGICO *IN VIVO* DE HONGOS FITOPATÓGENOS SOBRE FRUTOS TIERNOS DE CALABAZA PIPIANA (*Cucurbita argyrosperma* Huber) EN INVERNADERO

1. INTRODUCCIÓN

El hábito de crecimiento rastrero e indeterminado del cultivo de calabaza pipiana (*C. argyrosperma*), así como las características de los suelos planos y arcillosos, generan un microclima que favorece la incidencia de problemas fitosanitarios, principalmente enfermedades causadas por hongos habitantes del suelo, como el oomiceto *Phytophthora capsici* y los hongos *Fusarium subglutinans*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium rolfsii*, generando un alto índice de pudrición de frutos reduciendo los rendimientos hasta en un 90% y por esta razón los beneficios de los productores se ven reducidos (Ayvar *et al.*, 2007; Ayvar *et al.*, 2010; Díaz, 2011). En el estado de Guerrero la información sobre aspectos fitosanitarios en el cultivo de calabaza pipiana es prácticamente nula. Sin embargo es importante validar alternativas de control incluyendo productos de origen químico y biológico para el control de estos patógenos, con la finalidad superior de reducir la incidencia de patógenos e incrementar el rendimiento del cultivo y hacer rentable esta práctica.

Aún cuando en muchos cultivos los agroquímicos han permitido obtener incrementos significativos en la producción, su uso indiscriminado ha ocasionado problemas de contaminación ambiental que han impactado negativamente la biodiversidad de los agroecosistemas, causando la inestabilidad de los mismos que se manifiesta, entre otros efectos nocivos, en una incidencia mayor de enfermedades en los cultivos. Esto ha conducido a la búsqueda y establecimiento de alternativas de manejo de las enfermedades (Zavaleta, 2000). El control biológico es una alternativa de manejo de las enfermedades causadas por organismos fitopatógenos habitantes del suelo (Zavaleta, 1994). Especies de *Trichoderma* son considerados como agentes antagonistas en el control biológico prometedores contra numerosos hongos fitopatógenos (Mohamed y Haggag, 2006). *Trichoderma* spp., son de los hongos más estudiados y comercializado como bioplaguicidas y biofertilizantes (Harman, 2000; Harman *et al.*, 2004). En general, la actividad de lipopéptidos de *Bacillus* spp. se utilizan con mayor frecuencia contra hongos patógenos, sin embargo, algunos informes han demostrado la actividad antagónica de *Bacillus* spp. contra algunas bacterias fitopatógenas (Etcheagaray *et al.*, 2008; Zeriuoh *et al.*, 2011). En México se han realizado pocas investigaciones para el manejo biológico de fitopatógenos habitantes del suelo, mediante el uso de microorganismos antagonistas, la mayoría se han realizado a nivel de laboratorio (Castillo *et al.*, 2001; Michel *et al.*, 2009).



2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivos

- Determinar en cuantos días inicia la aparición de colonias de patógenos en frutos tiernos de calabaza pipiana
- Evaluar el efecto de la aplicación de productos químicos y biológicos in vivo, contra cuatro hongos asociados a la pudrición de frutos tiernos de calabaza pipiana.

2.2. Hipótesis

- El empleo de productos químicos y biológicos permite obtener un control del desarrollo de enfermedades causadas por hongos en frutos tiernos de calabaza pipiana
- En promedio los productos químicos y biológicos generan un control similar sobre los hongos, en frutos tiernos de calabaza pipiana

3. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se realizó en el laboratorio de hongos fitopatógenos y en el invernadero de fitopatología del Departamento de Parasitología Agrícola, de la Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México.

3.1. Material vegetal

El material vegetal utilizado fue el genotipo AP de calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma*), utilizando solo frutos tiernos de aproximadamente 150 g de peso.

3.2 Obtención, preparación y cuantificación del inóculo

De un muestreo previamente realizado en dos sitios de cultivo del estado de Guerrero, en parcelas comerciales de calabaza pipiana (*C. argyrosperma*) sobre frutos con diferentes síntomas y niveles de daño; se obtuvieron aislamientos monozoospóricos de *Phytophthora capsici*, sembrado en medio de cultivo V8-Agar (Singleton *et al.*, 1992), un cultivo monoconidial de *Fusarium subglutinans* (Leslie y summerell, 2006)



y dos cultivos puros por medio de punta de hifa, de *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*. Los tres últimos patógenos se sembraron en medio papa-dextrosa-agar (PDA) (Singlenton *et al.*, 1992). Todos los patógenos fueron identificados morfológica y molecularmente (Capítulo 2). Los aislamientos antes mencionados se cultivaron en medio V8-Agar y PDA para su incremento masivo. Después de 15 días de crecimiento, se obtuvo el inóculo de cada uno de los aislamientos, tal y como se describe a continuación.

***Phytophthora capsici*.** En cajas Petri con 20 ml de agua destilada estéril se colocaron 10 discos de medio de cultivo que contenían micelio de *P. capsici*. El material se incubó a 25°C por tres días para la formación de esporangios y la posterior liberación de sus zoosporas, lo cual se logró después de poner las cajas Petri a 12°C por media hora (Ramírez y Romero, 1980). Posteriormente, con la ayuda de un hematocitómetro se ajustó una suspensión de zoosporas a una concentración de $4 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$.

***Fusarium subglutinans*.** El hongo se sembró en 10 cajas Petri con medio de cultivo PDA (Singlenton *et al.*, 1992), cuando el micelio del hongo cubrió la superficie total de las cajas, se le agregaron 20 ml de agua destilada estéril; después, con un portaobjeto se raspó el micelio para separar los conidios; la suspensión resultante se pasó a través de una manta de cielo para retener el micelio y permitir sólo el paso de conidios; el filtrado se colectó y con la ayuda de un hematocitómetro se preparó una suspensión de conidios de *F. subglutinans* a una concentración de $5 \times 10^6 \text{ ml}^{-1}$ (Rowe, 1980).

***Rhizoctonia solani*.** Este patógeno se sembró en 10 cajas Petri con medio de cultivo PDA (Singlenton *et al.*, 1992), una vez que el micelio cubrió totalmente la caja se agregaron 20 ml de agua destilada estéril y con un porta objeto se realizó un raspado del micelio, de la suspensión resultante y con un hematocitómetro se obtuvo una concentración de 8×10^5 unidades formadoras de colonias (UFC) ml^{-1} .

***Sclerotium rolfsii*.** Este hongo se sembró en 10 cajas Petri con medio de cultivo PDA (Singlenton *et al.*, 1992), cuando el hongo cubrió totalmente la caja de micelio se le adicionó 20 ml de agua destilada estéril y con un porta objeto estéril se realizó un raspado, la suspensión resultante se pasó a través de una manta de cielo para retener el paso de los esclerocios formados sobre el medio de cultivo, de igual forma con un hematocitómetro se obtuvo una concentración de $5 \times 10^6 \text{ UFC ml}^{-1}$.



3.3 Tratamientos

En base a los patógenos identificados se formaron 2 grupos de tratamientos, el primero dirigido al oomicete *Phytophthora capsici* y el segundo para los hongos *Fusarium subglutinans*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* (Cuadro 4.1).

Cuadro 4.1. Tratamientos utilizados para el grupo de patógenos.

No.	Tratamientos	
	<i>P. capsici</i>	<i>F. subglutinans</i> , <i>R. solani</i> y <i>S. rolfsii</i>
1.	<i>Trichoderma asperellum</i> cepa CSAEGRO	<i>Trichoderma asperellum</i> cepa CSAEGRO
2.	Phc® Biopak-F® (<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)	Phc® Biopak-F® (<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)
3.	Phc® RootMate® (<i>Trichoderma virens</i> cepa G-41)	Phc® RootMate® (<i>Trichoderma virens</i> cepa G-41)
4.	Q 2000 (iodo libre)	Q 2000 (iodo libre)
5.	Previcur® energy (propamocarb + fosetilo)	Benomil (benomilo 50%)
6.	Ridomil gold® Bravo (metalaxyl + clorotalonil)	Pentaclor* 600 F (quintozeno: PCNB 46%)
7.	Testigo (Sólo agua destilada)	Testigo (Sólo agua destilada)

Fuente: Thompson (2012).

3.4 Obtención y preparación del inóculo de *Trichoderma asperellum* cepa CSAEGro

Colecta de muestra de suelo. Se realizó un muestreo en el sitio de cultivo CSAEGRO (ver Capítulo 2), se obtuvieron 5 tomas de 1 kg de suelo bajo el método “cinco de oros”, las cuales se mezclaron y homogenizaron. De esta mezcla se eligió 1 kg de suelo. Cada toma de suelo se realizó a una profundidad de 20 cm y se eliminó la materia orgánica superficial y los primeros 4 cm de suelo. Las tomas de suelo se transportaron en bolsas de plástico al laboratorio de fitopatología del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, donde se mantuvieron en refrigeración a 10 °C hasta el momento de su procesamiento.

Aislamiento e identificación de *Trichoderma asperellum*. Los aislados de *Trichoderma* spp. se obtuvieron mediante el método de dilución de esporas en caja Petri, tomándose de cada muestra compuesta 1 g de suelo, diluido en 10 ml (proporción 1/10 p/v) de agua destilada estéril hasta obtener



diluciones 1/100 y 1/1000. De las diluciones 1/100 y 1/1000 se tomó una alícuota de 0.5 ml y se distribuyó homogéneamente sobre una caja Petri que contenía medio de cultivo PDA. Estas, se incubaron a temperatura ambiente por 10 días. Se utilizaron en total 10 cajas Petri por cada muestra compuesta de suelo. Del aislado se realizó la purificación por medio de cultivos monosporicos. *Trichoderma asperellum* se identificó morfológica y molecularmente (Capítulo 2) (Barnett y Hunter, 1998; Wantanabe, 2002).

Preparación del inóculo. De la cepa de *T. asperellum* obtenida se sembraron en 15 cajas Petri tres discos de 5mm de diámetro, con medio de cultivo PDA, y se incubaron durante 15 días a temperatura ambiente en el laboratorio de fitopatología, pasado este tiempo y una vez que el micelio de *Trichoderma* había llenado completamente la caja Petri, se le adicionaron 20 ml de agua destilada estéril y con un porta objeto estéril se realizó un raspado, de la suspensión resultante y con un hematocitómetro se obtuvo una concentración de 1×10^8 UFC ml⁻¹.

3.5 Aplicación de los tratamientos

Los tratamientos antes descritos fueron aplicados a los frutos tiernos de calabaza pipiana de 150 g de peso con la ayuda de un aspersor manual a las siguientes dosis:

Cuadro 4.2. Tratamientos y dosis utilizadas.

Tratamiento	Dosis ha ⁻¹
<i>Trichoderma asperellum</i> cepa CSAEGRO	1×10^8 UFC ml ⁻¹
Phc® Biopak-F® (<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.)	625 g
Phc® RootMate® (<i>Trichoderma virens</i> cepa G-41)	456 g
Q 2000 (iodo libre)	2.5 L
Previcur® energy (propamocarb + fosetilo)	2.5 L
Ridomil gold® Bravo (metalaxyl + clorotalonil)	3.0 L
Benomil (benomilo 50%)	500 g
Pentaclor* 600 F (quintozeno: PCNB 46%)	3.0 L

Fuente: Thompson (2012).



Después de 5 horas de la aplicación de los tratamientos antes mencionados a los frutos tiernos de calabaza pipiana y con la finalidad de permitir la reentrada de los Tratamientos (excepto el tratamiento 7), fueron inoculados con *Phytophthora capsici* (4×10^6 zoosporas ml^{-1}), *Fusarium subglutinans* (5×10^6 conidios ml^{-1}), *Rhizoctonia solani* (8×10^5 UFC ml^{-1}) y *Sclerotium rolfsii* (5×10^6 UFC ml^{-1}).

Una vez aplicados los tratamientos se procedió a usar un humidificador por 4 días por periodos de 3 horas, dentro del cubículo del invernadero donde se estableció el experimento, para darle condiciones adecuadas de humedad a los patógenos y simular las condiciones de temporal, se colocó también un termómetro para medir las temperaturas mínimas y máximas así como también la humedad relativa.

3.6 Diseño experimental

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar, con tres repeticiones, la unidad experimental constó de 4 frutos tiernos de calabaza pipiana, la parcela útil fueron los 4 frutos.

3.7 Variable estudiada

Días a la presencia del patógeno. Esta fue la única variable en estudio, debido a la naturaleza de la investigación, y consistió en determinar en cuantos días después de la aplicación de los tratamientos e inoculación de los patógenos, iniciaba la aparición de colonias de patógenos sobre los frutos tiernos de calabaza.

3.8 Análisis estadístico

Los datos obtenidos se sometieron a análisis de varianza individuales para cada uno de los patógenos, así como análisis de varianza combinados a través de los diferentes patógenos. De igual forma se realizaron pruebas de comparaciones múltiples de medias utilizando el método LSD con nivel de significancia al 5%. También se empleó contrastes ortogonales, con la finalidad de poder comparar y evaluar el efecto promedio del grupo de productos biológicos contra el promedio de los productos químicos. Los análisis mencionados se realizaron usando el software Statistical Analysis System (SAS, por sus siglas en inglés. SAS, 2009).



4. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

El resumen de los análisis de varianza individuales y el análisis combinado, así como también las pruebas de comparaciones múltiples de medias y la prueba de contrastes ortogonales de esta variable en estudio se muestran en el apéndice en los cuadros 78-A al 87-A.

Días a la presencia del patógeno

Es una característica importante, puesto que una vez identificada la presencia del patógeno en frutos tiernos, el fruto se daña por completo y se pierde, es por eso que solo se midió la ausencia o presencia del patógeno en frutos. Para *Phytophthora capsici* existió diferencia altamente significativa ($P < 0.0001$), la prueba de comparación múltiple de medias (LSD) formó diferentes grupos. Los tratamientos de origen químico fueron los más sobresalientes, correspondiendo al tratamiento 5 (propamocarb+fosetylo) y 6 (metalaxil+clorotalonil), estos ingredientes activos retrasaron la presencia del patógeno hasta el día 6. En el testigo el patógeno apareció a los 2.83 días (Figura 4.1).

Al respecto Hu *et al.* (2007) señalan que el propamocarb y fosetylo tienen una buena acción protectora y curativa contra oomicetos, siendo esto respaldado con lo encontrado para este patógeno en la presente investigación. Por su parte Reiter *et al.* (1995) citan que el ingrediente activo propamocarb inhibe la formación de oosporas en *P. infestans*. Sin embargo, se reporta que el fosetylo tiene un alto grado de actividad sistémica y eficacia generalmente superior contra oomicetos, ejerciendo un buen control (Nelson *et al.*, 2004; Gent *et al.*, 2010). Se ha observado también que el metalaxil ha reducido el progreso de enfermedades ocasionadas por oomicetos (Aegerter *et al.*, 2002).

