



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA
AGRÍCOLA

**“ETIOLOGÍA DE LA PUDRICIÓN DEL
CUELLO EN ANTURIO (*Anthurium andreanum*)
EN MÉXICO”**

TESIS

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

PRESENTA:

PÉREZ FLORES ANAHÍ MICHELL

Chapingo, Estado de México, 10 de Junio 2015.

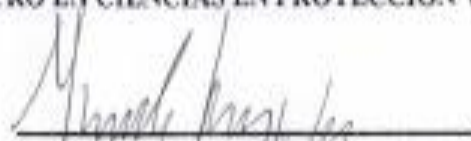


DIRECCIÓN GENERAL ACADÉMICA
DIRECCIÓN DE ASUNTOS ESCOLARES
OFICINA DE EXÁMENES PROFESIONALES



La presente tesis titulada “ETIOLOGÍA DE LA PUDRICIÓN DEL CUELLO EN ANTURIO (*Anthurium andreanum*) EN MÉXICO” fue realizada por la Ing. Anahí Michell Pérez Flores bajo la dirección del Dr. Santos Gerardo Leyva Mir, con la asesoría del Dr. Cristian Nava Díaz, y con la revisión del Dr. Andrés Bolaños Espinoza, ha sido aprobada por el jurado Examinador, como requisito parcial para obtener el Título de

MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL



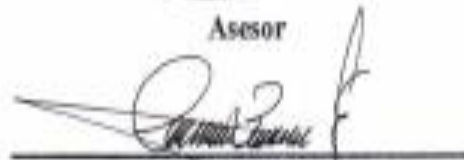
Dr. Santos Gerardo Leyva Mir

Director



Dr. Cristian Nava Díaz

Asesor



Dr. Andrés Bolaños Espinoza

Asesor

DATOS BIOGRÁFICOS

Anahí Michell Pérez Flores nació en la Ciudad de México el día 24 de Julio de 1989. Cursó la escuela primaria en el Centro Escolar Netzahualcóyotl, la escuela secundaria en la Escuela Secundaria Oficial No. 130. Ingreso en el año 2004 a cursar la preparatoria en la Preparatoria Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo, egresando en el año 2007. Posteriormente ingreso a estudiar la carrera de Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo, egresó en el año 2011. Realizó su servicio social en el Departamento de Análisis de Riesgo de Plagas en el Servicio Nacional de Sanidad, Inocuidad y Calidad Agroalimentaria (SENASICA). Curso tres meses realizando su estancia pre-profesional en el Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP) en el Estado de Zacatecas. En el año 2013 ingreso a la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal en la Universidad Autónoma Chapingo, egresando en el año 2014.

DEDICATORIA

A dios por permitirme dar un paso más en mi vida con satisfacción.

*A mi madre, por haberme dado la oportunidad de ser un buen ser humano, por haberme
llenado de fuerza y paciencia.*

A mis hermanas por enseñarme lo divertido de la vida.

A Gabo por apoyarme en cada momento.

*A mi fuerza, a mi entusiasmo, a mis ilusiones y a mi constante empeño por ser cada día
mejor de lo que fui ayer.*

*A mis amigos que han estado presentes en mi vida, a lo largo de todo mi camino y por
haberme enseñado lo positivo de la vida.*

AGRADECIMIENTOS

A CONACYT por haber financiado mis estudios de posgrado y haberme dado la oportunidad de continuar con ellos.

A la Universidad Autónoma Chapingo por permitirme terminar una carrera y un posgrado.

A la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal por brindarme la oportunidad de adquirir nuevos conocimientos y aplicar los ya conocidos.

Al Dr. Gerardo Santos Leyva Mir por facilitarme todos los medios posibles para llevar a cabo esta tesis, por su amistad, por su paciencia, y por su comprensión.

Al Dr. Cristian Nava del Colegio de Posgraduados por haberme apoyado y ayudado en la realización de esta tesis.

Al Ingeniero Ranfery Gabriel Morales Hernández por sus consejos brindados durante la realización de esta tesis.

A mis amigos de posgrado que estuvieron apoyándome en todo momento, por sus sabios consejos académicos. Ingeniera Ana Eugenia Rangel Castillo, Ingeniero Abraham Jiménez Camargo, Ingeniera Guadalupe López Buenabad y M. C. Nelson Laville.

A Mariana y Juanito por brindarme toda la ayuda posible en el laboratorio de Micología Agrícola.

Gracias a todos y que dios los bendiga.

“ETIOLOGÍA DE LA PUDRICIÓN DEL CUELLO EN ANTURIO (*Anthurium andreanum*) EN MÉXICO”

“ETIOLOGY OF ROOT BASE IN ANTURIO (*Anthurium andreanum*) IN MEXICO”

Pérez Flores Anahí Michell¹, Santos Gerardo Leyva Mir²

Resumen

En México, la producción de anturio es escasa debido al difícil manejo del cultivo, así como al poco conocimiento sobre problemas fitosanitarios. Algunas enfermedades suelen ser muy devastadoras para los anturios, por lo que se debe de conocer y manejar la etiología de una posible enfermedad. En Tuxtepec, Oaxaca, se colectaron 9 muestras con síntomas de clorosis, necrosis y pudrición de raíz. Cortes de las muestras se aislaron en medio de agar agua, PDA, y V8. Se purificaron con cultivos monospóricos y punta de hifa. Se realizaron pruebas de patogenicidad utilizando tres variedades de anturio, evaluando el daño en follaje y reaislando posteriormente al patógeno, las características morfológicas del género coincidieron con la literatura. El PCR y la secuenciación se llevaron a cabo en MACROGEN Korea, utilizando los iniciadores universales ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) e ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG). Se realizó una prueba de Tukey ($P < 0.05$) en el programa SAS System V8. Se obtuvieron crecimientos color violeta, color blanco, color blanco aracnoide y color gris, así como macro y microconidios, esporangios y clamidosporas, conidios inmaduros y maduros y conidios sin septos. De las pruebas de patogenicidad se obtuvieron síntomas de clorosis, necrosis, manchas irregulares y pudriciones de raíz. Los resultados de la secuenciación se compararon en similitud de porcentaje con las secuencias depositadas en la base de datos del NCBI. Las cuales coinciden con *Fusarium solani*, *Colletotrichum pisi*, *Phytophthora parasítica*, *Fusarium proliferatum*, y *Lasiodiplodia theobromae*. Los tratamientos que causaron mayor daño fueron el 6 (combinación de todos los hongos), el 5 (*Lasiodiplodia theobromae*) y el 3 (*Phytophthora parasítica*).

Palabras clave: Anturio, enfermedad, hongos, diagnóstico.

¹Tesista de la Maestría en Ciencias en Protección Vegetal

²Profesor-Investigador del Departamento de Parasitología Agrícola, UACH.