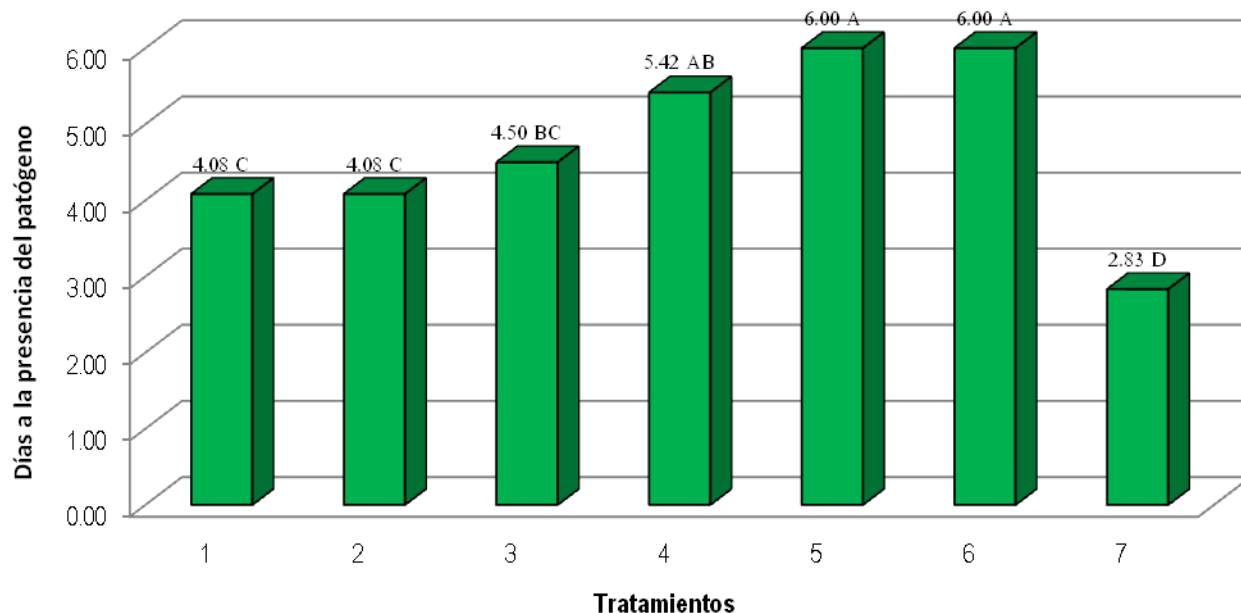


Figura 4.1. Días a la presencia de *Phytophthora capsici* en función de los tratamientos.

Para *Fusarium subglutinans*, el análisis de varianza detectó evidencias altamente significativas ($P < 0.0001$), la prueba de comparación múltiple de medias (LSD) formó diversos grupos. El tratamiento que retrasó más los días de aparición del patógeno fue el tratamiento 6 (quintozeno: PCNB), con 5.67 días, de igual forma que en el patógeno anterior, en el testigo las primeras colonias aparecieron a los 2.83 días después de la inoculación (Figura 4.2).

El quintozeno (Pentacloronitrobenceno: PCNB) se ha utilizado en cucurbitáceas para el control de diferentes patógenos (Cohen *et al.*, 1999; Granados, 2005). A pesar de que investigadores comentan que este ingrediente activo en la actualidad no tiene eficacias de control superiores a un 50% y que sus bondades de control no son tan satisfactorias; este fungicida ejerció un buen control, puesto que no existe resistencia por parte del patógeno debido a que nunca ha sido utilizado en el cultivo de calabaza en la zona de donde se aisló el patógeno, siendo de esta manera susceptible a este ingrediente activo; potencializando su control debido a que es un fungicida de contacto con diferentes sitios de acción, entre los cuales se reportan: degradación de lípidos en membrana celular, destrucción mitocondrial y destrucción de enzimas involucradas en síntesis de pared celular (Latin, 2011).

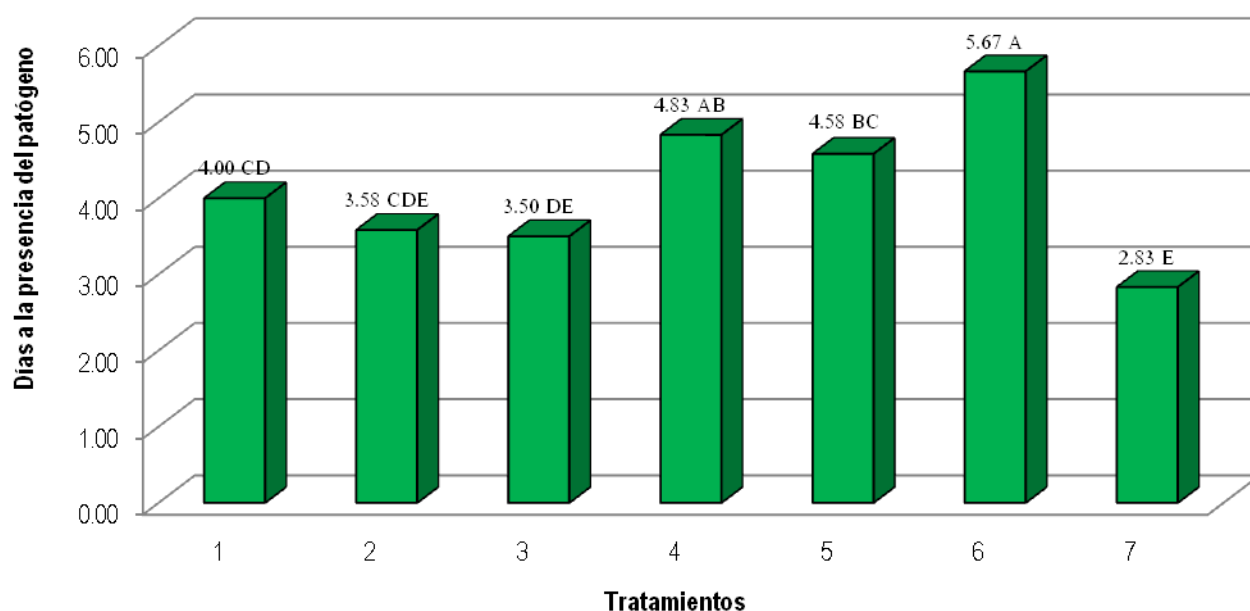


Figura 4.2. Días a la presencia de *Fusarium subglutinans* en función de los tratamientos.

Para *Rhizoctonia solani*, el análisis de varianza mostró diferencias significativas ($P=0.01$), la prueba de comparación múltiple de medias (LSD) formó varios grupos. Los tratamientos más destacados por retardar la aparición de colonias del patógeno fueron el 1 (*Trichoderma asperellum* cepa CSAEGRO), 4 (iodo libre) y 6 (quintozeno: PCNB), estos tratamientos postergaron la aparición de colonias de patógeno en 4.67, 4.42 y 4.42 días, respectivamente, para este patógeno en el testigo las primeras colonias del patógeno aparecieron a los 3.17 días (Figura 4.3).

La especie nativa de *Trichoderma asperellum* registró rapidez en crecimiento micelial y esporulación al momento de preparar el inóculo en laboratorio para este trabajo, además de que esta cepa logró ejercer buen control en campo, aunado a esto Zitter *et al.* (2004) citan que la temperatura óptima de *Rhizoctonia solani*, es de 27°C para invadir un alto porcentaje de frutos de calabaza, en el registro de temperaturas en invernadero no se llegó a esa temperatura. Kullnig *et al.*, (2001) afirman que los factores clave que contribuyen al efecto antagónico de *Trichoderma* es su rápido crecimiento, producción de metabolitos antimicrobianos y características fisiológicas. Hoyos *et al.* (2008) evaluaron varios aislamientos de *Trichoderma in vitro* e invernadero como agentes biocontroladores de *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* y la especie *asperellum* ejerció un buen control contra esos patógenos. En la presente investigación *R. solani* no tuvo las condiciones óptimas, dando oportunidad a *Trichoderma* de ejercer biocontrol; sin



embargo, *Trichoderma asperellum* Cepa CSAEGRO, demostró ser un buen agente biocontrolador en condiciones de campo (ver Capítulo 3).

El iodo libre ejerció un buen control de *R. solani*, lo cual se debe a que este ingrediente activo tiene cualidades germicidas (Thompson, 2006). Sin embargo, se apreció un control sobre este patógeno quizás a que no tuvo las condiciones ideales, puesto que en campo este ingrediente activo no presentó un control satisfactorio.

La actividad fungicida de los chloronitrobenzenos ha sido estudiada por varios investigadores. El pentacloro (PCNB, quintoceno) se ha utilizado como un fungicida comercial contra patógenos de plantas transmitidos por el suelo como *Rhizoctonia solani*. Generalmente se acepta que la fungitoxicidad de este fungicida es debida a la peroxidación de lípidos en las membranas (Mendoza, 1990; Femenía, 2007).

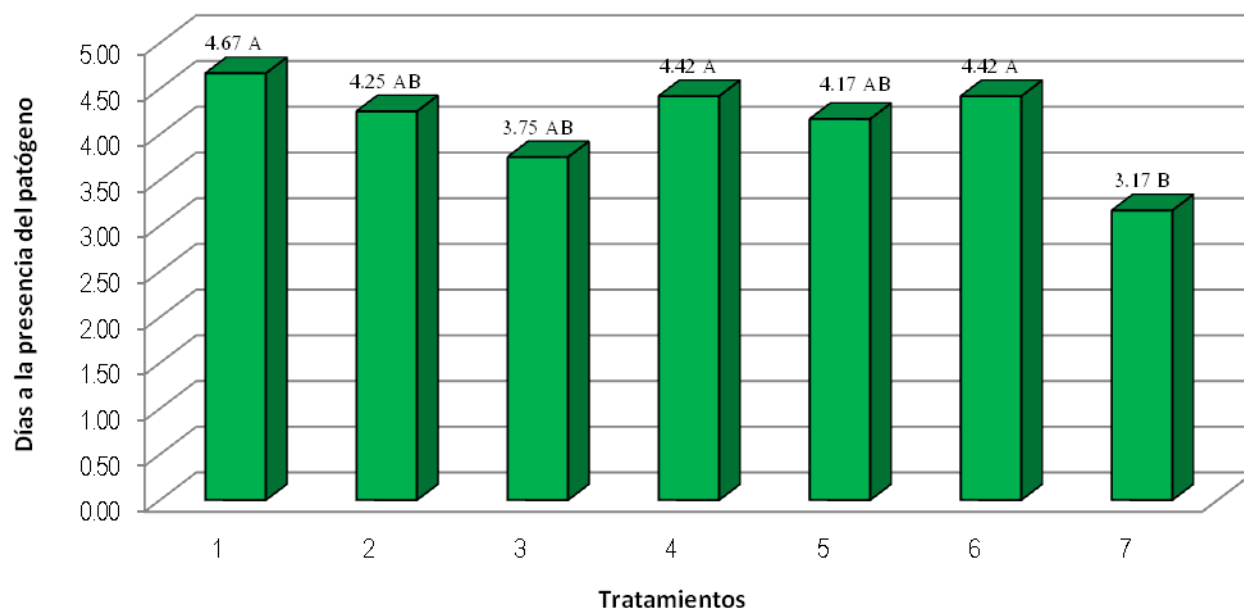


Figura 4.3. Días a la presencia de *Rhizoctonia solani* en función de los tratamientos.

En el caso de *Sclerotium rolfsii* el anova detectó diferencias significativas ($P=0.008$), la prueba de comparación múltiple de medias (LSD) formó diversos grupos. El tratamiento más sobresaliente fue el 5



(quintozeno: PCNB) debido a que prolongó la presencia de colonias del patógeno a los 5.83 días (Figura 4.4).

El quintozeno fue el ingrediente activo que retardó más la aparición del patógeno; sin embargo, es notable que la presencia en promedio apareció a los 4 días, es importante mencionar que este patógeno el mayor daño lo ocasiona en frutos sazones o maduros, cuando en el campo el follaje del cultivo cae y hay mayor incidencia de luz solar y las temperaturas del suelo se incrementan, esas son condiciones adecuadas para la proliferación del patógeno (Sergio Ayvar Serna, Comunicación personal).

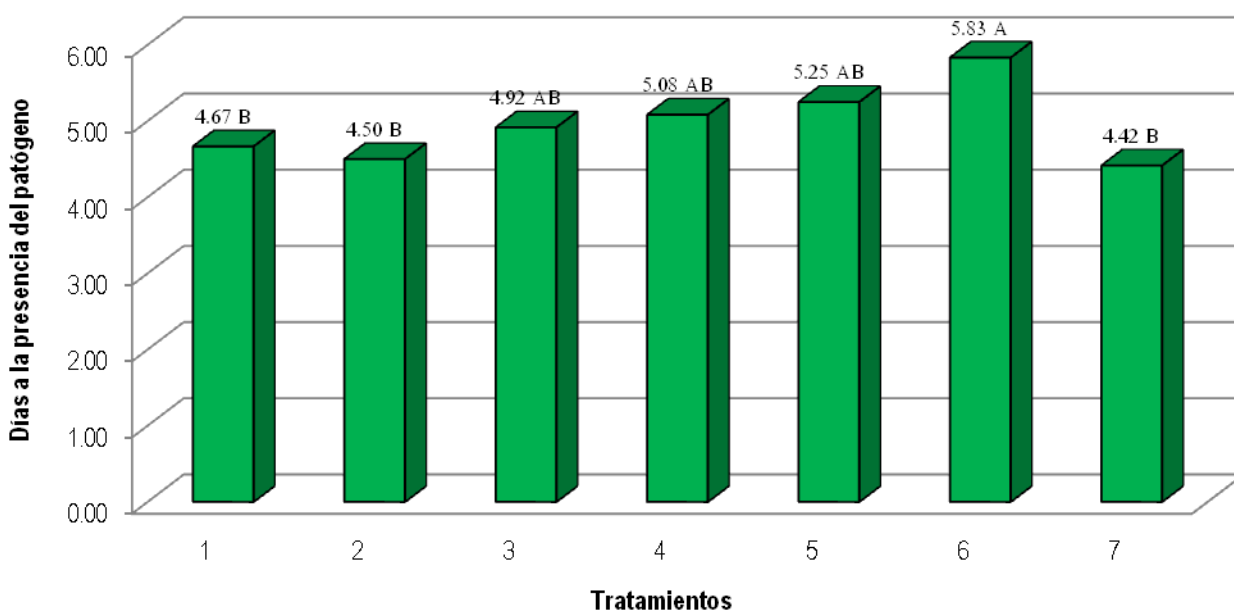


Figura 4.4. Días a la presencia de *Sclerotium rolfsii* en función de los tratamientos.

En el análisis combinado a través de los patógenos *Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium*, el análisis de varianza detectó diferencias altamente significativas para tratamientos ($P < 0.0001$), y significativas para los patógenos ($P = 0.002$). La prueba de comparación múltiple de medias (LSD) formó varios grupos. El mejor tratamiento fue el 3 (quintozeno: PCNB), ya que aplazó la presencia del patógeno hasta el día 5.30. En el testigo, la colonia de patógenos apareció a los 3.47 días. De estos patógenos el primero en aparecer fue *Rhizoctonia solani*, mientras que *Sclerotium rolfsii* fue el último en aparecer (Figura 4.5).