Abstract

In Mexico, the production of anthurium is limited by difficult on crop management and phytosanitary problems. Some diseases devastate anthuriums, and the causal agents remain unknown. In Tuxtepec, Oaxaca, 9 samples were collected with symptoms such as chlorosis, necrosis, root rot. Cutting samples were isolated on agar water, PDA, and V8. They were purified with spore cultures and hyphae tip. Pathogenicity tests were conducted using three varieties of anthurium, assessing the damage in foliage and reisolating the pathogen, morphological characteristics of the genre coincided with the literature. The PCR and sequencing were carried out in MACROGEN Korea, using the universal primers ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) and ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG). A Tukey test ($P < 0.05$) was performed in the SAS System V8 program. Were obtained growths violet color, white color, arachnoid white color and gray color, as well as macro and microconidia, sporangia and chlamydospores, immature and mature conidia, and conidia without septa. The pathogenicity tests were obtained symptoms of chlorosis, necrosis, irregular spots and root rot. The sequencing results were compared in percentage similarity with sequences deposited in the NCBI database. Which coincide with *Fusarium solani*, *Colletotrichum pisi*, *Phytophthora parasítica*, *Fusarium proliferatum*, and *Lasiodiplodia theobromae*. The treatments 6 (combination of all fungi), 5 (*Lasiodiplodia theobromae*) and 3 (*Phytophthora parasítica*) were the ones that caused more damage.

Key words: Anturio, disease, fungi, diagnostic.

¹Tesist of the Master's of Science in Plant Protection

²Professor-Researcher of the Agricultural Parasitology Department, UACH.

TABLA DE CONTENIDO

DEDICATORIA	iv
AGRADECIMIENTOS	v
Resumen.....	vi
<i>Abstract</i>	vi
ÍNDICE DE CUADROS.....	xii
LISTA DE FIGURAS	xiii
1. INTRODUCCIÓN	1
2. OBJETIVOS	3
3. REVISIÓN DE LITERATURA.....	4
3.1 Importancia del cultivo	4
3.2 Origen.....	5
3.3 Taxonomía.....	5
3.4 Generalidades del cultivo	6
3.5 Usos.....	9
3.6 Producción	10
3.7 Problemas fitosanitarios	11
3.8 Insectos plaga.....	11
3.8.1 Trips.....	11
3.8.1.1 Daño	11

3.8.1.2 Biología.....	12
3.8.1.3 Manejo	12
3.8.2 Acaros.....	12
3.8.2.1 Daño	13
3.8.2.2 Biología.....	13
3.8.2.3 Manejo	13
3.8.3 Homópteros	14
3.8.3.1 Daño	14
3.8.3.2 Biología.....	15
3.8.3.3 Manejo	15
3.8.4 Fungus gnat.....	15
3.8.4.1 Daño	16
3.8.4.2 Biología.....	16
3.8.4.3 Control	16
3.8.5 Mosquita blanca.....	17
3.8.5.1 Daño	17
3.8.5.2 Biología.....	17
3.8.5.3 Control	17
3.9 Otras plagas	18
3.10 Nemátodos.....	18
3.10.1 Daño	18
3.10.2 Biología.....	18
3.10.3 Control	19
3.11Virus	19
3.11.1 Daño	19

3.11.2 Control	19
3.12 Enfermedades causadas por bacterias	20
3.12.1 Tizón bacteriano.....	20
3.12.1.1 Daños	20
3.12.1.2 Biología.....	20
3.12.1.3 Control	21
3.12.2 Pudrición blanda	21
3.12.2.1 Daño	22
3.12.2.2 Biología.....	22
3.12.2.3 Control	22
3.12.3 Pseudomonas spp.	22
3.13 Enfermedades causadas por hongos	22
3.13.1 Antracnosis.....	22
3.13.1.1 Daños	23
3.13.1.2 Biología.....	23
3.13.1.3 Control	23
3.13.2 Pudrición de la raíz.....	24
3.13.2 .1Daño	24
3.13.2 .2Biología.....	25
3.13.2 .3Control	25
3.13.3 Marchitez	26
3.13.4 Septoria.....	26
3.14 Malezas	26
3.14.1 Daño	26
3.14.2 Control	26

3.15 Diagnóstico e identificación de hongos fitopatógenos.....	27
3.16 Postulados de Koch.....	28
3.17 Extracción de ADN	29
3.18 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR).....	29
3.18.1 Principios de la PCR.....	30
3.19 Secuenciación	31
3.19.1 El método de degradación química.	31
3.19.2 El método enzimático.	32
3.20 Regiones ITS	33
3.21 Manejo de enfermedades en anturio	34
4. MATERIALES Y MÉTODOS	36
4.1 Localización del experimento	36
4.2 Muestreo.....	36
4.3 Postulados de Koch.....	36
4.3.1 Aislamiento y purificación del patógeno	36
4.3.2 Inoculación y reaislamiento	37
4.4 Identificación morfológica	38
4.5 Extracción de ADN	38
4.6 Prueba de PCR.....	38
4.7 Secuenciación.....	38
4.8 Evaluación daño en variedades de anturio.....	39
4.9 Análisis estadístico de daño en anturio	40
5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	41
5.1 Aislamiento y purificación del patógeno	42

5.2 Pruebas de patogenicidad.....	44
5.2.1 Inoculación y reaislamiento de la enfermedad.....	44
5.3 Identificación de los agentes causales por características morfológicas.....	47
5.4 Secuenciación.....	52
5.5 Evaluación del daño en variedades de anturio	57
5.6 Análisis estadístico de daño en anturio	58
6. CONCLUSIONES	64
7. APÉNDICES	65
8. LITERATURA CITADA.....	67

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Escala de daño visual utilizada para la obtención de daño en plantas inoculadas de anturio (Cuadro del autor).....	39
Cuadro 2. Promedios de ancho y largo de macroconidios y microconidios de <i>Fusarium oxysporum</i> (Cuadro del autor, 2014).....	48
Cuadro 3. Promedio de oogonio, anteridio, esporangio y clamidosporas (Cuadro del autor, 2014).....	50
Cuadro 4. Promedio de macroconidios y microconidios en el crecimiento blanco (Cuadro del autor, 2014).....	51
Cuadro 5. Promedios de conidios de <i>Colletotricum pisi</i> (Cuadro del autor, 2014).....	54
Cuadro 6. Porcentaje de daño evaluado en las variedades de anturio.....	57
Cuadro 7. Promedios en porcentaje de daño de cada variedad de anturio.....	58
Cuadro 8. Número de tratamientos utilizados en el análisis estadístico.....	58
Cuadro 9. Agrupación de Tukey y media del porcentaje de daño en la variedad Roja Tezoyuca.....	59
Cuadro 10. Agrupación de Tukey y media del porcentaje de daño en la variedad Blanca Tezoyuca.....	61
Cuadro 11. Agrupación de Tukey y media del porcentaje de daño en la variedad Rosa Tezoyuca.....	62

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Hojas colectadas de plantas de anturio. a) hoja mostrando clorosis; b) hoja mostrando necrosis. De autor, 2013, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.....	41
Figura 2. Hojas colectadas de planta de anturio mostrando manchas color marrón. a) vista por el haz, b) vista por el envés. De autor, 2013, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.....	41
Figura 3. Planta de anturio colectada en Tuxtepec, Oaxaca. a) Raíces color café, mostrando menor número de raíces, y corteza desprendida; b) hojas con aspecto quebradizo. De autor, 2013, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.....	42
Figura 4. Crecimientos de colonias aisladas y purificadas de tallo y hoja de plantas de anturio (<i>Anthurium andreanum</i>); a) colonia color violeta en medio de cultivo de agar agua. b) colonia en medio de agar agua color blanco cremoso, de forma rastrera, no abundante y sin la formación de estructuras. c) colonia color blanco en forma de roseta densa. d) colonia color naranja con micelio no tan abundante. e) crecimiento pobre y con escasa coloración grisácea. f) colonia en PDA con micelio color blanco grisáceo y algodonoso. De autor, 2013, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.....	43
Figura 5. Síntomas de de <i>Fusarium</i> sp. en variedades de anturio. a) amarillamiento en hojas inferiores; b) necrosis en hojas de anturio. De autor, 2014, Invernadero de Micología Agrícola, UACH.....	44
Figura 6. Hojas de plantas inoculadas de las variedades de anturio. a) manchas en forma irregular rodeadas por un halo clorótico; b) manchas color marrón en el borde de las hojas. De autor, 2014, Invernadero de Micología Agrícola, UACH.....	45
Figura 7. Plantas de anturio inoculadas con el crecimiento color blanco en forma de roseta. a) pudrición de raíces; b) coloración café en raíces; c) borde de las hojas amarillentas; d) hojas colgando languidamente ; e) crecimiento micelial sobre las plantas de anturio. De autor, 2014, Invernadero de Micología Agrícola, UACH.....	46

Figura 8. Plantas inoculadas con el crecimiento color gris abundante. a) necrosis en hojas; b) Pudrición de tallo. De autor, 2014, Invernadero de Micología Agrícola, UACH.....	47
Figura 9. Plantas inoculadas con el crecimiento de todos los hongos. a) hojas con clorosis; b) hojas con necrosis y pudrición de tallo. De autor, 2014, Invernadero de Micología Agrícola, UACH.....	47
Figura 10. Crecimiento de pigmentación violeta. a) macroconidios delgados de <i>Fusarium oxysporum</i> . De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.....	48
Figura 10. b) Monofiálides cortos y formación de clamidosporas de <i>Fusarium oxysporum</i> . De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.....	49
Figura 11. Crecimiento color blanco cremoso, con conidios sin septos, de forma recta cilíndrica, con los extremos redondeados. De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.....	49
Figura 12. Crecimiento miceliar en forma de roseta de color blanco. a) anteridio anfígeno; b) oogonio circular liso; c) esporangio ovoide con una papila pronunciada; d) clamidosporas. De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.....	50
Figura 13. Crecimiento color blanco con micelio escaso. a) macroconidios rectos y robustos; b) microconidios ovales. c) monofiálides largos. De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.....	52
Figura 14. Crecimiento color gris algodonoso; a) picnidios de forma globosa color negro; b) conidios inmaduros; c) conidios maduros. De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.....	52

1. INTRODUCCIÓN

La producción mundial de planta y flor se ha ido extendiendo en los últimos años, con numerosos centros productivos localizados en países en desarrollo, que abastecen de una forma regular a los grandes consumidores. En el mundo existen tres grandes centros de consumo: Japón, los Estados Unidos y Europa Occidental, que absorben el 75% de la producción mundial de ornamentales, con un valor de 80.000 millones de euros (COAG, 2009).

El anturio (*Anthurium andreanum* L.) es una de las especies más populares y económicamente importantes de las Aráceas, por sus atractivas espatas a manera de inflorescencias de larga vida postcosecha. Tiene una creciente demanda a nivel internacional y un buen precio de compra por tallo floral, por sus atractivos colores y larga vida en florero (García, *et al.*, 2014). Considerada como flor de especialidad, forma parte de un grupo de plantas ornamentales tropicales con mucho potencial comercial en México (Lee, *et al.*, 2003). En México, el cultivo se desarrolla principalmente en los estados de: Veracruz, Chiapas, Michoacán, Jalisco y Colima (Murguía, 2007). Debido a sus atractivos, a sus flores de larga duración, el anturio es popular por ser un cultivo exótico como flores de corte y como cultivo en maceta de plantas (Norman, *et al.*, 2012). Es un cultivo costoso en su inversión pero rentable y productivo todo el año (Murguía, 2007).

El anturio se encuentra dentro de los cultivos ornamentales tropicales más explotados para producir “flores de corte”, valoradas por su inflorescencia con espata colorida de larga duración. Ocupa el segundo lugar en producción y ventas entre las flores tropicales, después de las orquídeas con un alto mercado de importación mundial (Cásares, *et al.*, 2009).

Las plagas y enfermedades en la producción de plantas de ornato constituyen un riesgo para la producción, dado que hay una gran diversidad de especies en producción, así también hay diversas plagas y patógenos; cada cultivo tiene sus propias plagas y enfermedades. Para que se presente una plaga o enfermedad, será necesario que se

presenten tres factores: hospedante (cultivo o arvense), agente causal (plaga o patógeno) y un ambiente favorable para su desarrollo (humedad relativa, temperatura, entre otros), si falta alguno de estos no existirá el problema. Es importante conocer los ciclos de vida de los patógenos y plagas de estas últimas saber cuanto dura su ciclo, cuantas etapas comprende, cuales son sus hábitos, en que instar son mas susceptibles de controlar, cuanto daño nos pueden causar y en que etapa, cuales son sus tasas de multiplicación, cuantos ciclos tienen por mes, por año, etc. Todo ello encaminado a estructurar un programa de manejo integrado, con el enfoque de prevenir problemas (Sánchez, *et al.*, 2004).

En el caso del anturio, Hernández, 2004, señala que algunos de los aspectos que condicionan la calidad del mismo son: color, traslape de los lóbulos de la espata, reclinación del espádice con respecto a la espata, largo del pedúnculo, daño por plagas, **daño por enfermedades**, brillantez de la espata y flacidez de la espata. Debido a los pocos estudios que se han realizado acerca de las enfermedades causadas por hongos que perjudican al cultivo del anturio (*Anthurium andreanum*) en México, en esta investigación se propone una identificación y diagnóstico molecular de los posibles agentes causales de la pudrición de cuello, en la Región de Tuxtepec, Oaxaca.