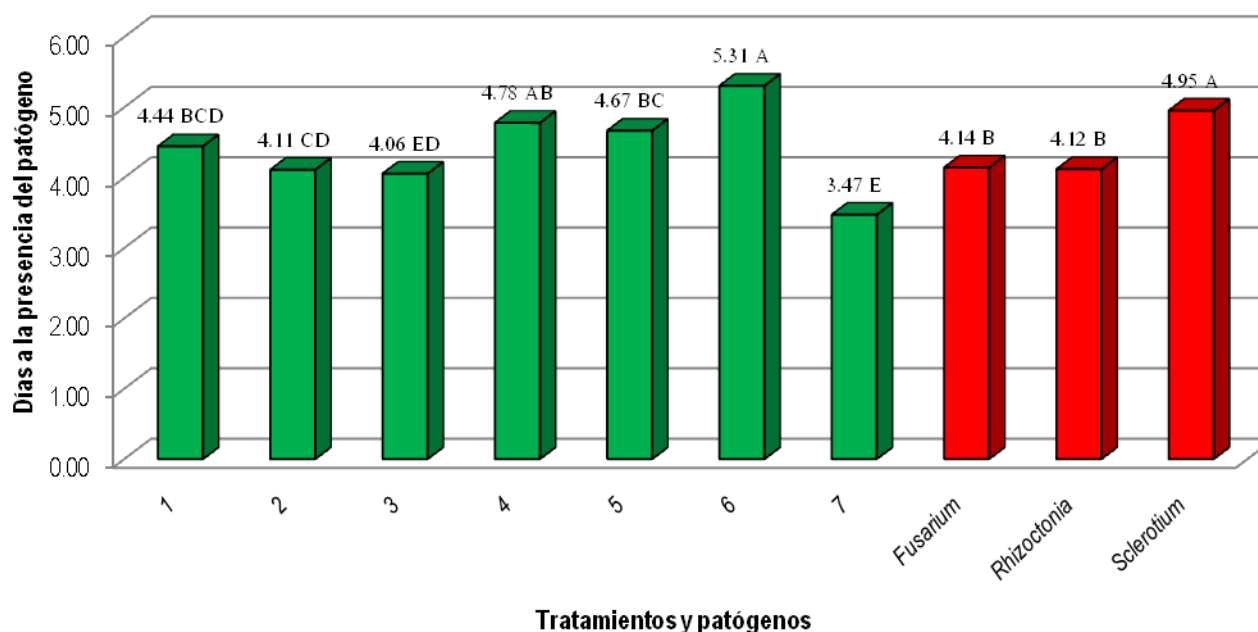


Figura 4.5. Días a la presencia de colonias de patógenos en función de los tratamientos y de los hongos fitopatógenos.

Estos resultados son similares a los encontrados en la fase de campo de este experimento y reafirman el buen control que ejerció el quintozeno (PCNB) sobre los hongos en frutos tiernos de calabaza pipiana, y a pesar de que varios investigadores reportan que el quintozeno ha perdido su efectividad en el control de patógenos al paso de los años (Pichardo, 1990; García *et al.*, 2012), esto demuestra que estos patógenos en este cultivo no se han sometido a la presión del ingrediente activo, por lo tanto estas cepas de fitopatógenos son susceptibles al quintozeno. Sin embargo, es importante no abusar del producto y manejar las dosis adecuadas.

Prueba de contrastes ortogonales

En el apéndice en los cuadros del 78-A al 87-A se muestran los resultados de las probabilidades y los mejores grupos de la prueba de contrastes ortogonales. En los análisis individuales para *Phytophthora*, la comparación entre productos biológicos contra los químicos resultó altamente significativa ($P < 0.0001$), el grupo de tratamientos biológicos en promedio retardó en 4.22 días la aparición del patógeno, mientras que el grupo de tratamientos químicos la atrasó en promedio 5.80 días, resultando mejor el grupo de tratamientos químicos con una diferencia en la aparición del patógeno de 1.58 días (Figura 4.6).



La comparación entre productos biológicos y químicos para *Fusarium*, resultó altamente significativa ($P < 0.0001$), los tratamientos biológicos en promedio retardaron 3.69 días la aparición de síntomas en frutos, mientras que los tratamientos químicos 5.02 días, el grupo de tratamientos químicos fue el más destacado con una diferencia en la aparición del patógeno de 1.33 días (Figura 4.6).

Para *Rhizoctonia*, la comparación de productos resultó no significativo ($P = 0.600$), el grupo de productos biológicos en promedio atrasó 4.22 días la aparición del patógeno, el grupo de productos químicos por su parte alargaron la presencia del hongo a 4.33 días. A pesar de que no existió diferencia significativa, el grupo de productos químicos fue ligeramente mejor con una diferencia en la aparición del patógeno de 0.11 días (Figura 4.6).

Finalmente para *Sclerotium*, la comparación entre productos biológicos contra los químicos resultó significativa ($P = 0.002$), el grupo de tratamientos biológicos en promedio retrasó en 4.69 días la aparición del patógeno, mientras que en el grupo de tratamientos químicos se presentó en promedio a los 5.38 días, resultando por tanto, mejor el grupo de tratamientos químicos con una diferencia de 0.69 días (Figura 4.6).

En el análisis combinado a través de los hongos en común (*Fusarium*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium*), la comparación entre productos biológicos contra los químicos resultó altamente significativa ($P < 0.0001$), el grupo de tratamientos biológicos en promedio retrasó en 4.20 días la aparición de estos patógenos, mientras que en el grupo de tratamientos químicos aparecieron en promedio a los 4.91 días, resultando mejor el grupo de tratamientos químicos con una diferencia de 0.71 días (Figura 4.6).

En el grupo de los productos biológicos los síntomas y la presencia de todos los patógenos fue en periodo de tiempo relativamente corto comparado con el grupo de productos químicos, los resultados de esta metodología reafirman lo descrito por varios autores quienes señalan que los microorganismos a utilizarse en el control biológico necesitan determinado tiempo y condiciones para establecerse y ejercer un control favorable (Harman *et al.*, 2010). Por su parte los productos químicos utilizados, en general retardaron la presencia de los patógenos por su efecto fungistático y curativo (Mendoza, 1990; Gisi y Sierotzki, 2008).

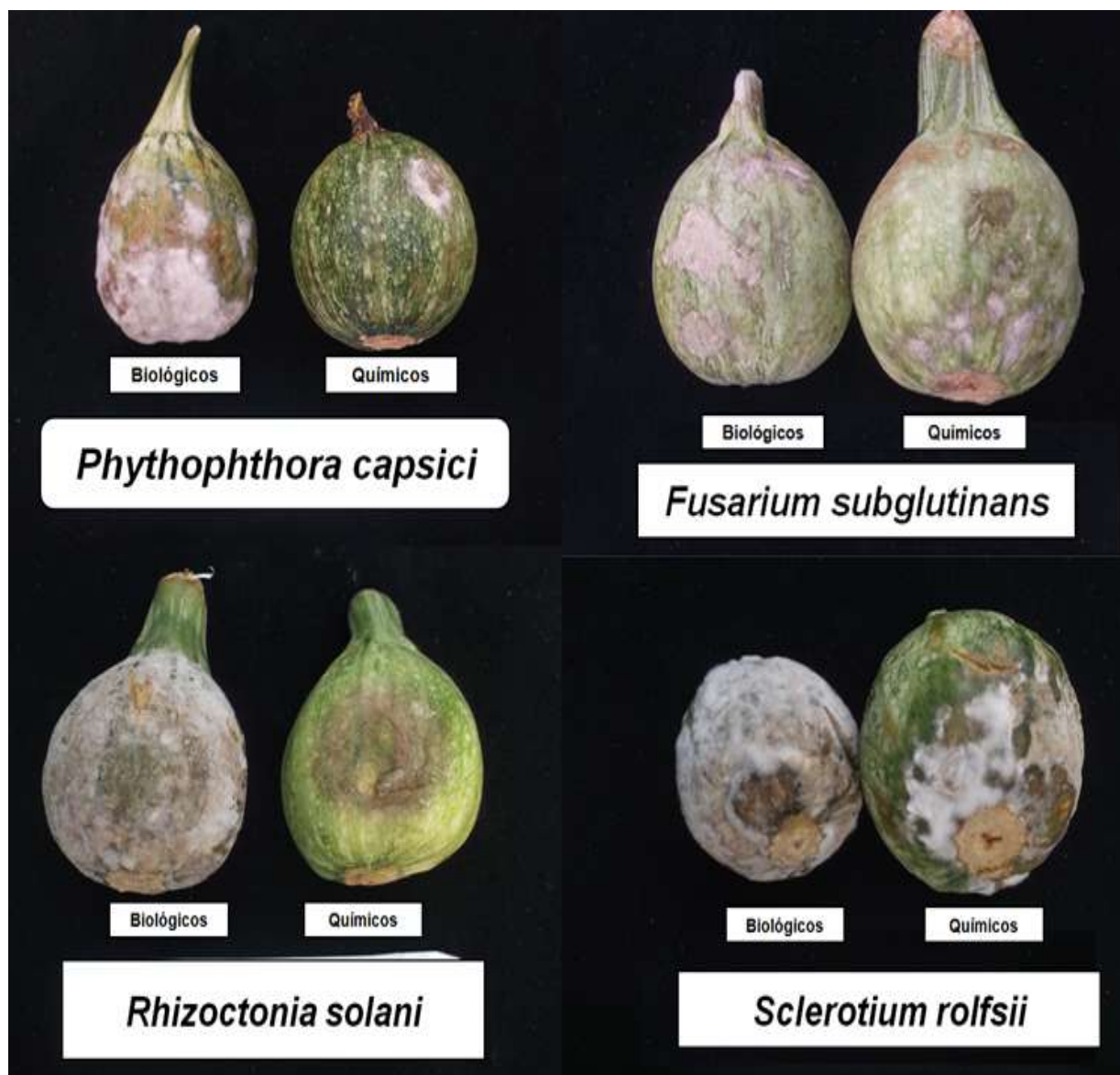


Figura 4.6. Efecto del grupo de tratamientos biológicos contra químicos para cada uno de los patógenos, en frutos tiernos de calabaza pipiana.

De lo anterior, se tiene que el grupo de productos químicos fueron los más destacados el retrasar la aparición del patógeno en frutos tiernos de calabaza; lo encontrado en la prueba de contrastes ortogonales en la parte de campo (Capítulo 3), indica que los productos de origen biológico, son efectivos solo que se les debe tener consideraciones en tiempo para obtener un buen biocontrol; y los más recomendables por sus ventajas ecológicas.



5. CONCLUSIONES

En base a los objetivos planteados y a los resultados obtenidos se concluye lo siguiente:

- El patógeno *Phytophthora capsici* en los frutos sin empleo de productos químicos o biológicos, se presentó a los 2.83 días después de la inoculación, los tratamientos químicos 5 (propamocarb+fosetyllo) y 6 (metalaxil+clorotalonil) fueron los mejores al retardar la presencia del patógeno al día 6.
- *Fusarium subglutinans*, en frutos sin control químico o biológico, apareció 2.83 días después de la inoculación, el tratamiento químico 6 (quintozeno: PCNB) fue el que retrasó la presencia del hongo hasta el 5.67 día.
- *Rhizoctonia solani*, en frutos sin empleo de productos se presentó a los 3.17 días, los tratamientos que retardaron más su presencia fueron el biológico 1 (*Trichoderma asperellum* cepa CSAEGRO), y los químicos 4 (iodo libre) y 6 (quintozeno: PCNB).
- *Sclerotium rolfsii*, para el caso de frutos en condiciones sin control químico o biológico se presentó al 4.42 día, el tratamiento químico 6 (quintozeno: PCNB) retardó la aparición del patógeno hasta 5.83 días.
- *P. capsici* fue el patógeno que apareció en el menor tiempo, *Sclerotium rolfsii* fue el que más tardó en aparecer.
- Los productos químicos fueron mejores en promedio que los biológicos, debido a que a estos últimos no se les dio la oportunidad de que se establecieran y colonizaran el fruto, y de esa forma tener posibilidades de ejercer un biocontrol o supresión de la enfermedad.



6. LITERATURA CITADA

- Aegerter, B., Davis, R. and J. Núñez. 2002. Detection and management of downy mildew in rose rootstock. *Plant. Dis.* 86:1363-1370.
- Ayvar, S. S., A. Mena. B., J. A. Durán R. R., Cruzaley, S, N. O., Gómez, M. 2007. La calabaza pipiana y su manejo integrado. Folleto técnico. Fundación Produce de Guerrero, A. C. Campo Experimental Iguala. CSAEGRO. Iguala, Gro. México. 26 p.
- Ayvar, S. S., J. A. Durán R., E. Maya. P., E. Ocampo. R. 2010. Rendimiento de ocho genotipos de calabaza pipiana en Cocula Guerrero. Centro de Estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Iguala, Gro. México. XV Foro de estudios sobre Guerrero. Acapulco, Gro. pp. 511-513.
- Barnett, H., and Hunter, B. 1998. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. The American Phytopathological Society. Minesota. 4a. ed. 217 p.
- Castillo, F. E., Gallegos, M. G., Hernández, C. F. D., Cepeda, S. M., y Zamora, V. V. M. 2001. Efectividad de actinomicetos aislados de rizósfera de papa sobre *Rhizoctonia solani* in vitro. *Revista mexicana de Fitopatología* 19:203-207.
- Cohen, R., Pivonia, S., Shtienberg, D., Edelstein, M., Raz, D., Gerstl, Z., and Katan, J. 1999. Efficacy of fluazinam in suppression of *Monosporascus cannonballus*, the causal agent of sudden wilt of melons. *Plant Dis.* 83:1137-1141.
- Díaz, N. J. F. 2011. Respuesta de la calabaza pipiana y a la fertilización foliar y a las características fisicoquímicas del suelo. Tesis de Licenciatura. Centro de Estudios Profesionales. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero. Cocula, Gro. México. 80 p.
- El-Katatny, M. H., and Emam A. S. 2012. Control of postharvest tomato rot by spore suspension and antifungal metabolites of *Trichoderma harzianum*. *Journal of Microbiology, Biotechnology* 1 (6) 1505-1528.
- Etchegaray, A., de Castro, B. C., de Melo I. S., Tsai, S. M., de Fátima Fiore, M. F., Silva-Stenico, M. E., de Moraes, L. A. B., and Teschke, O. 2008. Effect of a highly concentrated lipopeptide extract of *Bacillus subtilis* on fungal and bacterial cells. *Arch. Microbiol.* 190:611-622.
- Femenía, R. M. E. 2007. Caracterización química de cepas de hongos del género *Colletotrichum*: síntesis de gloeosporiol. Diseño y síntesis de modelos de agentes fungiestáticos. Tesis doctoral.



Departamento de Química Orgánica. Facultad de Ciencias. Universidad de Cádiz. Cádiz, España.
364 p.

- García, V. R., González, D. J. G., Domínguez, A., Ayala, E. V., Aguilar, M. S. 2012. *Rosellinia necatrix* en *Rosa* sp. y su evaluación a sensibilidad de fungicidas. Revista Chapingo Serie Horticultura 18(1):39-54.
- Gent, D. H., Ocamb, C. M., and Farnsworth, J. L. 2010. Forecasting and management of hop downy mildew. Plant Dis. 94:425-431.
- Gisi, U., and Sierotzki, H. 2008. Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. Eur J Plant Pathol. 122:157-167.
- Granados, M. Del M. 2005. Pudrición blanca de la cebolla: una enfermedad difícil de combatir. Agronomía Costarricense 29(2): 143-156.
- Harman, G. E. 2000. Myths and dogmas of biocontrol. Changes in perceptions derived from research on *Trichoderma harzianum* T-22. Plant Dis. 84:377-393.
- Harman, G. E., Howell, C. R., Viterbo, A., Chet, I., and Lorito, M. 2004. *Trichoderma* species-opportunistic, avirulent plant symbionts. Nat. Rev. Microbiol. 2:43-56.
- Harman, G. E., Obregón, M. A., Samuels, G. J., Lorito, M. 2010. Changing Models for Commercialization and Implementation of Biocontrol in the Developing and the Developed World. Plant Dis. 94(8):928-939.
- Hoyos, C. L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, L., y S. Orduz. 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones in vitro y de invernadero. Agronomía Colombiana 26(3): 451-458.
- Hu, J., Hong, C., Stromberg, E. L., and Moorman, G. W. 2007. Effects of propamocarb hydrochloride on mycelial growth, sporulation, and infection by *Phytophthora nicotianae* isolates from Virginia nurseries. Plant Dis. 91:414-420.
- Kullnig, C. M., Krupica, T., Woo, S. L., Mach, R. L., Rey, M., Benitez, T., Lorito, M. and Kubicek, C. P. 2001. Confusion abounds over identities of *Trichoderma* biocontrol isolates. Mycological Research 105: 769-772.
- Latin, R. 2011. A Practical Guide to Turfgrass Fungicides. APS PRESS. St. Paul, Minnesota U.S.A. 270 p.
- Leslie, J. F. and Summerell B. A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Kansas Agricultural Experiment Station, Manhattan.