2. OBJETIVOS

- Identificar al o a los agentes causales de la pudrición del cuello en anturio (*Anthurium andreanum*) en variedades de la Región de Tuxtepec, Oaxaca.
- Valorar el comportamiento de tres variedades comerciales de anturio (*A. andreanum*) a los patógenos.

3. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Importancia del cultivo

La floricultura es una rama de la horticultura que tiene como finalidad la explotación comercial a través de la multiplicación y cultivo de las plantas con flores y de las plantas con follaje ornamental, destinadas a la decoración de interiores o de las zonas ajardinadas (Castillo, 2012). En países desarrollados se encuentra en constante transformación, gracias a las variaciones en el cultivo, manejo, tecnologías post-cosecha y al uso de técnicas modernas para desarrollar nuevas variedades. El comercio internacional de la floricultura se organiza por regiones: los países de Asia y el Pacífico son los principales proveedores de Japón y Hong Kong; los países africanos y algunos europeos son los principales proveedores de Europa, y Estados Unidos es atendido principalmente por Colombia y Ecuador. Es en este mercado donde México tiene oportunidad de incrementar su participación (López *et. al.*, 2013).

De las variantes de la floricultura en México ancestralmente ha existido una riqueza de producción de flores de corte, que ha sido posible por la diversidad de climas y de tradiciones culturales. Las flores son usadas para actividades ceremoniales que tienen una concentración del consumo en pocas fechas, cuando se consume mucha flor (González, 2010). En la actualidad el anturio (*Anthurium andreanum*) es uno de los productos con gran expectativa en la exportación a gran escala por el sector primario tanto por el lado de las preferencias y gustos del consumidor, como por la capacidad técnica necesaria para la producción (Castillo, 2012). Es una de las especies más populares y económicamente importantes de las Aráceas, por sus atractivas espatas a manera de inflorescencias de larga vida postcosecha. Además dentro de las ornamentales tropicales, el anturio es el segundo cultivo en importancia, sólo después de las orquídeas (Hernández, *et al.*, 2012). Considerada como flor de especialidad, forma parte de un grupo de plantas ornamentales tropicales con mucho potencial comercial en México (Lee *et al.*, 2003).

3.2 Origen

El nombre de *Anthurium* es derivado de las palabras griegas ‘Anthos’ que significa ‘floración’ y ‘Oura’ que significa ‘sombra’ (Departamento de Agricultura, Silvicultura y Pesca de Republica de Sudáfrica, 2010).

El *Anthurium andreanum* es originario de Colombia, de las selvas de Nariño (Bonilla, 2013). Se dice que la primera especie conocida de este género debe su nombre científico al médico y botánico austríaco Karl von Scherzer, que en 1850 descubrió la primera especie de *Anthurium scherzerianum* proveniente de Costa Rica e introducida en Europa en 1857 (Higaki, 1972, citado por Hernández, 2004). Mr. S. Damon los introdujo en Hawaii procedentes de Londres en 1889 y posiblemente en México entre 1930 y 1940 (Higaki, 1972, citado por Hernández, 2004). Según Engler, taxonomista de principios de 1900 que recopiló y describió un gran número de variedades de *Anthurium*, estas son comunes en toda América del Sur y América Central, y se encuentran en áreas de climatología muy diversa, desde las regiones secas del oeste de México hasta la selva tropical de América del Sur. Su altitud varía en dependencia de la especie desde el nivel del mar hasta 3.000 m; su mayor desarrollo se encuentra en las latitudes entre los 10° latitud norte y 5° latitud sur (Herk, *et al.*, 1998, citado por Hernández, 2004). Su hábitat depende de las especies, algunas son terrestres y otras son epifitas (Chen *et al.* 2003, citado por Norman *et al.*, 2012).

3.3 Taxonomía

De acuerdo a Bonilla, 2013, *Anthurium andreanum* se clasifica de la siguiente manera:

Reino: Vegetal

Phyllum: Tracheophyta

Clase: Angiospermas

Orden: Espatifloras

Familia: Aráceas

Género: *Anthurium*

Especie: *Anthurium andreanum* Linden

3.4 Generalidades del cultivo

Los anturios cultivados por sus atractivas flores y su larga vida poscosecha, son plantas monocotiledóneas. Es una planta de consistencia herbácea y de hábito perenne, aunque en cultivo se recomienda una vida productiva de ocho años (Hernández, *et al.*, 2012). La raíz es fibrosa, cilíndrica, de consistencia carnosa, no profundiza mucho en la tierra, blanca, con producción de raíces adventicias. El tallo es caulinar, monopódico, simple, herbáceo cuando joven y semileñoso cuando adulto, llega a crecer hasta 1.5 m. El tallo principal produce de tres a ocho hojas por año dependiendo de su nutrición, ambiente y variedad (Hernández, 2004).

Las hojas son grandes, anuales, de 30 cm. de longitud por 20 cm de ancho; de peciolo largo y color verde brillante, ápice agudo; el borde es liso, con una disposición alternada en el tallo. El peciolo de la hoja está envuelto por una vaina inserta en el tallo. El tallo principal produce de tres a ocho hojas por año dependiendo de su nutrición, ambiente y variedad (Murguía, 2007). La inflorescencia de *A. andreanum* consiste de tres estructuras: el pedúnculo o “tallo”, la bráctea o espata y el espádice (Hernández, *et al.*, 2012). La flor comercial es una hoja modificada llamada bráctea o espata, la cual envuelve a una estructura cilíndrica denominada espádice donde se producen alrededor de 300 flores pequeñas, la bráctea está sobre un pedúnculo de alrededor de 50 cm (Murguía, 2007). Las flores botánicas son diminutas en cada espádice, las cuales tienen un arreglo helicoidal. Las flores verdaderas (espádice) son perfectas, pequeñas y nacen en un raquis central en forma de pedúnculo. Las flores del espádice maduran progresivamente; primero se desarrollan las flores cercanas al ápice y el resto de las flores maduran basipetamente (Hernández, *et al.*, 2012). El espádice mide unos 9.5 cm. Grueso, de colores amarillo, blanco, verde y rojizo, con 300 florecillas diminutas, aproximadamente, las cuales son blancas, hermafroditas, con un ovario, dos carpelos y cuatro anteras. El perianto consiste en cuatro pétalos carnosos. Cuando la flor madura, el

estigma aparece con una protuberancia redondeada en el espádice; cuando están listos para ser polinizados aparecen húmedos y brillantes (Murguía, 2007). La espata mide usualmente 12 cm de ancho por 14 cm de largo, aunque puede ser más grande o pequeña, de forma generalmente acorazonada. Es posible que se presenten otras formas distintas. La espata es simple aunque algunos cultivares tienen una espata compuesta. Las espatas simples están compuestas de una sola lámina, en tanto que las compuestas cuentan con dos láminas (Hernández, *et al.*, 2012). Es de colores vistosos como rojo, anaranjado, blanco, rosado, café, colores combinados y diferentes tonalidades de los colores anteriores (Hernández, 2004).

Los frutos aparecen después de la polinización de las flores como unas protuberancias verrugosas sobre el espádice (Murguía, 2007). Son pequeñas bayas amarillas, globosas y que se disponen de manera compacta sobre el espádice (Hernández, *et al.*, 2012), de 0.5 m que contienen de una a dos semillas pequeñas de 0.03 m. y color amarillo (Murguía, 2007). Se encuentran una o dos semillas por baya que germinan inmediatamente después de la siembra. Los frutos son suculentos con dos cavidades (Hernández, *et al.*, 2012)

La planta produce flores todo el año; la secuencia de hoja, flor y nueva hoja se mantiene a través de toda la vida de la planta, y el intervalo entre cada nacimiento de una nueva hoja se acorta o alarga de acuerdo con los cambios en las condiciones ambientales. Durante la primavera y el verano, cuando las condiciones son favorables para el crecimiento, se esperan más flores por planta que durante los meses de invierno, cuando las temperaturas son más bajas y hay menos luz (Murguía, 2007). Las semillas poseen una placentación axilar sobre los carpelos del ovario (Hernández, *et al.*, 2012).

Dentro del género *Anthurium* se encuentran, entre otras, las siguientes especies:

1. *A. andreanum*. Es la especie más importante desde el punto de vista económico, y es la que cuenta con la mayoría de las variedades comerciales; tienen espatas o brácteas grandes.
2. *A. sherzerianum*. Segunda especie en importancia económica. Se caracteriza por tener hojas más pequeñas, no son acorazonadas, tienen brácteas rojo naranja o blancas, con manchas rojo naranja y espádice largo y helicoidal.

3. *A. crystallinum*. De hojas grandes, acorazonadas y rayado blanco; son plantas bellas por su follaje.
4. *A. clarinervium*. Similar a la anterior
5. *A. magnificum*. Similar a las dos anteriores.
6. *A. forgetii*. Similar a las tres anteriores.
7. *A. warocqueanum*. Hojas grandes, alargadas y rayado blanco.
(Murguía, 2007).

Sin embargo Parrado *et al.*, 2012 señala que los anturios pueden dividirse en cuatro grupos básicos: Variedades de *Anthurium andreanum*; Híbridos interespecíficos entre variedades de este y especies enanas; Híbridos de *A. scherzerianum* y Anturios de follaje. Recientemente *A. andreanum* y *A. scherzerianum* fueron reclasificados y ahora sus nombres científicos correspondientes son *A. cultorum* y *A. hortulanum*, respectivamente. La forma predominante es la epífita, por lo que se les encuentra creciendo en forma natural sobre la corteza de árboles y arbustos.

Los anturios se consideran plantas de sombra, las intensidades de la luz varían en las diferentes áreas donde puedan cultivarse y las indicaciones para una área pueden no ser válidas para otras, si se habla de porcentaje de sombra. Actualmente el rango usado varía de 50% a 90% de luz de sol (90% = 162 kilo lux), según la variedad. Al parecer el fotoperiodo no influye en el desarrollo y la producción. Por otra parte, un factor básico es mantener la humedad relativa en 80% para obtener buena serosidad en las hojas y flores, lo cual da brillo y calidad. La iniciación floral y el desarrollo empiezan a temperaturas de 18 °C, siendo la óptima de 27 °C y una máxima de 30 °C. Un buen sustrato debe ser lo más aireado posible, con un alto contenido orgánico para una adecuada nutrición y que proporcione a la planta un anclaje idóneo. Se puede usar pergamino de café, hojas descompuestas de leguminosas, bagazo de caña, aserrín, pulpa de café descompuesta y estopa de coco molida, mantener un pH de 5.5 es beneficioso para el cultivo (Parrado *et al.*, 2012).

El anturio es una planta que demanda una fertilización muy completa, aunque no tolera concentraciones elevadas de sales: un exceso en la dosis de fertilización, sobre todo de nitrógeno, reduce el crecimiento de las plantas, los colores de las flores son más claros y las hojas se engruesan y deforman, además de que toman un color amarillo y aparecen quemaduras de color café en el ápice (Hernández, *et al.*, 2012). Los sustratos para los *Anthurium* exigen suelos de estructura granular, con un buen drenaje, tanto superficial como interno, a la vez que un buen poder de retención de humedad, abundante contenido de nutrientes, garantizado por un alto porcentaje de materia orgánica en diferentes estados de descomposición, buena aireación en el suelo o capa donde se desarrollan las raíces (Hernández, 2004).

De acuerdo al Departamento de Agricultura, Silvicultura y Pesca en la República de Sudáfrica (2013), el anturio puede soportar suelos franco arenosos a suelos arcillosos.

3.5 Usos

Las flores de corte juegan un rol importante dentro del mercado mundial; por la gran demanda que existe en el mundo, son una considerable fuente de ingreso: en esta gama de plantas se pueden encontrar plantas tropicales exóticas como el ave del paraíso, las orquídeas, las heliconias y el anturio, este último es uno de los géneros más grandes de la familia Aráceas con más de 600 especies, y su belleza y variedad lo hacen una planta verdaderamente versátil (Hernández, 2004). De ser producida y presentada al mercado en cantidades elevadas y condiciones o calidades apropiadas, esta flor constituirá un sólido renglón, debido a su extraordinario porte, bellos colores y sobresaliente durabilidad, condiciones todas éstas que le proporcionan al tallo valor floristero y ornamental; asimismo, el *Anthurium* presenta indiscutible calidad como planta ornamental, de insuperables cualidades para la decoración de interiores, al poseer amplia adaptabilidad a las condiciones de aquellos, elegante porte y bellas formas y colores, tanto en sus flores como en sus tallos y hojas. La flor se utiliza principalmente en arreglos florales destinados al mercado de regalos. En los países más cálidos y debido a su amplia durabilidad, el *Anthurium* se usa con frecuencia para funerales. Algunos indicios del mercado indican que las actitudes del consumidor y de los floristas están

cambiando, y que hoy en día, el Anthurium es un producto elegante y muy moderno (Hernández, 2004).