- Mendoza, Z. C. 1990. Fungicidas sistémicos y su modo de acción. Universidad Autonoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. 91 p.
- Michel, A. A. C., Otero, S. M. A., Solano, P. L. Y., Ariza, F. R., Barrios, A. A. y Rebolledo, M. A. 2009. Biocontrol *in vitro* con *Trichoderma* spp. de *Fusarium subglutinans* (Wollenweb. y Reinking) Nelson, Toussoun y Marasas y *F. oxysporum* Schlecht., agentes causales de la “escoba de bruja” del mango (*Mangifera indica* L.). Revista Mexicana de Fitopatología 27:18-26.
- Nelson, M. E., Eastwell, K. C., Grove, G. G., Barbour, J. D., Ocamb, C. M., and Alldredge, J. R. 2004. Sensitivity of *Pseudoperonospora humuli* (the casual agent of hop downy mildew) from Washington, Idaho, and Oregon to fosetyl-Al (Aliette). Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2004-0811-01-RS.
- Pichardo, G. S. 1990. Evaluación de pentacloronitrobenceno (PCNB) en el control de la pudrición radicular causada por *Rizoctonia solani* kuhn en frijol común (*Phaseolus vulgaris*). Agronomía Mesoamericana 1:55-61.
- Ramírez, V. J., y Romero, C. S. 1980. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leo., agente causal de la marchitez del chile. Agrociencia 39:9-18.
- Reiter, B., Wenz, M., Buschhaus, H., and Buchenauer, H. 1995. Zür Wirkung von propamocarb-hydrochlorid auf *Phytophthora infestans* in vitro und an kartoffeln und tomaten. Gesunde Pflanzen 47:43-50.
- Rowe, R. C. 1980. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crow and root rot of greenhouse and field-crow tomatoes in North America and Japan. Phytopathology 70:1143-1147.
- SAS Institute Inc. 2009. SASuser’s guide: Statistics. Relase 6.03. Ed. SAS Institute incorporation, Cary, N.C. USA. 1028 p.
- Singlenton, L. L., Mihail J. D. and Rush Ch. M. 1992. Mehtods for research on soil borne Phytopathogenic Fungi. APS Press. St. Paul, Minesota.
- Thompson. 2012. Diccionario de especialidades agroquímicas 16a Edición. México,D.F. 1840 pp.
- Wantanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi. Morphogies of Cultures Fungi and Key to Species. Second edition. CRC PRESS. New York Washington, D.C. 500 pp.
- Zavaleta, M. E. 1994. Control biológico de fitopatógenos con origen en el suelo y perspectivas. Revista Mexicana de Fitopatología 12:107-111.



- Zavaleta, M. E. 2000. Alternativa de manejo de las enfermedades de las plantas. Revista mexicana de Fitopatología 17:201-207.
- Zerrouh, H., Romero, D., García, G. L., Cazorla, F. M., De Vicente, A., and Pérez, G. A. 2011. The Iturin-like Lipopeptides Are Essential Components in the Biological Control Arsenal of *Bacillus subtilis* Against Bacterial Diseases of Cucurbits. 24:1540-1552.
- Zitter, T. A., Hopkins, D. L., Thomas, C. E. 2004. Plagas y enfermedades de las *cucurbitaceas*. The American Phytopathological Society. Ediciones Mundi Prensa. 88 p.



APÉNDICE



Cuadro 1-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales para genotipos a través de las fechas de muestreo en dos sitios de cultivo. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Sitio	Fecha	Diámetro del cuello	Altura	Longitud de guía	Numero de guías
CHILAPA	1	0.0494	0.0269	-	-
CHILAPA	2	0.8089	-	0.0058	0.5840
CHILAPA	3	0.2519	-	<0.0001	0.3565
CHILAPA	4	0.1162	-	<0.0001	0.0012
CHILAPA	5	0.1025	-	0.0067	<0.0001
CSAEGro	1	0.0789	0.4820	0.0253	0.0199
CSAEGro	2	0.0001	<0.0001	0.0025	0.0128
CSAEGro	3	0.4052	0.7255	0.3335	0.6509

Cuadro 2-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales para genotipos a través de las fechas de muestreo en ambos sitios de cultivo.

Sitio	Fecha	Genotipo	Diámetro del cuello	Altura	Longitud de guía	Numero de guías
CHILAPA	1	AP	0.50125 B ^a	0.073 B	-	-
		CH	0.56375 A	0.081 A	-	-
		ST	0.52500 AB	0.077 AB	-	-
		LSD	0.0504	0.0056	-	-
CHILAPA	2	AP	1.035 A	-	0.306 B	2.800 A
		CH	1.021 A	-	0.392 A	3.050 A
		ST	1.003 A	-	0.281 B	2.762 A
		LSD	0.0947	-	0.0706	0.5931
CHILAPA	3	AP	1.772 A	-	2.510 B	7.625 A
		CH	1.727 A	-	3.438 A	8.087 A
		ST	1.665 A	-	2.391 B	7.253 A
		LSD	0.1277	-	0.3318	1.1904
CHILAPA	4	AP	2.046 A	-	4.093 B	9.812 B
		CH	1.975 AB	-	4.860 A	11.275 A
		ST	1.897 B	-	4.009 B	8.900 B
		LSD	0.1407	-	0.4015	1.2657
CHILAPA	5	AP	2.158 A	-	4.757 B	8.455 A
		CH	2.065 AB	-	5.342 A	6.412 B
		ST	2.003 B	-	4.769 B	5.846 B
		LSD	0.1424	-	0.428	1.023
CSAEGro	1	AP	1.253 A	0.355 A	1.018 AB	1.187 A
		CH	1.239 AB	0.353 A	1.105 A	0.987 AB
		ST	1.183 B	0.341 A	0.938 B	0.737 B
		LSD	0.0648	0.0245	0.1209	0.3147
CSAEGro	2	AP	2.269 A	0.674 A	5.158 A	11.837 A



Continuación

CSAEGro	3	CH	2.036 B	0.555 B	4.610 B	9.912 B
		ST	2.048 B	0.575 B	4.633 B	11.275 A
		LSD	0.1194	0.044	0.3483	1.3087
		AP	2.400 A	0.716 A	7.670 A	7.950 A
		CH	2.312 A	0.711 A	8.325 A	8.988 A
		ST	2.315 A	0.693 A	6.999 A	8.925 A
		LSD	0.1463	0.0607	1.7578	2.4713

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 3-A.- Resultados de los Análisis de Varianza combinados a través de fechas de muestreo y genotipos para cada sitio de cultivo. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Sitio	Variable	Genotipo	Fecha
CHILAPA	Diámetro del cuello	0.0062	<0.0001
CHILAPA	Longitud de guía	<0.0001	<0.0001
CHILAPA	Numero de guías	<0.0001	<0.0001
CSAEGro	Diámetro de tallo	0.0003	<0.0001
CSAEGro	Longitud de guía	0.2163	<0.0001
CSAEGro	Numero de guías	0.6884	<0.0001
CSAEGro	Altura	0.0008	<0.0001

Cuadro 4-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis combinados a través de fechas de muestreo y genotipos para cada sitio de cultivo.

Sitio	Variable	Fecha	Media	Genotipo	Media
CHILAPA	Diámetro del cuello	1	0.530 E ^a	AP	1.501 A
		2	1.020 D	CH	1.470 A
		3	1.721 C	ST	1.417 B
		4	1.972 B	LSD	0.0518
		5	2.075 A		
		LSD	0.096		
CHILAPA	Longitud de guía	1		AP	2.910 B
		2	0.326 D	CH	3.508 A
		3	2.781 C	ST	2.852 B
		4	4.321 B	LSD	0.1685
		5	4.958 A		
		LSD	0.5398		
CHILAPA	Numero de guías	1		AP	7.169 A
		2	2.870 C	CH	7.206 A
		3	7.656 B	ST	6.189 B



Continuación...

		4	9.995 A	LSD	0.5233
		5	6.907 B		
		LSD	1.4217		
CSAEGro	Diámetro del cuello	1	1.225 C	AP	1.974 A
		2	2.118 B	CH	1.862 B
		3	2.343 A	ST	1.849 B
		LSD	0.0693	LSD	0.0663
CSAEGro	Longitud de guía	1	1.020 C	AP	4.615 A
		2	4.800 B	CH	4.680 A
		3	7.665 A	ST	4.190 A
		LSD	0.8345	LSD	0.5966
CSAEGro	Numero de guías	1	0.970 C	AP	6.991 A
		2	11.008 A	CH	6.629 A
		3	8.620 B	ST	6.979 A
		LSD	0.5349	LSD	0.9348
CSAEGro	Altura	1	0.349 C	AP	0.582 A
		2	0.601 B	CH	0.539 B
		3	0.707 A	ST	0.536 B
		LSD	0.0413	LSD	0.0262

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 5-A.- Resultados de los Análisis de Varianza combinados a través de Sitios, fechas de muestreo y genotipos para cada sitio de cultivo. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Sitio	Fecha	Genotipo
Diámetro del cuello	0.0006	<0.0001	<0.0001
Longitud de guía	0.0010	<0.0001	0.0003
Numero de guías	0.0066	<0.0001	0.0364



Cuadro 6-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis combinados a través de Sitios, fechas de muestreo y genotipos.

Variable	Sitio	Media	Fecha	Media	Genotipo	Media
Diámetro del cuello	CHILAPA	1.463 B ^a	1	0.877 D	AP	1.678 A
	CSAEGro	1.895 A	2	1.569 C	CH	1.617 B
	LSD	0.1521	3	2.032 A	ST	1.579 B
			4	1.972 B	LSD	0.0409
			5	2.075 A		
			LSD	0.0559		
Longitud de guía	CHILAPA	4.495 A	1	1.020 D	AP	3.642 B
	CSAEGro	3.091 B	2	2.563 C	CH	4.010 A
	LSD	0.8898	3	5.228 A	ST	3.428 B
			4	4.321 B	LSD	0.2744
			5	4.958 A		
			LSD	0.3752		
Numero de guías	CHILAPA	6.856 A	1	0.970 D	AP	7.093 A
	CSAEGro	6.866 A	2	6.939 C	CH	6.958 AB
	LSD	1.6345	3	8.139 B	ST	6.529 B
			4	9.995 A	LSD	0.5015
			5	6.907 C		
			LSD	0.6856		

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 7-A.- Resultados de los Análisis de Varianza Individuales para cada uno de los Genotipos para el sitio de cultivo CSAEGro en la fecha de muestreo 3. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Genotipo	Frutos sanos (30 m ²)	Frutos dañados (30 m ²)
AP	0.0016	<0.0001
CH	<0.0001	<0.0001
ST	0.0002	<0.0001



Cuadro 8-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis Individuales para cada uno de los genotipos, para el sitio de cultivo CSAEGro en la fecha de muestreo 3.

Genotipo	Tratamiento	Frutos sanos (30 m ²)	Frutos dañados (30 m ²)
AP	T1	3.6458 A ^a	2.6510 B
	T2	3.1250 A	0.1302 D
	T3	3.7760 A	0.3906 D
	T4	3.1250 A	0.0000 D
	T5	3.2552 A	0.3906 D
	T6	3.1250 A	2.0000 C
	T7	3.5156 A	0.0000 D
	T8	2.8646 A	0.1302 D
	T9	3.1250 A	0.0000 D
	T10	1.4323 B	5.2135 A
	LSD	0.9883	0.6038
CH	T1	3.7760 A	2.2604 B
	T2	3.3854 AB	0.1302 C
	T3	3.2552 AB	0.1302 C
	T4	2.7344 B	0.1302 C
	T5	3.1250 AB	0.1302 C
	T6	3.2552 AB	2.2604 B
	T7	3.2552 AB	0.0000 C
	T8	3.9063 A	0.0000 C
	T9	3.2552 AB	0.1302 C
	T10	1.0417 C	5.0833 A
	LSD	0.828	0.386
ST	T1	4.6875 A	2.0000 B
	T2	3.9063 AB	0.2604 C
	T3	3.5156 B	0.1302 C
	T4	2.8646 B	0.1302 C
	T5	3.9063 AB	0.1302 C
	T6	3.9063 AB	2.0000 B
	T7	3.2552 B	0.1302 C
	T8	3.6458 AB	0.0000 C
	T9	3.3854 B	0.1302 C
	T10	1.5625 C	5.0833 A
	LSD	1.1188	0.2989

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 9-A.- Resultados de los Análisis de Varianza combinados a través de las fechas de muestreo por genotipo, para Chilapa, genotipo AP. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos	Fecha
Frutos sanos (30 m ²)	0.0007	0.0311
Frutos dañados (30 m ²)	0.0003	0.0229



Cuadro 10-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis combinados a través de las fechas de muestreo por genotipo en Chilapa, genotipo AP.

Variable	Fecha	Media	Tratamientos	Media
Frutos sanos (30 m ²)	4	13.789 A ^a	T1	10.000 A
	5	8.564 B	T2	11.035 A
	LSD	4.3431	T3	10.742 A
			T4	12.695 A
			T5	11.523 A
			T6	13.184 A
			T7	12.891 A
			T8	13.281 A
			T9	11.426 A
			T10	5.078 B
			LSD	3.6632
Frutos dañados (30 m ²)	4	6.5984 A	T1	6.375 ABC
	5	3.7492 B	T2	3.027 D
	LSD	2.1029	T3	6.738 AB
			T4	3.809 CD
			T5	3.516 D
			T6	6.785 AB
			T7	3.906 CD
			T8	4.883 BCD
			T9	3.809 CD
			T10	9.055 A
			LSD	2.8144

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 11-A.- Resultados de los Análisis de Varianza combinados a través de las fechas de muestreo por genotipo, en Chilapa, genotipo CH. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo) para los tratamientos

Variable	Tratamientos	Fecha
Frutos sanos (30 m ²)	<0.0001	0.0027
Frutos dañados (30 m ²)	0.0033	0.0507



Cuadro 12-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis combinados a través de las fechas de muestreo por genotipo, para Chilapa, genotipo CH.

Variable	Fecha	Media	Tratamientos	Media
Frutos sanos (30 m ²)	4	12.8125 A ^a	T1	13.574 A
	5	9.4141 B	T2	12.891 A
	LSD	1.1772	T3	11.426 A
			T4	11.328 A
			T5	11.719 A
			T6	11.035 A
			T7	13.281 A
			T8	11.035 A
			T9	11.523 A
			T10	3.320 B
			LSD	3.7083
Frutos dañados (30 m ²)	4	7.770 A	T1	6.980 ABC
	5	3.552 A	T2	4.492 CD
	LSD	4.2425	T3	5.859 BCD
			T4	3.320 D
			T5	7.422 AB
			T6	5.125 BCD
			T7	5.176 BCD
			T8	4.883 BCD
			T9	4.102 DC
			T10	9.250 A
			LSD	2.8891

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 13-A.- Resultados de los Análisis de Varianza combinados a través de las fechas por genotipo, en Chilapa, genotipo ST. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo) para los tratamientos

Variable	Tratamientos	Fecha
Frutos sanos (30 m ²)	0.0091	0.0651
Frutos dañados (30 m ²)	<0.0001	0.0368



Cuadro 14-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis combinados a través de las fechas de muestreo por genotipo, para Chilapa, genotipo ST.

Variable	Fecha	Media	Tratamientos	Media
Frutos sanos (30 m ²)	4	13.0078 A ^a	T1	9.792 CD
	5	10.4367 A	T2	11.133 BCD
	LSD	2.8926	T3	12.708 ABC
			T4	12.207 ABC
			T5	10.352 CD
			T6	14.160 AB
			T7	11.133 BCD
			T8	12.695 ABC
			T9	14.844 A
			T10	8.301 D
			LSD	3.4922
Frutos dañados (30 m ²)	4	8.102 A	T1	5.333 C
	5	4.138 B	T2	4.004 C
	LSD	3.5133	T3	4.896 C
			T4	5.078 C
			T5	4.688 C
			T6	9.715 AB
			T7	5.273 C
			T8	4.492 C
			T9	6.836 BC
			T10	11.008 A
			LSD	3.0981

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 15-A.- Resultados de los Análisis de Varianza Combinados a través de los genotipos y fechas, para Chilapa, fecha 4. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos	Genotipos
Frutos sanos (30 m ²)	0.0003	0.8477
Frutos dañados (30 m ²)	0.0005	0.1887



Cuadro 16-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis Combinados a través de los genotipos y fechas, para Chilapa, fecha 4.

Variable	Genotipo	Media	Tratamientos	Media
Frutos sanos (30 m ²)	AP	13.789 A ^a	T1	12.760 A
	CH	12.813 A	T2	13.542 A
	ST	13.008 A	T3	13.411 A
	LSD	4.3394	T4	13.477 A
			T5	13.281 A
			T6	14.518 A
			T7	14.648 A
			T8	14.714 A
			T9	14.714 A
			T10	6.966 B
			LSD	3.353
Frutos dañados (30 m ²)	AP	6.5984 A	T1	7.599 BC
	CH	7.7703 A	T2	5.013 C
	ST	8.1023 A	T3	8.594 AB
	LSD	1.8307	T4	4.753 C
			T5	8.203 B
			T6	9.096 AB
			T7	6.966 BC
			T8	6.250 BC
			T9	7.096 BC
			T10	11.333 A
			LSD	2.9286

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 17-A.- Resultados de los Análisis de Varianza Combinados a través de los genotipos y fechas, para Chilapa, fecha 5. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos	Genotipos
Frutos sanos (30 m ²)	<0.0001	0.3969
Frutos dañados (30 m ²)	<0.0001	0.8014



Cuadro 18-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis Combinados a través de los genotipos y fechas, para Chilapa, fecha 5.

Variable	Genotipo	Media	Tratamientos	Media
Frutos sanos (30 m ²)	AP	8.564 A ^a	T1	9.446 A
	CH	9.414 A	T2	9.831 A
	ST	10.437 A	T3	9.715 A
	LSD	3.0978	T4	10.677 A
			T5	9.115 A
			T6	11.068 A
			T7	10.221 A
			T8	9.961 A
			T9	10.482 A
			T10	4.167 B
			LSD	2.4664
Frutos dañados (30 m ²)	AP	3.7492 A	T1	4.7699 BC
	CH	3.5516 A	T2	2.6693 D
	ST	4.1378 A	T3	2.9891 D
	LSD	2.0923	T4	3.3854 CD
			T5	2.2135 D
			T6	5.3203 B
			T7	2.6042 D
			T8	3.2552 CD
			T9	2.7344 D
			T10	8.2083 A
			LSD	1.6608

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 19-A.- Resultados de los Análisis de Varianza Combinados a través de los genotipos y fechas, para CSAEGro, fecha 3. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos	Genotipos
Frutos sanos (30 m ²)	<0.0001	0.1355
Frutos dañados (30 m ²)	<0.0001	0.5364



Cuadro 20-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis Combinados a través de los genotipos y fechas, para CSAEGro, fecha 3.

Variable	Genotipo	Media	Tratamientos	Media
Frutos sanos (30 m ²)	AP	3.0990 A ^a	T1	4.0365 A
	CH	3.0990 A	T2	3.4722 B
	ST	3.4635 A	T3	3.5156 AB
	LSD	0.4322	T4	2.9080 C
			T5	3.4288 BC
			T6	3.4288 BC
			T7	3.3420 BC
			T8	3.4722 B
			T9	3.2552 BC
			T10	1.3455 D
			LSD	0.5621
	AP	1.0906 A	T1	2.3038 B
	CH	1.0255 A	T2	0.1736 C
	ST	0.9995 A	T3	0.2170 C
Frutos dañados (30 m ²)	LSD	0.1953	T4	0.0868 C
			T5	0.2170 C
			T6	2.0868 B
			T7	0.0434 C
			T8	0.0434 C
			T9	0.0868 C
			T10	5.1267 A
			LSD	0.2557

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 21-A.- Resultados de los Análisis de Varianza Combinados a través de los sitios de cultivo y genotipos. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos	Sitio	Genotipos
Frutos sanos (30 m ²)	<0.0001	0.0018	0.8345
Frutos dañados (30 m ²)	<0.0001	0.0005	0.1960



Cuadro 22-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis Combinados a través de los sitios de cultivo y genotipos.

Variable	Sitio	Media	Genotipo	Media	Trat	Media
Frutos sanos (30 m ²)	CHILAPA	11.35 A ^a	AP	8.48 A	T1	8.73 A
	CSAEGro	3.220 B	CH	8.44 A	T2	8.95 A
	LSD	2.4286	ST	8.96 A	T3	8.87 A
			LSD	1.8048	T4	9.02 A
					T5	8.61 A
					T6	9.67 A
					T7	9.40 A
					T8	9.38 A
					T9	9.48 A
					T10	4.16 B
					LSD	1.4973
Frutos dañados (30 m ²)	CHILAPA	5.662 A	AP	3.81 B	T1	4.89 BC
	CSAEGro	1.038 B	CH	4.12 AB	T2	2.62 E
	LSD	0.9219	ST	4.41 A	T3	3.95 CD
			LSD	0.449	T4	2.74 ED
					T5	3.54 ED
					T6	5.50 B
					T7	3.20 ED
					T8	3.18 ED
					T9	3.30 ED
					T10	8.22 A
					LSD	1.2769

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 23-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio y genotipo, para Chilapa, genotipo AP. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Diámetro vertical del fruto	0.0066
Diámetro horizontal del fruto	0.0130
Longitud de la cavidad del fruto	0.0324
Grosor de la pulpa del fruto	0.0133
Peso de semilla seca	0.2730



Cuadro 24-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio y genotipo, para Chilapa, genotipo AP.

Variable	Tratamientos	Media
Diámetro vertical del fruto	T1	19.1211 DE ^a
	T2	19.5450 BCDE
	T3	20.7200 ABC
	T4	21.0263 AB
	T5	20.4200 ABCD
	T6	19.6800 BCDE
	T7	20.8700 AB
	T8	21.2158 A
	T9	18.8263 E
	T10	19.2471 CDE
	LSD	1.4966
Diámetro horizontal del fruto	T1	16.7632 BCD
	T2	16.7600 BCD
	T3	17.7600 ABC
	T4	18.0263 AB
	T5	17.4700 ABCD
	T6	17.1000 BCD
	T7	18.0250 AB
	T8	18.4105 A
	T9	16.3368 D
	T10	16.5824 CD
	LSD	1.272
Longitud de la cavidad del fruto	T1	14.5632 BC
	T2	14.4800 BC
	T3	15.2000 ABC
	T4	15.5263 AB
	T5	14.9900 ABC
	T6	14.8450 BC
	T7	15.4700 AB
	T8	15.9895 A
	T9	14.0947 C
	T10	14.3235 C
	LSD	1.1428
Grosor de la pulpa del fruto	T1	2.2000 C
	T2	2.2800 BC
	T3	2.5600 A
	T4	2.5000 AB
	T5	2.4800 AB
	T6	2.2550 BC
	T7	2.5550 A
	T8	2.4211 ABC
	T9	2.2421 BC



Continuación...

	T10	2.2588 BC
	LSD	0.2586
Peso de semilla seca	T1	89.779 B
	T2	91.220 B
	T3	98.235 AB
	T4	97.200 AB
	T5	98.795 AB
	T6	91.050 B
	T7	96.545 AB
	T8	110.079 A
	T9	92.311 B
	T10	87.324 B
	LSD	16.052

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 25-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio y genotipo, para Chilapa, genotipo CH. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Diámetro vertical del fruto	0.2547
Diámetro horizontal del fruto	0.4920
Longitud de la cavidad del fruto	0.6091
Grosor de la pulpa del fruto	0.1725
Peso de semilla seca	0.1605

Cuadro 26-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio y genotipo, para Chilapa, genotipo CH.

Variable	Tratamientos	Media
Diámetro vertical del fruto	T1	15.5474 ABCD ^a
	T2	16.4158 AB
	T3	16.0400 ABCD
	T4	14.9800 CD
	T5	15.7750 ABCD
	T6	15.2167 BCD
	T7	16.2667 ABC
	T8	14.8667 D
	T9	15.5941 ABCD
	T10	16.7350 A
	LSD	1.3059
Diámetro horizontal del fruto	T1	14.6316 AB
	T2	15.2211 AB



Continuación...

	T3	15.0250 AB
	T4	14.5200 B
	T5	15.0500 AB
	T6	14.2667 B
	T7	15.0944 AB
	T8	14.7278 AB
	T9	14.5765 AB
	T10	15.7650 A
	LSD	1.2417
Longitud de la cavidad del fruto	T1	12.6895 AB
	T2	13.1684 AB
	T3	13.0900 AB
	T4	12.5867 AB
	T5	13.1150 AB
	T6	12.4222 B
	T7	13.2000 AB
	T8	12.7778 AB
	T9	12.5765 AB
	T10	13.5800 A
	LSD	1.1221
Grosor de la pulpa del fruto	T1	1.9421 B
	T2	2.0526 AB
	T3	1.9350 B
	T4	1.9333 B
	T5	1.9350 B
	T6	1.8444 B
	T7	1.8944 B
	T8	1.9500 B
	T9	2.0000 AB
	T10	2.1850 A
	LSD	0.2248
Peso de semilla seca	T1	97.71 AB
	T2	99.05 A
	T3	100.02 A
	T4	80.17 ABC
	T5	81.86 ABC
	T6	78.07 BC
	T7	75.63 C
	T8	90.89 ABC
	T9	90.48 ABC
	T10	93.95 ABC
	LSD	20.738

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)



Cuadro 27-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio y genotipo, para Chilapa, genotipo ST. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Diámetro vertical del fruto	0.0302
Diámetro horizontal del fruto	0.0149
Longitud de la cavidad del fruto	0.0072
Grosor de la pulpa del fruto	0.5899
Peso de semilla seca	0.0048

Cuadro 28-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio y genotipo, para Chilapa, genotipo CH.

Variable	Tratamientos	Media
Diámetro vertical del fruto	T1	19.9800 A ^a
	T2	18.0368 CD
	T3	17.5611 D
	T4	18.5632 BCD
	T5	18.8474 ABCD
	T6	19.7150 AB
	T7	18.3350 CD
	T8	19.0550 ABC
	T9	19.1647 ABC
	T10	19.3100 ABC
	LSD	1.3345
Diámetro horizontal del fruto	T1	17.1200 A
	T2	15.2368 C
	T3	15.1444 C
	T4	15.9368 BC
	T5	16.2474 ABC
	T6	17.0500 AB
	T7	16.0250 ABC
	T8	16.4950 AB
	T9	16.3824 AB
	T10	16.5500 AB
	LSD	1.1454
Longitud de la cavidad del fruto	T1	14.7667 A
	T2	13.0263 BC
	T3	12.9500 C
	T4	13.8158 ABC
	T5	14.0474 AB
	T6	14.7250 A
	T7	13.9750 AB
	T8	14.2850 A
	T9	14.1647 A



Continuación...

	T10	14.3100 A
	LSD	1.0225
Grosor de la pulpa del fruto	T1	2.3533 A
	T2	2.2105 AB
	T3	2.1944 AB
	T4	2.1211 AB
	T5	2.2000 AB
	T6	2.3250 A
	T7	2.0500 B
	T8	2.2100 AB
	T9	2.2176 AB
	T10	2.2400 AB
	LSD	0.2385
Peso de semilla seca	T1	113.429 AB
	T2	88.068 CDE
	T3	86.589 DE
	T4	88.074 CDE
	T5	101.511 ABC
	T6	104.170 AB
	T7	81.950 E
	T8	99.275 ABCD
	T9	100.924 ABCD
	T10	97.180 BCD
	LSD	14.501

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 29-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio y genotipo, para CSAEGro, genotipo AP. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Diámetro vertical del fruto	0.0479
Diámetro horizontal del fruto	0.0624
Longitud de la cavidad del fruto	0.1182
Grosor de la pulpa del fruto	0.0242
Peso de semilla seca	0.1465



Cuadro 30-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio y genotipo, para CSAEGro, genotipo AP.

Variable	Tratamientos	Media
Diámetro vertical del fruto	T1	14.525 ABC ^a
	T2	14.825 ABC
	T3	15.875 AB
	T4	12.219 C
	T5	14.025 BC
	T6	12.875 C
	T7	17.075 A
	T8	13.525 BC
	T9	13.250 BC
	T10	12.875 C
	LSD	2.8383
Diámetro horizontal del fruto	T1	20.975 ABC
	T2	20.925 BC
	T3	20.100 BC
	T4	20.119 BC
	T5	19.550 C
	T6	22.050 AB
	T7	21.025 ABC
	T8	21.975 AB
	T9	23.300 A
	T10	20.950 BC
	LSD	2.3472
Longitud de la cavidad del fruto	T1	15.400 ABC
	T2	15.275 BC
	T3	14.900 BC
	T4	15.494 ABC
	T5	14.550 C
	T6	16.750 AB
	T7	15.675 ABC
	T8	16.725 AB
	T9	17.350 A
	T10	15.300 BC
	LSD	2.0293
Grosor de la pulpa del fruto	T1	5.5500 AB
	T2	5.6500 AB
	T3	4.9500 BC
	T4	4.6250 C
	T5	5.0000 BC
	T6	5.3000 ABC
	T7	5.3500 ABC
	T8	5.2500 ABC
	T9	6.0000 A



Continuación...

	T10	5.6500 AB
	LSD	0.7851
Peso de semilla seca	T1	76.407 ABC
	T2	59.729 C
	T3	73.645 ABC
	T4	76.990 ABC
	T5	62.033 BC
	T6	70.493 ABC
	T7	61.131 BC
	T8	79.135 AB
	T9	81.555 A
	T10	60.073 BC
	LSD	19.238

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 31-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio y genotipo, para CSAEGro, genotipo CH. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Diámetro vertical del fruto	0.0384
Diámetro horizontal del fruto	0.4787
Longitud de la cavidad del fruto	0.4462
Grosor de la pulpa del fruto	0.0365
Peso de semilla seca	0.0485

Cuadro 32-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio y genotipo, para CSAEGro, genotipo CH.