3.6 Producción

El mayor productor de flores de anturio en el mundo es Holanda y Hawái. En la actualidad Hawái cuenta con 120 Ha., Holanda con 70 Ha, Islas Mauricio 71 Ha, el área del Caribe 85 Ha. y Filipinas con 15 Ha. Siendo Holanda el principal productor de flor con 28 millones de unidades anuales seguido por Hawái, 12 millones, Islas Mauricio, 8,8 millones Jamaica 2,3 millones y Filipinas con 2 millones de tallos anuales. En la actualidad existen 361 ha productoras que abastecen de flor a todo el mundo. Estos datos permiten confirmar que es un cultivo que no necesita grandes extensiones de tierra, pero si un alto costo en infraestructura. Siendo necesario utilizar invernaderos, ya que las producciones de algunos países europeos encuentran problemas con el manejo de esta flor debido a su gran sensibilidad al frío (Parrado *et al.*, 2012). En México, el censo agropecuario de 1991 realizado por el Instituto Nacional de Geografía Estadística e Informática, INEGI indicó que la producción es de 7,350 plantas en nueve viveros ubicados en los estados de Jalisco, Michoacán, Morelos, Puebla, y Veracruz; no se menciona la producción de flor (González *et al.*, 2002). En México no se cuentan con estadísticas oficiales de la producción de anturio (SIAP, 2013); sin embargo, se señala en el cierre de producción agrícola por cultivo 2013, que al anturio se siembra en una superficie de 0.16 ha, con una producción de 106.8 Ton, un rendimiento de 668 Ton/ha y un valor en la producción de 145.34 mil pesos (SIAP, 2015). Murguía *et al.* (2000) indica que solo en el estado de Veracruz se tienen 10 hectáreas, repartidas en pequeñas unidades de producción en su mayoría familiares y de baja escala de tecnificación. Los altos costos de malla sombra y plantas son los que han limitado la extensión del cultivo. (García *et al.*, 2014).

Hernández, 2012, señala que existen plantaciones importantes del cultivo de anturio en Chiapas, Michoacán, Colima, Morelos, Querétaro y Coahuila. Siendo algunas entidades potenciales para este cultivo: Campeche, Guerrero, Oaxaca, Quintana Roo, Tabasco y Yucatán.

3.7 Problemas fitosanitarios

Debido a que el anturio es una planta atractiva, duradera, popular y exótica ya sea como cultivo de flor cortada o cultivo en maceta, es importante identificar y controlar plagas y enfermedades que perjudiquen a este cultivo. El anturio es muy susceptible a enfermedades causadas por bacterias y hongos que pueden limitar seriamente su producción comercial (Norman *et al.*, 2012). Las plagas y enfermedades aparecen especialmente debido al ambiente de bastante humedad, del medio de cultivo y la aglomeración de las plantas (Universidad de Puerto Rico, 1979). La espata del anturio es muy delicada y cualquier daño, por más insignificante que sea, le resta valor comercial. Bonilla, 2013, aclara, que “De cada 3 docenas de flores que se corten, sólo se obtiene una docena de flores de primera clase, tipo exportación”, el resto sirve para mercado local y a bajo precio. Esto es debido principalmente a pequeños daños causados por insectos. Es importante si se busca calidad de exportación, tener un magnifico control de insectos y enfermedades, que puedan deteriorar la flor (Bonilla, 2013).

3.8 Insectos plaga

3.8.1 Trips

Los trips son insectos diminutos de menos de 1 mm de longitud y de color amarillo grisáceo (Hernández, *et al.*, 2012). De acuerdo a García 2010, y Hernández 2010, las principales especies que afectan al cultivo son *Frankliniella occidentalis*, *Chaetanaphothrips orchidii* y *C. signipennis*.

3.8.1.1 Daño

Atacan hojas y espatas durante las fases iniciales del crecimiento, ya que cuando estos órganos se encuentran en diferenciación sus tejidos son lo suficientemente succulentos para que los trips causen lesiones con su aparato bucal raspador y succionan la savia de los tejidos dañados. El síntoma final del daño por trips se observa como un rayado

blanco o café claro, tanto en hojas como espatas, dejando con ello las flores totalmente inservibles y las hojas deformadas (Hernández, *et al.*, 2012).

Se menciona que sus picaduras al succionar la savia producen manchas marrones y necrosis en hojas y flores devaluándolas comercialmente (García, 2010).

3.8.1.2 Biología

Invaden el capullo sin abrir, posteriormente al brote floral emergen de las estipulas. Su ciclo de vida consiste en huevo, dos estadios larvales, prepupa, pupa y adulto. Los huevos son ovipositados en la superficie de la espata y eclosionan en unos 8 días. Las ninfas emergentes son de color amarillo y se alimentan dentro de la yema en desarrollo. Ninfas de segundo instar migran fuera de la planta y pupa en el sustrato y residuos de plantas. Los adultos miden alrededor de 1.5 pulgadas de largo y son de color amarillo con las alas bandeadas. El tiempo de desarrollo de huevo a adulto es de unos 27 días (Higaki, *et al.*, 1995).

3.8.1.3 Manejo

Para su detección se utilizan placas cromáticas de color azul. Para su control biológico se pueden utilizar *Amblyseius cucumeris*, *Ambliseius swirskii*, *Orius laevigatus*, y *Hypoaspis miles*; con estos enemigos naturales se ejerce control de las fases que se desarrollan en el sustrato. Para su control químico debemos alternar diferentes materias activas tales como formetanato, spinosad, metiocarb, etc (García, 2010). Debe evitarse el crecimiento de maleza hasta donde sea posible, esto como una manera de controlar las poblaciones de trips (Bonilla 2013).

3.8.2 Ácaros

García, 2010 menciona a *Tetranychus urticae* y *Polyphagotarsonemus latus* como especies de ácaros que dañan al cultivo de anturio. Mientras Higaki, *et al.*, 1995 menciona a *Brevipalpus phoenicis* conocido como el ácaro rojinegro, como la principal plaga de ácaros en anturio.

3.8.2.1 Daño

Cuando se produce un ataque de araña al principio se pueden apreciar unos punteados decolorados, mates y unas manchas amarillas que posteriormente pueden afectar a toda la hoja la cual se abarquilla, se seca y puede llegar a caerse (García, 2010).

Las hojas afectadas presentan una zona amarillenta en el haz que se corresponde con la existencia de colonias de esta plaga en el envés de la hoja. Si el ataque es fuerte puede afectar a las flores en forma de manchas marrones en las espatas, formándose telarañas que cubren la planta y pudiendo ocasionar la defoliación de la planta. Sus ataques se ven favorecidos por ambientes cálidos y secos (García, 2010). Viven y se alimentan en el envés de las hojas jóvenes, en desarrollo, causando la detención del mismo y el enrollamiento de las mismas (Murguía, 2007).