Variable	Tratamientos	Media
Diámetro vertical del fruto	T1	13.750 BC ^a
	T2	15.000 ABC
	T3	18.100 A
	T4	16.975 AB
	T5	14.000 BC
	T6	16.300 AB
	T7	17.075 AB
	T8	12.050 C
	T9	15.700 AB
	T10	14.300 BC
	LSD	3.6183
Diámetro horizontal del fruto	T1	19.750 A
	T2	19.875 A



Continuación...

	T3	18.250 A
	T4	18.450 A
	T5	19.000 A
	T6	19.000 A
	T7	20.300 A
	T8	20.425 A
	T9	19.350 A
	T10	20.250 A
	LSD	2.2185
Longitud de la cavidad del fruto	T1	14.150 AB
	T2	14.925 AB
	T3	13.000 B
	T4	13.675 AB
	T5	14.300 AB
	T6	13.350 B
	T7	14.600 AB
	T8	15.525 A
	T9	13.900 AB
	T10	14.400 AB
	LSD	2.0892
Grosor de la pulpa del fruto	T1	5.6500 ABC
	T2	4.9500 BCD
	T3	5.2500 ABCD
	T4	4.9500 BCD
	T5	4.7000 D
	T6	5.6500 ABC
	T7	5.7000 AB
	T8	4.9000 CD
	T9	5.4500 ABCD
	T10	5.8500 A
	LSD	0.7955
Peso de semilla seca	T1	54.59 CD
	T2	57.29 BCD
	T3	70.17 ABC
	T4	68.38 ABCD
	T5	48.04 D
	T6	57.99 BCD
	T7	81.89 A
	T8	76.30 AB
	T9	59.75 BCD
	T10	70.07 ABC
	LSD	21.136

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)



Cuadro 33-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio y genotipo, para CSAEGro, genotipo ST. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Diámetro vertical del fruto	0.1147
Diámetro horizontal del fruto	0.3164
Longitud de la cavidad del fruto	0.3448
Grosor de la pulpa del fruto	0.4099
Peso de semilla seca	0.5698

Cuadro 34-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio y genotipo, para CSAEGro, genotipo ST.

Variable	Tratamientos	Media
Diámetro vertical del fruto	T1	11.875 Ca
	T2	12.525 BC
	T3	15.675 A
	T4	12.200 BC
	T5	15.075 AB
	T6	12.475 BC
	T7	14.067 ABC
	T8	12.825 ABC
	T9	12.767 ABC
	T10	12.150 BC
	LSD	2.9764
Diámetro horizontal del fruto	T1	18.050 B
	T2	18.800 AB
	T3	17.900 B
	T4	19.650 AB
	T5	19.250 AB
	T6	17.825 B
	T7	19.267 AB
	T8	17.875 B
	T9	20.467 A
	T10	18.575 AB
	LSD	2.0188
Longitud de la cavidad del fruto	T1	13.0000 BC
	T2	13.6500 ABC
	T3	13.0000 BC
	T4	14.5500 AB
	T5	13.7000 ABC
	T6	12.7750 C
	T7	13.6333 ABC
	T8	13.1750 BC
	T9	15.0667 A



Continuación...

	T10	13.6250 ABC
	LSD	1.7179
Grosor de la pulpa del fruto	T1	5.0500 BC
	T2	5.1500 ABC
	T3	4.9000 BC
	T4	5.1000 ABC
	T5	5.5500 AB
	T6	5.0500 BC
	T7	5.9333 A
	T8	4.7000 C
	T9	5.4000 ABC
	T10	4.9500 BC
	LSD	0.8448
Peso de semilla seca	T1	56.31 AB
	T2	59.60 AB
	T3	60.29 AB
	T4	70.16 A
	T5	47.16 B
	T6	68.38 A
	T7	60.96 AB
	T8	58.47 AB
	T9	60.99 AB
	T10	55.86 AB
	LSD	21.121

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 35-A.- Resultados de los Análisis de Varianza Combinados a través de los genotipos, por sitio de cultivo, para Chilapa. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos	Genotipos
Diámetro vertical del fruto	0.7214	0.0668
Diámetro horizontal del fruto	0.3196	0.0069
Longitud de la cavidad del fruto	0.2113	0.0078
Grosor de la pulpa del fruto	0.9225	0.0248
Peso de semilla seca	0.1358	0.3459



Cuadro 36-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis Combinados a través de los genotipos por sitio de cultivo, para Chilapa.

Variable	Genotipo	Media	Tratamientos	Media
Diámetro vertical del fruto	AP	20.080 A ^a	T1	18.0830 A
	CH	15.774 B	T2	18.0259 A
	ST	18.842 AB	T3	18.1259 A
	LSD	3.6228	T4	18.4321 A
			T5	18.3390 A
			T6	18.3069 A
			T7	18.5672 A
			T8	18.4526 A
			T9	17.8981 A
			T10	18.3877 A
			LSD	0.7947
Diámetro horizontal del fruto	AP	17.3337 A	T1	16.1000 AB
	CH	14.9087 B	T2	15.7569 B
	ST	16.2102 A	T3	16.0052 AB
	LSD	1.1718	T4	16.2849 AB
			T5	16.2559 AB
			T6	16.2034 AB
			T7	16.4259 AB
			T8	16.5754 A
			T9	15.7868 B
			T10	16.2842 AB
			LSD	0.701
Longitud de la cavidad del fruto	AP	14.9560 A	T1	13.9491 ABC
	CH	12.9391 B	T2	13.5741 C
	ST	14.0011 A	T3	13.7741 ABC
	LSD	1.0016	T4	14.0811 ABC
			T5	14.0508 ABC
			T6	14.0517 ABC
			T7	14.2500 AB
			T8	14.3772 A
			T9	13.6302 BC
			T10	14.0579 ABC
			LSD	0.6298
Grosor de la pulpa del fruto	AP	2.3777 A	T1	2.15094 A
	CH	1.9696 B	T2	2.18276 A
	ST	2.2091 AB	T3	2.23103 A
	LSD	0.2582	T4	2.20377 A
			T5	2.20508 A
			T6	2.15172 A
			T7	2.17586 A
			T8	2.19825 A
			T9	2.15660 A



Continuación...

Peso de semilla seca	AP	95.334 A	T10	2.22632 A
			LSD	0.1386
			T1	99.042 AB
			T2	92.752 ABC
			T3	94.785 ABC
			T4	90.040 BC
			T5	93.927 ABC
			T6	92.817 ABC
			T7	85.908 C
			T8	100.228 A
			T9	94.812 ABC
			T10	93.105 ABC
			LSD	9.648

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 37-A.- Resultados de los Análisis de Varianza Combinados a través de los genotipos, por sitio de cultivo, para CSAEGro. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos	Genotipos
Diámetro vertical del fruto	0.0004	0.3068
Diámetro horizontal del fruto	0.1071	0.0192
Longitud de la cavidad del fruto	0.1646	0.0347
Grosor de la pulpa del fruto	0.0077	0.6321
Peso de semilla seca	0.0636	0.2657

Cuadro 38-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis Combinados a través de los genotipos por sitio de cultivo, para CSAEGro.

Variable	Genotipo	Media	Tratamientos	Media
Diámetro vertical del fruto	AP	14.145 A ^a	T1	13.3833 B
	CH	15.325 A	T2	14.1167 B
	ST	13.150 A	T3	16.5500 A
	LSD	3.037	T4	13.9107 B
			T5	14.3667 B
			T6	13.8833 B
			T7	16.2545 A
			T8	12.8000 B
			T9	14.0091 B
			T10	13.1083 B
			LSD	1.8214

Continuación...



Diámetro horizontal del fruto	AP	21.1168 A	T1	19.5917 BC
	CH	19.4650 B	T2	19.8667 ABC
	ST	18.7079 B	T3	18.7500 C
	LSD	1.4396	T4	19.3554 BC
			T5	19.2667 BC
			T6	19.6250 BC
			T7	20.2818 AB
			T8	20.0917 AB
			T9	21.0909 A
			T10	19.9250 ABC
			LSD	1.2641
Longitud de la cavidad del fruto	AP	15.7469 A	T1	14.1833 BC
	CH	14.1825 B	T2	14.6167 ABC
	ST	13.5789 B	T3	13.6333 C
	LSD	1.5209	T4	14.5071 ABC
			T5	14.1833 BC
			T6	14.2917 BC
			T7	14.7273 ABC
			T8	15.1417 AB
			T9	15.4727 A
			T10	14.4417 ABC
			LSD	1.1243
Grosor de la pulpa del fruto	AP	5.3469 A	T1	5.4167 AB
	CH	5.3050 A	T2	5.2500 ABC
	ST	5.1526 A	T3	5.0333 BC
	LSD	0.4439	T4	4.9107 C
			T5	5.0833 BC
			T6	5.3333 ABC
			T7	5.6364 A
			T8	4.9500 C
			T9	5.6364 A
			T10	5.4833 AB
			LSD	0.4634
Peso de semilla seca	AP	69.879 A	T1	62.759 ABC
	CH	64.443 A	T2	58.872 BC
	ST	59.807 A	T3	67.716 AB
	LSD	15.251	T4	71.342 A
			T5	52.409 C
			T6	65.976 AB
			T7	68.538 AB
			T8	71.897 A
			T9	68.237 AB
			T10	62.143 ABC
			LSD	11.71

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)



Cuadro 39-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio de cultivo y genotipo, para Chilapa, genotipo AP. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	0.0038
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	<0.0001
Peso de semilla seca de 5 frutos	0.3142
Peso de semilla por unidad experimental	0.0004
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	0.0037

Cuadro 40-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio de cultivo y genotipo, para Chilapa, genotipo AP.

Variable	Tratamientos	Media
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	T1	33.594 A ^a
	T2	41.453 A
	T3	41.453 A
	T4	39.063 A
	T5	41.063 A
	T6	38.672 A
	T7	39.453 A
	T8	39.844 A
	T9	32.031 A
	T10	19.094 B
	LSD	10.41
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	T1	2.7344 AB
	T2	0.5812 C
	T3	0.3906 C
	T4	0.3906 C
	T5	0.3906 C
	T6	0.3906 C
	T7	0.7813 C
	T8	0.7813 C
	T9	1.9531 BC
	T10	4.3438 A
	LSD	1.7829
Peso de semilla seca de 5 frutos	T1	0.42675 AB
	T2	0.45600 AB
	T3	0.49125 A
	T4	0.46175 AB
	T5	0.49400 A
	T6	0.45525 AB
	T7	0.48275 A
	T8	0.52275 A
	T9	0.43850 AB



Continuación...

	T10	0.34600 B
	LSD	0.1264
Peso de semilla por unidad experimental	T1	1.2286 B
	T2	2.3008 A
	T3	2.2666 A
	T4	1.7263 AB
	T5	2.1450 A
	T6	1.5469 AB
	T7	1.8325 AB
	T8	2.0172 A
	T9	1.0724 B
	T10	0.1296 C
	LSD	0.7782
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	T1	631.8 B
	T2	971.1 A
	T3	978.0 A
	T4	815.9 AB
	T5	939.0 A
	T6	752.7 AB
	T7	862.3 AB
	T8	944.7 A
	T9	585.9 BC
	T10	332.3 C
	LSD	290.26

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 41-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio de cultivo y genotipo, para Chilapa, genotipo CH. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	0.0356
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	0.0536
Peso de semilla seca de 5 frutos	0.8322
Peso de semilla por unidad experimental	0.0024
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	0.0544



Cuadro 42-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio de cultivo y genotipo, para Chilapa, genotipo CH.

Variable	Tratamientos	Media
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	T1	37.891 AB ^a
	T2	44.188 AB
	T3	44.188 AB
	T4	31.641 BC
	T5	47.313 A
	T6	38.281 AB
	T7	38.281 AB
	T8	35.938 AB
	T9	33.594 ABC
	T10	21.438 C
	LSD	13.812
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	T1	1.953 AB
	T2	1.953 AB
	T3	1.563 AB
	T4	0.391 B
	T5	0.391 B
	T6	3.125 AB
	T7	3.906 A
	T8	1.172 AB
	T9	2.344 AB
	T10	2.391 AB
	LSD	3.3766
Peso de semilla seca de 5 frutos	T1	0.4640 A
	T2	0.4705 A
	T3	0.5003 A
	T4	0.4010 A
	T5	0.4093 A
	T6	0.3380 A
	T7	0.3277 A
	T8	0.4090 A
	T9	0.3923 A
	T10	0.4448 A
	LSD	381.4
Peso de semilla por unidad experimental	T1	1.5711 B
	T2	2.2293 AB
	T3	2.4400 AB
	T4	1.5132 B
	T5	2.5535 A
	T6	1.5880 AB
	T7	1.5070 B
	T8	1.5218 B
	T9	1.4632 B



Continuación...

	T10	0.1991 C
	LSD	0.9816
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	T1	765.4 ABC
	T2	954.8 AB
	T3	975.5 AB
	T4	643.6 ABC
	T5	1031.0 A
	T6	661.4 ABC
	T7	630.3 BC
	T8	771.9 ABC
	T9	641.0 ABC
	T10	381.4 C
	LSD	395.64

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 43-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio de cultivo y genotipo, para Chilapa, genotipo ST. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	0.4928
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	0.0151
Peso de semilla seca de 5 frutos	0.3758
Peso de semilla por unidad experimental	0.0235
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	0.1648

Cuadro 44-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio de cultivo y genotipo, para Chilapa, genotipo ST.

Variable	Tratamientos	Media
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	T1	37.891 AB ^a
	T2	36.766 AB
	T3	37.156 AB
	T4	37.891 AB
	T5	41.063 A
	T6	41.406 A
	T7	35.938 AB
	T8	39.063 AB
	T9	39.844 A
	T10	29.250 B
	LSD	10.22



Continuación...

Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	T1	1.172 AB
	T2	1.563 AB
	T3	2.344 AB
	T4	2.344 AB
	T5	0.391 B
	T6	1.563 AB
	T7	1.563 AB
	T8	3.125 A
	T9	1.172 AB
	T10	3.172 A
	LSD	2.5626
Peso de semilla seca de 5 frutos	T1	0.52967 A
	T2	0.41825 AB
	T3	0.38975 B
	T4	0.41825 AB
	T5	0.48225 AB
	T6	0.52075 A
	T7	0.40975 AB
	T8	0.49625 AB
	T9	0.42925 AB
	T10	0.46075 AB
	LSD	0.1212
Peso de semilla por unidad experimental	T1	2.0718 AB
	T2	2.1787 AB
	T3	2.3981 A
	T4	1.7422 ABC
	T5	2.0968 AB
	T6	1.9955 ABC
	T7	1.3016 CD
	T8	1.6196 BC
	T9	1.6600 ABC
	T10	0.7798 D
	LSD	0.762
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	T1	966.5 A
	T2	955.6 A
	T3	1013.8 A
	T4	798.6 ABC
	T5	916.8 AB
	T6	936.4 A
	T7	647.3 BC
	T8	798.3 ABC
	T9	776.9 ABC
	T10	583.2 C
	LSD	284.13

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)



Cuadro 45-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio de cultivo y genotipo, para CSAEGro, genotipo AP. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	0.2275
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	0.0509
Peso de semilla seca de 5 frutos	0.6169
Peso de semilla por unidad experimental	0.1113
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	0.2964

Cuadro 46-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio de cultivo y genotipo, para CSAEGro, genotipo AP.