3.8.2.2 Biología

El estado biológico de *Brevipalpus phoenicis* incluye huevo, larva, ninfa, y adulto. Los huevos son ovales, de color rojo brillante, y normalmente se encuentran en ambas superficies de las hojas. La larva mide cerca de 1/200 pulgadas de largo de color rojo brillante, con seis patas. La ninfa tiene ocho patas y son mas largas que la larva. El adulto es rojo y mide cerca de 1/100 pulgadas de largo. El tiempo de desarrollo del huevo a adulto es de 29 días. Ampliamente distribuidos, presentes en todos los continentes. Otros hospedantes son crisantemo, café, cítricos, hibiscus, mango, orquídeas, papaya (Higaki, *et al.*, 1995).

3.8.2.3 Manejo

Es importante controlar los primeros ataques antes de que la plaga se extienda. Para su control químico se realizan aplicaciones a base de abamectina, dicofol, clofentezin, fembutestan, etc. Pero teniendo la precaución de ir alternando los diferentes ingredientes activos para evitar resistencias y siempre haciendo una prueba previa, ya que algunas de estos ingredientes activos pueden resultar fitotóxicos para el cultivo. También se puede realizar un control biológico con enemigos naturales tales como *Amblyseius californicus*

y *Phytoseiulus persimilis* (García, 2010). Higaki, *et al.*, 1995, menciona que se debe de realizar de dos a tres aplicaciones de acaricidas registrados en intervalos de dos semanas. Las aplicaciones dirigidas a las partes inferiores de las hojas y flores.

3.8.3 Homópteros

Diversos insectos del orden de los homópteros, entre los que se encuentran los pulgones y las escamas, llegan a ser un fuerte problema en algunos lugares donde se cultiva el anturio (Hernández, *et al.*, 2012).

3.8.3.1 Daño

Los pulgones (*Myzus persicae*, *Neomyzus circumflexus*) producen manchas verdosas sobre las hojas y excretan una sustancia melosa que permite el desarrollo de fumaginas, las que decoloran hojas y espatas (Hernández, *et al.*, 2012). Son insectos diminutos de color verde claro que atacan en el período de lluvias en las hojas, brotes tiernos y botones florales succionando la savia e inyectando toxinas. Los brotes y botones se deforman y en el caso de estos últimos, la apertura de la flor se dificulta y no abre bien. También pueden ser transmisores de enfermedades, especialmente virus. Estos se presentan en las hojas jóvenes y causan retorcimiento y pérdida del vigor de la planta, cuando el daño es por pulgones aparecen puntos de colores claro o blanquecino (Murguía, 2007).

Las escamas (*Coccus hesperidum*) son insectos que poseen una concha café esférica y que se establecen sobre el tallo, pecíolo y envés de hojas y espatas (Hernández, *et al.*, 2012). Según Bonilla, 2013, las escamas parecen costras de color gris amarillo.

Ambos, pulgones y escamas, succionan la savia de las plantas, causando una severa reducción en el vigor de las mismas, lo que a su vez se traduce en una disminución de la producción y calidad de la flor (Hernández, *et al.*, 2012)

3.8.3.2 Biología

Myzus persicae tiene adultos ápteros y alados, en ambos casos tienen un tamaño de 1,8 - 2.5 mm. En los primeros, el cuerpo es de color rosado oscuro, cremoso, amarillento, verde claro o casi incoloro. Presentan tubérculos antenales desarrollados y convergentes, y antenas del mismo tamaño del cuerpo. El abdomen es del mismo color del cuerpo, con una mancha característica. Presentan cornículos o sifones del mismo color del cuerpo, con las puntas más oscuras y ligeramente hinchados en la parte distal (SENASA, 2015).

La cauda es corta y puntiaguda. Los adultos alados tienen cabeza y tórax negro y el abdomen, de color verde, presenta una mancha negra central. Las ninfas son siempre amarillentas (SENASA, 2015).

La hembra adulta de *Coccus hesperidum* es de color castaño, cuerpo ovalado y convexo y mide aproximadamente 4 mm, puede desplazarse. Pasa dos estados larvales. La hembra pone de 50 a 250 huevos, en consonancia con su talla y su longevidad. La puesta de huevos varía entre diez días y dos meses, conforme a las condiciones microclimáticas. Durante todo este tiempo, la cochinilla se está nutriendo y la calidad de su alimento influye considerablemente en la fecundidad total. La ingestión de fotosintatos está correlacionada con el ritmo de la puesta de huevos (SENASA, 2015).

3.8.3.3 Manejo

Lont, *et al.*, 2007, recomienda aplicar imidacloprid 70% (10 g por cada 100 litros de agua) y pirimicarb al 50% (50 g por cada 100 litros de agua) para controlar las poblaciones de pulgones. De acuerdo a Murguía, 2007, el té de tabaco los puede controlar. Bonilla, 2013, recomienda aplicar Parathion para controlar escamas.

3.8.4 Fungus gnat

Hernández, *et al.*, 2012 menciona a *Plastosciara pernicioso* como agente causal del fungus gnat.

3.8.4.1 Daño

El daño es causado por las larvas que se alimentan de raíces tanto terrestres como aéreas del anturio, de las hojas que están en contacto con el suelo así como del tejido del tallo. Debido al tipo de daño, la presencia del fungus gnat es asociada con enfermedades de la raíz. Los adultos no causan daño directo pero son causa de molestias para el consumidor, pues una vez que emergen los adultos estos vuelan alrededor de los lugares en donde se encuentran las flores (Hernández, *et al.*, 2012).

3.8.4.2 Biología

Son pequeñas moscas negras que frecuentemente se observan en las hojas o en el suelo. Los adultos poseen largas antenas y se mueven rápidamente. Las larvas son pequeñas, sin patas, con cabeza negra y cuerpos claros. Habitan en el suelo y tejen telarañas (Hernández, *et al.*, 2012).

Las hembras ponen los huevos diminutos en restos orgánicos húmedos o tierra para macetas. Las larvas pueden dejar rastros de alguna sustancia mucilaginosa sobre la superficie del sustrato que dan apariencia como de rastros hechos por caracoles. El fungus gnat pasa por cuatro etapas durante todo su desarrollo: huevo, larva (con cuatro estadíos larvarios), pupa y adulto. Los huevos y pupas crecen en medios orgánicos. Los huevos eclosionan en tres días, la larva se convierte aproximadamente en pupa en diez días y cuatro días después, los adultos emergen (UC, 2015).