Variable	Tratamientos	Media
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	T1	35.417 A ^a
	T2	31.427 A
	T3	34.031 A
	T4	31.250 A
	T5	27.781 AB
	T6	32.031 A
	T7	27.865 AB
	T8	33.073 A
	T9	33.333 A
	T10	19.181 B
	LSD	9.4074
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	T1	5.469 BC
	T2	5.552 BC
	T3	3.729 C
	T4	5.556 BC
	T5	3.729 C
	T6	8.073 ABC
	T7	6.250 BC
	T8	9.115 AB
	T9	10.156 AB
	T10	13.111 A
	LSD	5.228
Peso de semilla seca de 5 frutos	T1	0.38200 A
	T2	0.29867 A
	T3	0.31933 A
	T4	0.28233 A
	T5	0.31033 A
	T6	0.35233 A
	T7	0.30567 A



Continuación...

	T8	0.39600 A
	T9	0.40800 A
	T10	0.30033 A
	LSD	0.1503
Peso de semilla por unidad experimental	T1	1.5508 A
	T2	1.6331 A
	T3	1.7008 A
	T4	1.1615 A
	T5	1.5810 A
	T6	1.4036 A
	T7	1.3086 A
	T8	1.5807 A
	T9	1.5091 A
	T10	0.2368 B
	LSD	0.7507
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	T1	616.4 A
	T2	588.8 A
	T3	616.8 A
	T4	476.2 AB
	T5	574.5 A
	T6	559.6 A
	T7	515.8 A
	T8	630.0 A
	T9	609.3 A
	T10	266.6 B
	LSD	246.8

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 47-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio de cultivo y genotipo, para CSAEGro, genotipo CH. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	0.9257
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	0.9023
Peso de semilla seca de 5 frutos	0.7151
Peso de semilla por unidad experimental	0.1725
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	0.6445



Cuadro 48-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio de cultivo y genotipo, para CSAEGro, genotipo CH.

Variable	Tratamientos	Media
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	T1	29.167 A ^a
	T2	30.906 A
	T3	33.250 A
	T4	30.469 A
	T5	32.729 A
	T6	35.764 A
	T7	33.333 A
	T8	30.469 A
	T9	34.115 A
	T10	25.604 A
	LSD	12.417
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	T1	8.854 A
	T2	6.073 A
	T3	5.813 A
	T4	8.594 A
	T5	6.333 A
	T6	8.681 A
	T7	8.594 A
	T8	8.854 A
	T9	6.771 A
	T10	9.813 A
	LSD	6.2756
Peso de semilla seca de 5 frutos	T1	0.190 B
	T2	0.28667 AB
	T3	0.32733 AB
	T4	0.34200 AB
	T5	0.24033 AB
	T6	0.32950 AB
	T7	0.38233 A
	T8	0.38133 A
	T9	0.29867 AB
	T10	0.35033 AB
	LSD	0.1785
Peso de semilla por unidad experimental	T1	1.1693 ABC
	T2	1.2971 AB
	T3	1.5771 A
	T4	0.8880 BC
	T5	1.3128 AB
	T6	1.3941 AB
	T7	1.3307 AB
	T8	1.2344 ABC
	T9	1.3828 AB



Continuación...

	T10	0.5883 C
	LSD	0.6517
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	T1	456.0 A
	T2	473.7 A
	T3	577.6 A
	T4	385.1 A
	T5	466.8 A
	T6	541.0 A
	T7	543.1 A
	T8	510.8 A
	T9	538.7 A
	T10	370.7 A
	LSD	224.78

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 49-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales por sitio de cultivo y genotipo, para CSAEGro, genotipo ST. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	0.0006
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	0.3295
Peso de semilla seca de 5 frutos	0.6740
Peso de semilla por unidad experimental	<0.0001
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	0.0008

Cuadro 50-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis individuales por sitio de cultivo y genotipo, para CSAEGro, genotipo ST.

Variable	Tratamientos	Media
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	T1	32.813 A ^a
	T2	42.365 A
	T3	40.281 A
	T4	34.896 A
	T5	41.323 A
	T6	33.333 A
	T7	37.153 A
	T8	32.813 A
	T9	42.361 A
	T10	15.708 B
	LSD	10.137



Continuación...

Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	T1	8.073 AB
	T2	7.115 B
	T3	6.854 B
	T4	11.458 AB
	T5	7.896 AB
	T6	10.156 AB
	T7	7.813 AB
	T8	13.021 A
	T9	11.458 AB
	T10	10.594 AB
	LSD	5.6855
Peso de semilla seca de 5 frutos	T1	0.26267 A
	T2	0.29800 A
	T3	0.30133 A
	T4	0.35067 A
	T5	0.23567 A
	T6	0.34233 A
	T7	0.30500 A
	T8	0.25300 A
	T9	0.30500 A
	T10	0.26067 A
	LSD	0.1377
Peso de semilla por unidad experimental	T1	1.2630 BC
	T2	1.8974 A
	T3	1.7281 AB
	T4	1.3242 BC
	T5	1.9586 A
	T6	1.0326 C
	T7	1.5260 ABC
	T8	1.3464 BC
	T9	1.3090 BC
	T10	0.1651 D
	LSD	0.5369
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	T1	489.41 BC
	T2	676.74 A
	T3	621.18 AB
	T4	532.73 ABC
	T5	680.90 A
	T6	433.33 C
	T7	579.28 ABC
	T8	514.67 ABC
	T9	506.94 ABC
	T10	206.25 D
	LSD	187.26

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)



Cuadro 51-A.- Resultados de los Análisis de Varianza combinados a través de los genotipos, por sitio de cultivo, para Chilapa. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos	Genotipos
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	<0.0001	0.9579
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	<0.0001	0.5777
Peso de semilla seca de 5 frutos	0.8227	0.5171
Peso de semilla por unidad experimental	<0.0001	0.9134
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	<0.0001	0.8011

Cuadro 52-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis Combinados a través de los genotipos por sitio de cultivo, para Chilapa.

Variable	Genotipo	Media	Trat	Media
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	AP	36.572 A ^a	T1	36.458 B
	CH	37.275 A	T2	40.802 AB
	ST	37.627 A	T3	40.932 AB
	LSD	8.9271	T4	36.198 B
			T5	43.146 A
			T6	39.453 AB
			T7	37.891 AB
			T8	38.281 AB
			T9	35.156 B
			T10	23.260 C
			LSD	6.4949
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	AP	0.6938 A	T1	1.9531 AB
	CH	1.3188 A	T2	1.4323 BC
	ST	1.2406 A	T3	1.4323 BC
	LSD	1.5187	T4	1.0417 BC
			T5	0.3906 C
			T6	1.6927 BC
			T7	2.0833 AB
			T8	1.6927 BC
			T9	1.8229 ABC
			T10	3.3021 A
			LSD	1.4864
Peso de semilla seca de 5 frutos	AP	0.4575 A	T1	0.46836 A
	CH	0.4196 A	T2	0.44825 A
	ST	0.4535 A	T3	0.45682 A
	LSD	0.0737	T4	0.43220 A
			T5	0.46183 A
			T6	0.44709 A
			T7	0.41391 A



Continuación...

			T8	0.47600 A
			T9	0.42255 A
			T10	0.41717 A
			LSD	0.0837
Peso de semilla por UE	AP	1.6650 A	T1	1.5831 B
	CH	1.6661 A	T2	2.2415 A
	ST	1.7494 A	T3	2.3655 A
	LSD	0.549	T4	1.6740 B
			T5	2.2651 A
			T6	1.7101 B
			T7	1.5470 B
			T8	1.7375 B
			T9	1.3986 B
			T10	0.3913 C
			LSD	0.4705
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	AP	792.88 A	T1	771.63 C
	CH	747.61 A	T2	960.94 AB
	ST	828.04 A	T3	986.85 A
	LSD	217.79	T4	762.63 C
			T5	962.24 AB
			T6	783.50 BC
			T7	713.29 C
			T8	844.33 ABC
			T9	667.92 C
			T10	441.37 D
			LSD	181.96

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 53-A.- Resultados de los Análisis de Varianza combinados a través de los genotipos, por sitio de cultivo, para CSAEGro. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos	Genotipos
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	0.0006	0.4937
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	0.0105	0.2516
Peso de semilla seca de 5 frutos	0.7902	0.3109
Peso de semilla por unidad experimental	<0.0001	0.7533
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	0.0004	0.7531



Cuadro 54-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis Combinados a través de los genotipos por sitio de cultivo, para CSAEGro.

Variable	Genotipo	Media	Trat	Media
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	AP	30.819 A ^a	T1	32.465 A
	CH	31.473 A	T2	34.899 A
	ST	35.070 A	T3	35.854 A
	LSD	8.5884	T4	32.292 A
			T5	33.944 A
			T6	33.523 A
			T7	32.386 A
			T8	32.118 A
			T9	36.080 A
			T10	20.254 A
			LSD	5.9935
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	AP	6.955 A	T1	7.465 BCDE
	CH	7.816 A	T2	6.247 CDE
	ST	9.392 A	T3	5.465 E
	LSD	3.1793	T4	8.807 ABCD
			T5	5.986 DE
			T6	8.996 ABCD
			T7	7.552 BCDE
			T8	10.330 AB
			T9	9.280 ABC
			T10	10.996 A
			LSD	3.2067
Peso de semilla seca de 5 frutos	AP	0.3355 A	T1	0.26970 A
	CH	0.3083 A	T2	0.29444 A
	ST	0.2904 A	T3	0.31600 A
	LSD	0.0767	T4	0.32500 A
			T5	0.26211 A
			T6	0.34288 A
			T7	0.33425 A
			T8	0.34344 A
			T9	0.34125 A
			T10	0.30378 A
			LSD	0.0858
Peso de semilla por UE	AP	1.4017 A	T1	1.3277 ABC
	CH	1.2129 A	T2	1.6092 AB
	ST	1.3518 A	T3	1.6687 A
	LSD	0.5348	T4	1.1212 C
			T5	1.6174 AB
			T6	1.2661 BC
			T7	1.3759 ABC
			T8	1.3872 ABC
			T9	1.4086 ABC



Continuación...

Peso de semilla en kg ha ⁻¹	AP	554.55 A	T10	0.3385 D
			LSD	0.3628
			T1	520.60 AB
			T2	579.75 AB
			T3	605.18 A
			T4	463.60 B
			T5	574.07 AB
			T6	508.62 AB
			T7	543.06 AB
			T8	551.82 AB
			T9	555.71 AB
			T10	282.48 C
			LSD	122.96

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 55-A.- Resultados de los Análisis de Varianza Combinados a través de los sitios de cultivo y genotipos. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Tratamientos	Sitio	Genotipos
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	<0.0001	0.3760	0.5699
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	<0.0001	0.0070	0.1750
Peso de semilla seca de 5 frutos	0.8958	0.0235	0.3637
Peso de semilla por UE	<0.0001	0.3705	0.8336
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	<0.0001	0.0800	0.6492

Cuadro 56-A.- Comparaciones de Medias por el Método LSD para los Análisis Combinados a través de los sitios de cultivo y genotipos.

Variable	Sitio	Media	Geno	Media	Trat	Media
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	CHILAPA	37.15 A ^a	AP	33.76 A	T1	34.46 A
	CSAEGro	32.44 A	CH	34.41 A	T2	37.85 A
	LSD	15.164	ST	36.38 A	T3	38.39 A
			LSD	5.4847	T4	34.33 A
					T5	38.54 A
					T6	36.61 A
					T7	35.25 A
					T8	35.20 A
					T9	35.59 A
					T10	21.82 B
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)					LSD	4.4845
	CHILAPA	1.084 B	AP	3.744 A	T1	4.709 B



Continuación...

	CSAEGro	8.064 A	CH	4.526 A	T2	2.839 C
	LSD	3.3555	ST	5.264 A	T3	2.448 C
			LSD	1.5708	T4	4.755 B
					T5	2.188 C
					T6	5.185 B
					T7	4.817 B
					T8	6.011 AB
					T9	5.389 AB
					T10	6.981 A
					LSD	1.6746
Peso de semilla seca de 5 frutos	CHILAPA	0.444 A	AP	0.405 A	T1	0.37376 A
	CSAEGro	0.311 B	CH	0.367 A	T2	0.38233 A
	LSD	0.0803	ST	0.385 A	T3	0.39345 A
			LSD	0.047	T4	0.38142 A
					T5	0.37624 A
					T6	0.40321 A
					T7	0.38037 A
					T8	0.41919 A
					T9	0.38832 A
					T10	0.36857 A
					LSD	0.0597
Peso de semilla por UE	CHILAPA	1.692 A	AP	1.535 A	T1	1.4498 B
	CSAEGro	1.321 A	CH	1.436 A	T2	1.9116 A
	LSD	1.145	ST	1.547 A	T3	2.0019 A
			LSD	0.3389	T4	1.3976 B
					T5	1.9413 A
					T6	1.4978 B
					T7	1.4652 B
					T8	1.5547 B
					T9	1.4034 B
					T10	0.3649 C
					LSD	0.2981
Peso de semilla kg ha ⁻¹	CHILAPA	789.2 A	AP	675.26 A	T1	640.66 C
	CSAEGro	520.6 A	CH	614.57 A	T2	762.06 AB
	LSD	329.9	ST	673.56 A	T3	787.72 A
			LSD	127.74	T4	613.12 C
					T5	768.16 A
					T6	652.04 BC
					T7	631.87 C
					T8	691.72 ABC
					T9	614.26 C
					T10	361.93 D
					LSD	110.35

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)



Cuadro 57-A.- Resultados de los Contrastes ortogonales de grupo se productos Químicos contra productos Biológicos, para los dos sitios. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Sitio	Pr > F	Mejor Grupo
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	CSAEGro	0.8822	Biológicos
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	CSAEGro	0.8792	Biológicos
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	CSAEGro	0.2284	Biológicos
Número de frutos sanos cosechados (30 m ²)	CHILAPA	0.9232	Químicos
Número de frutos dañados cosechados (30 m ²)	CHILAPA	0.0244	Biológicos
Peso de semilla en kg ha ⁻¹	CHILAPA	0.5147	Biológicos

A continuación se presentan los cuadros correspondientes al análisis económico para cada uno de los tratamientos en cada uno de los sitio de cultivo, en donde se desglosan la estructura de los costos, se presentan dos ejemplos enlistando los conceptos correspondientes, enseguida se enlistan el costo total, costo unitario, ingreso total, rendimiento, ingreso neto, y ganancia por peso invertido para cada tratamiento en ambos sitios de cultivo.



Cuadro 58-A. Estructura de costos del tratamiento 1 en el sitio de cultivo CSAEGro.

Concepto	Cantidad	Unidad	P.U	Costo	Importe	%
1. Renta del terreno					\$ 600.00	4.57
1.1 Renta	1	Ha	600	600		
2. Preparación del terreno					\$ 1,100.00	7.04
2.1 Barbecho	1	Ha	700	700		
2.2 Surcado	1	Ha	400	400		
3. Siembra					\$ 365.00	2.78
3.1 Semilla	3	Kg	35	105		
3.2 Mano de obra	2	Jornal	130	260		
4. Fertilización edáfica y foliar					\$ 4,240.00	32.33
4.2 Sulfato de amonio (N)	5	Bulto	250	1250		
4.3 Fosfato diamónico (18-46-00)	3	Bulto	520	1560		
4.4 Cloruro de potasio (k)	2	Bulto	400	800		
4.5 Fertilizante foliar K-fol	2	kg	120	240		
4.6 Mano de obra	3	Jornal	130	390		
5. Control fitosanitario					\$ 1,306.00	9.96
5.1 Counter	0.2	Bulto	480	96		
5.2 Gaucho	0.5	35 g	500	250		
5.3 Disparo	2	L	130	260		
5.4 Inex	1	L	70	70		
5.5 Benomilo (tratamiento)	1	kg	370	370		
5.5 Mano de obra	2	Jornal	130	260		
6. Labores culturales					\$ 1,980.00	15.10
6.2 Paso de cultivo 1	2	Ha	400	800		
6.3 Destape de mata y aclareo	4	Jornal	130	520		
6.4 Paso de cultivo 2	1	Ha	400	400		
6.5 Destape de guía y escarda	2	Jornal	130	260		
7. Cosecha					\$ 2,387.80	18.21
7.1 Recolección	3	Jornal	130	390		
7.2 Extracción de la semilla	128.6	Lata	13	1671.8		
7.3 Secado, envasado y estibado	2	Jornal	130	260		
7.4 Envase	22	Costal	3	66		
8. Gastos generales*					\$ 1,000.00	7.62
9. Depreciación (Cuadro 77-A)					\$ 136.66	1.04
COSTO TOTAL (CT)					\$ 13,115.46	100
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)					\$ 25.19	
INGRESO TOTAL (IT)					\$ 15,618.00	
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)					520.6	
INGRESO NETO (IN= IT-CT)					\$ 2,502.54	
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)					0.19	
^a Precio kg ⁻¹					\$ 30.00	

*Incluye fletes. ^aEl precio se tomó en base al precio promedio rural del año 2012 reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que en el estado de Guerrero se cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementaría.



Cuadro 59-A. Estructura de costos del tratamiento 2 en el sitio de cultivo CSAEGro.

Concepto	Cantidad	Unidad	P.U	Costo	Importe	%
1. Renta del terreno					\$ 600.00	4.07
1.1 Renta	1	Ha	600	600		
2. Preparación del terreno					\$ 1,100.00	6.32
2.1 Barbecho	1	Ha	700	700		
2.2 Surcado	1	Ha	400	400		
3. Siembra					\$ 365.00	2.48
3.1 Semilla	3	Kg	35	105		
3.2 Mano de obra	2	Jornal	130	260		
4. Fertilización edáfica y foliar					\$ 4,240.00	28.78
4.2 Sulfato de amonio (N)	5	Bulto	250	1250		
4.3 Fosfato diamónico (18-46-00)	3	Bulto	520	1560		
4.4 Cloruro de potasio (k)	2	Bulto	400	800		
4.5 Fertilizante foliar K-fol	2	kg	120	240		
4.6 Mano de obra	3	Jornal	130	390		
5. Control fitosanitario					\$ 4,016.00	27.26
5.1 Counter	0.2	Bulto	480	96		
5.2 Gaucho	0.5	35 g	500	250		
5.3 Disparo	2	L	130	260		
5.4 Inex	1	L	70	70		
5.5 Previcur® Energy	4	L	770	3080		
(tratamiento)						
5.5 Mano de obra	2	Jornal	130	260		
6. Labores culturales					\$ 1,320.00	8.96
6.2 Paso de cultivo 1	1	Ha	400	400		
6.3 Destape de mata y aclareo	2	Jornal	130	260		
6.4 Paso de cultivo 2	1	Ha	400	400		
6.5 Destape de guía y escarda	2	Jornal	130	260		
7. Cosecha					\$ 1,956.80	13.28
7.1 Recolección	3	Jornal	130	390		
7.2 Extracción de la semilla	96.6	Lata	13	1255.8		
7.3 Secado, envasado y estibado	2	Jornal	130	260		
7.4 Envase	17	Costal	3	51		
8. Gastos generales*					\$ 1,000.00	6.79
9. Depreciación (Cuadro 77-A)					\$ 136.66	0.93
COSTO TOTAL (CT)					\$ 14,734.46	100
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)					\$ 25.42	
INGRESO TOTAL (IT)					\$ 17,392.50	
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)					\$ 2,658.04	
INGRESO NETO (IN= IT-CT)					579.75	
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)					0.18	
^aPrecio kg⁻¹					\$ 30.00	

*Incluye fletes. ^aEl precio se tomo en base al precio promedio rural del año 2012 reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que en el estado de Guerrero se cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementaría.



Cuadro 60-A. Estructura de costos del tratamiento 3 en el sitio de cultivo CSAEGro.

Concepto	Cantidad	Unidad	P.U	Costo	Importe	%
1. Renta del terreno					\$ 600.00	4.63
1.1 Renta	1	Ha	600	600		
2. Preparación del terreno					\$ 1,100.00	6.06
2.1 Barbecho	1	Ha	700	700		
2.2 Surcado	1	Ha	400	400		
3. Siembra					\$ 365.00	2.81
3.1 Semilla	3	Kg	35	105		
3.2 Mano de obra	2	Jornal	130	260		
4. Fertilización edáfica y foliar					\$ 4,240.00	32.69
4.2 Sulfato de amonio (N)	5	Bulto	250	1250		
4.3 Fosfato diamónico (18-46-00)	3	Bulto	520	1560		
4.4 Cloruro de potasio (k)	2	Bulto	400	800		
4.5 Fertilizante foliar K-fol	2	kg	120	240		
4.6 Mano de obra	3	Jornal	130	390		
5. Control fitosanitario					\$ 2,196.00	16.93
5.1 Counter	0.2	Bulto	480	96		
5.2 Gaucho	0.5	35 g	500	250		
5.3 Disparo	2	L	130	260		
5.4 Inex	1	L	70	70		
5.5 Pentaclor* 600 F	6	L	210	1260		
(tratamiento)						
5.5 Mano de obra	2	Jornal	130	260		
6. Labores culturales					\$ 1,320.00	10.18
6.2 Paso de cultivo 1	1	Ha	400	400		
6.3 Destape de mata y aclareo	2	Jornal	130	260		
6.4 Paso de cultivo 2	1	Ha	400	400		
6.5 Destape de guía y escarda	2	Jornal	130	260		
7. Cosecha					\$ 2,014.00	15.53
7.1 Recolección	3	Jornal	130	390		
7.2 Extracción de la semilla	101	Lata	13	1313		
7.3 Secado, envasado y estibado	2	Jornal	130	260		
7.4 Envase	17	Costal	3	51		
8. Gastos generales*					\$ 1,000.00	7.71
9. Depreciación (Cuadro 77-A)					\$ 136.66	1.05
COSTO TOTAL (CT)					\$ 12,971.66	100
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)					\$ 21.43	
INGRESO TOTAL (IT)					\$ 18,155.40	
RENDIMIENTO (kg ha ⁻¹)					\$ 5,183.74	
INGRESO NETO (IN= IT-CT)					605.18	
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)					0.40	
^aPrecio kg⁻¹					\$ 30.00	

*Incluye fletes. ^aEl precio se tomó en base al precio promedio rural del año 2012 reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que en el estado de Guerrero se cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementaría.



Cuadro 61-A. Estructura de costos del tratamiento 4 en el sitio de cultivo CSAEGro.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 13,626.56
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 29.39
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 13,908.00
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 281.44
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	463.6
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.02
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.

Cuadro 62-A. Estructura de costos del tratamiento 5 en el sitio de cultivo CSAEGro.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 13,739.76
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 23.93
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 17,222.10
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 3,482.34
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	574.07
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.25
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.

Cuadro 63-A. Estructura de costos del tratamiento 6 en el sitio de cultivo CSAEGro.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 12,662.06
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 24.89
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 15,258.60
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 2,596.54
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	508.62
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.21
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.



Cuadro 64-A. Estructura de costos del tratamiento 8 en el sitio de cultivo CSAEGro.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 11,891.66
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 21.55
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 16,554.60
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 4,662.94
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	551.82
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.39
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.

Cuadro 65-A. Estructura de costos del tratamiento 9 en el sitio de cultivo CSAEGro.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 11,899.46
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 21.41
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 16,671.30
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 4,771.84
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	555.71
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.40
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.

Cuadro 66-A. Estructura de costos del tratamiento 10 en el sitio de cultivo CSAEGro.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 10,982.66
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 38.88
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 8,474.40
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	-\$ 2,508.26
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	282.48
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	-0.23
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.



Cuadro 67-A. Estructura de costos del tratamiento 1 en el sitio de cultivo Chilapa.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 13,115.46
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 17.00
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 23,148.90
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	771.63
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	\$ 10,033.44
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.77
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.

Cuadro 68-A. Estructura de costos del tratamiento 2 en el sitio de cultivo Chilapa.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 15,588.66
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 16.22
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 28,828.20
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 13,239.54
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	960.94
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.85
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.

Cuadro 69-A. Estructura de costos del tratamiento 3 en el sitio de cultivo Chilapa.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 13,830.16
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 14.01
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 29,605.50
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 15,775.34
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	986.85
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	1.14
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.



Cuadro 70-A. Estructura de costos del tratamiento 4 en el sitio de cultivo Chilapa.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 14,364.66
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 18.84
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 22,878.90
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 8,514.24
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	762.63
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.59
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.

Cuadro 71-A. Estructura de costos del tratamiento 5 en el sitio de cultivo Chilapa.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 14,615.36
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 15.19
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 28,867.20
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 14,251.84
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	962.24
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.98
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.

Cuadro 72-A. Estructura de costos del tratamiento 6 en el sitio de cultivo Chilapa.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 13,281.20
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 16.95
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 23,505.00
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 10,223.80
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	783.5
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.77
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.



Cuadro 73-A. Estructura de costos del tratamiento 7 en el sitio de cultivo Chilapa.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 12,854.66
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 18.02
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 21,398.70
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 8,544.04
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	713.29
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.66
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.

Cuadro 74-A. Estructura de costos del tratamiento 8 en el sitio de cultivo Chilapa.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 12,548.76
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 14.86
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 25,329.90
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 12,781.14
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	844.33
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	1.02
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.

Cuadro 75-A. Estructura de costos del tratamiento 9 en el sitio de cultivo Chilapa.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 12,147.66
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 18.19
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 20,037.60
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 7,889.94
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	667.92
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.65
^aPrecio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.



Cuadro 76-A. Estructura de costos del tratamiento 10 en el sitio de cultivo Chilapa.

COSTO TOTAL (CT)	\$ 11,343.46
COSTO UNITARIO (CU=CT/y)	\$ 25.70
INGRESO TOTAL (IT)	\$ 13,241.10
RENDIMIENTO (kg ha⁻¹)	\$ 1,897.64
INGRESO NETO (IN= IT-CT)	441.37
GANANCIA POR PESO INVERTIDO (GPI=IN/CT)	0.17
^a Precio kg⁻¹	\$ 30.00

^aEl precio se fijó en función del precio rural promedio del año 2012, reportado por el SIAP. Tomando en cuenta que el estado de Guerrero cuenta con el programa de fertilizante subsidiado la GPI se incrementa.

Cuadro 77-A. Depreciación anual del equipo utilizado en el experimento. En pesos ha⁻¹

Concepto	Cantidad	Unidad	P. U.	Costo	Importe	VU	DA (%)	DA (\$)
1. Equipo					2,060.00			410.00
Azadón	3	Pieza	50.00	150.00		5	0.20	30.00
Machete	2	Pieza	120.00	240.00		5	0.20	48.00
Bomba asp. manual	2	Equipo	600.00	1,200.00		5	0.20	240.00
Tonel 200L	1	Pieza	200.00	200.00		5	0.20	40.00
Rastrillo	2	Pieza	70.00	140.00		5	0.20	28.00
Pala	2	pieza	65.00	130.00		5	0.20	26.00
Depreciación Anual.....								410.00
Depreciación por ciclo (4 meses).....								136.66

Cuadro 78-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales y contrastes ortogonales para *Fusarium*. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Análisis	Pr > F	Mejor Grupo
Días	ANOVA	<0.0001	
	Contraste (Biológicos vs Químicos)	<0.0001	Químicos

Cuadro 79-A.- Comparaciones de Medias por el Método de LSD para los Análisis individuales para *Fusarium*.

Variable	Tratamientos	Media
Días	T1	4.0000 CD ^a
	T2	3.5833 CDE
	T3	3.5000 DE
	T4	4.8333 AB
	T5	4.5833 BC
	T6	5.6667 A
	T7	2.8333 E
	LSD	1.0427

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)



Cuadro 80-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales y contrastes ortogonales para *Phytophthora*. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Análisis	Pr > F	Mejor Grupo
Días	ANOVA	<0.0001	
	Contraste (Biológicos vs Químicos)	<0.0001	Químicos

Cuadro 81-A.- Comparaciones de Medias por el Método de LSD para los Análisis individuales para *Phytophthora*.

Variable	Tratamientos	Media
Días	T1	4.0833 C ^a
	T2	4.0833 C
	T3	4.5000 BC
	T4	5.4167 AB
	T5	6.0000 A
	T6	6.0000 A
	T7	2.8333 D
	LSD	0.9974

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 82-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales y contrastes ortogonales para *Rhizoctonia*. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Análisis	Pr > F	Mejor Grupo
Días	ANOVA	<0.0001	
	Contraste (Biológicos vs Químicos)	0.600	Químicos

Cuadro 83-A.- Comparaciones de Medias por el Método de LSD para los Análisis individuales para *Rhizoctonia*.

Variable	Tratamientos	Media
Días	T1	4.6667 A ^a
	T2	4.2500 AB
	T3	3.7500 AB
	T4	4.4167 A
	T5	4.1667 AB
	T6	4.4167 A
	T7	3.1667 B
	LSD	1.2263

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)



Cuadro 84-A.- Resultados de los Análisis de Varianza individuales y contrastes ortogonales para *Sclerotium*. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Análisis	Pr > F	Mejor Grupo
Días	ANOVA	<0.0001	
	Contraste (Biológicos vs Químicos)	0.002	Químicos

Cuadro 85-A.- Comparaciones de Medias por el Método de LSD para los Análisis individuales para *Sclerotium*.

Variable	Tratamientos	Media
Días	T1	4.6667 B ^a
	T2	4.5000 B
	T3	4.9167 AB
	T4	5.0833 AB
	T5	5.2500 AB
	T6	5.8333 A
	T7	4.4167 B
	LSD	1.1073

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)

Cuadro 86-A.- Resultados de los Análisis de Varianza y contrastes ortogonales combinados a través de los tres hongos. Se reporta solo la Probabilidad de Error Tipo I (Probabilidad de Falso Positivo).

Variable	Análisis	Pr > F	Mejor Grupo
Días	ANOVA	<0.0001	
	Contraste (Biológicos vs Químicos)	<0.0001	Químicos

Cuadro 87-A.- Comparaciones de Medias por el Método de LSD para los Análisis Combinados a través de los tres hongos.

Variable	Hongo	Media	Tratamientos	Media
Días	<i>Fusarium</i>	4.1429 B ^a	T1	4.4444 BCD
	<i>Rhizoctonia</i>	4.1190 B	T2	4.1111 CD
	<i>Sclerotium</i>	4.9524 A	T3	4.0556 ED
	LSD	0.3842	T4	4.7778 AB
			T5	4.6667 BC
			T6	5.3056 A
			T7	3.4722 E
			LSD	0.6054

^a Medias dentro de columnas seguidas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (prob=0.05)