3.8.4.3 Control

La mayor parte del ciclo de vida, la mosquita negra se la pasa como larva y pupa permaneciendo en la materia orgánica o en el suelo, por lo que los métodos de control más eficaces se dirigen a estos estados inmaduros en lugar de tratar de controlar directamente a los adultos. Principalmente los métodos culturales, como reducir el exceso de humedad y la destrucción de restos orgánicos. Agentes de control biológico disponibles en el mercado y de origen natural también pueden controlar esta plaga. Los

insecticidas se consideran una opción de control importante en la parte de la producción comercial de plantas (UC, 2015).

3.8.5 Mosquita blanca

Se trata de *Trialeurodes vaporariorum* y de *Bemisia tabaci* (García, 2010). Hernández, *et al.*, 2012, menciona a *Aleurotulus anthuricola* como plaga en anturio.

3.8.5.1 Daño

Succionan los contenidos celulares lo que provoca decoloraciones de las hojas. También segregan melaza, lo que ocasiona la proliferación de hongos como la negrilla (García, 2010).

Se identifica por las secreciones serosas y polvorientas, las pupas oscuras en el envés de las hojas. En infestaciones severas puede encontrarse también en las espatas (Hernández, *et al.*, 2012).

3.8.5.2 Biología

Su ciclo de vida incluye huevo, ninfa, pupa y adulto. Los huevos son de color blanco opaco a crema y se depositan en una posición vertical. Las ninfas son casi transparentes y secretan un material blanco, ceroso. Las pupas, son de color negro y ovalado, también secretan una sustancia blanca y cerosa. Las moscas adultas tienen alas blancas y el cuerpo color amarillo menores a 1/25 pulgadas de largo. El tiempo de desarrollo huevo a adulto es de unos 35 días (Higaki, *et al.*, 1995).

3.8.5.3 Control

Su control biológico se puede realizar con *Eretmocerus mundus* y *Eretmocerus eremicus* y *Encarsia formosa*. Para su control químico se pueden usar metomilo, imidacloprid, buprofezín, etc (García, 2010).

3.9 Otras plagas

Además de las plagas anteriormente mencionadas, existen otras que también afectan a este cultivo, entre ellas se encuentran, caracoles, lepidópteros (Hernández, *et al.*, 2012), y cochinillas (Murguía, 2007).

3.10 Nemátodos

De acuerdo a Hernández, *et al.*, 2012, el causante principal de esta enfermedad es *Radopholus similis*.

3.10.1 Daño

Con su estilete el nemátodo penetra la pared celular, chupando y destruyendo las células. El daño causado se manifiesta en lesiones ovaladas de coloración marrón-negro, este tipo de daños facilitan la penetración de oomicetos como *Pythium* y *Phytophthora* (Hernández, *et al.*, 2012).

Uchida, *et al.*, 2003 señala como síntomas causados por este nemátodo como una pudrición y disminución de raíces. Las pudriciones de la raíz de *Anthurium* causada por *R. similis* son de color marrón o marrón oscuro a negro. Estas pudriciones se desarrollan de forma relativamente lenta. La destrucción constante y progresiva del sistema radicular suele causar una disminución de desarrollo de la planta a partir del segundo al cuarto año. Se presenta hojas amarillas y pueden tener otros síntomas como una deficiencia de nutrientes. Las plantas se tornan más pequeñas y pierden vigor, produciendo menor número de flores y más pequeñas.

3.10.2 Biología

Su ciclo vital se desarrolla por completo dentro de las raíces de la planta (Hernández, *et al.*, 2012). El nemátodo barrenador emerge del huevo y madura en 18-20 días. Una hembra típica puede producir hasta 100 huevos durante su vida. El juvenil y los adultos tienen un órgano en forma de lanza llamada “estilete” que les sirve para su alimentación. Estos nemátodos son patógenos obligados y deben alimentarse de tejido vivo. Por lo

tanto, cuando las plantas son infectadas por primera vez, la abundancia de tejido sano ofrece una amplia fuente de alimento para el crecimiento y la reproducción del nemátodo. A medida que la planta se consume o se va pudriendo, la población de nemátodos aumenta y el alimento comienza a ser escaso. Por lo que los nemátodos empiezan a migrar dentro y fuera de la planta (Uchida, *et al.*, 2003).

3.10.3 Control

Por años, la industria de anturio ha usado fenamifos (Nemacur[®]) para controlar al nemátodo barrenador. Aplicaciones con este producto en cultivos dañados por *R. similis* se mejora en un 50% la producción de flores. Sin embargo, esto representa gastos extras para el agricultor, además Nemacur[®] esta por desaparecer en algunos años debido a la cancelación de su matrícula (Uchida, *et al.*, 2003)

3.11 Virus

3.11.1 Daño

Otros de los problemas que se pueden suscitar en el cultivo del anturio son las virosis de las que destacan por su importancia la causada por el virus de la marchitez manchada del jitomate (TSWV), transmitido por *Frankliniella occidentales* (García, 2010). Murguía, 2007 menciona que el mosaico es una enfermedad causada por un virus que se manifiesta en un achaparramiento, retorcimiento y deformación de las nervaduras de las hojas. Las espatas se decoloran y arrugan. El virus, quizá es transmitido por la mosquita blanca *Bemisia tabaci*.

3.11.2 Control

Las infecciones virales ocurren sistémicamente. No existen productos para su control, por lo que la recomendación es utilizar material vegetal proveniente de cultivo de tejidos, a fin de garantizar la ausencia de la enfermedad. El control de pulgones y mosquita blanca son también una práctica recomendable, éstos pueden ser vectores de

virus. En caso de que se presente la enfermedad, las plantas que muestren lo síntomas deben ser aisladas y quemadas (Hernández, *et al.*, 2012).

3.12 Enfermedades causadas por bacterias

3.12.1 Tizón bacteriano

Es causado por la bacteria *Xanthomonas campestris* pv. *dieffenbachiae*, fue reportada por primera vez en Brazil, en 1960 y en Hawaii en 1971 (Higaki, *et al.*, 1995).

3.12.1.1 Daños

Los síntomas foliares no sistémicos usualmente comienzan en los márgenes de las hojas donde los hidátodos se localizan. Los primeros síntomas son manchas pequeñas, dispersas, de forma irregular y manchas acuosas que son más pronunciadas en la parte inferior de las hojas. El tejido que rodea a las manchas se vuelve amarillo y muere, por lo general una mancha color brillante separa al tejido vivo del tejido muerto. Una vez sistémica, la bacteria se dispersa a toda la planta. Un síntoma característico de la infección sistémica es la decoloración del sistema vascular (Higaki, *et al.*, 1995). Los primeros síntomas de la presencia de esta bacteria aparecen en el borde de las hojas y en las espatas, en forma de pequeñas manchas acuosas, primeramente translúcidas amarillentas para posteriormente tornarse a un color marrón en el centro y amarillento en los bordes. Estas pequeñas manchas se unen formando zonas necróticas grandes en el borde de las hojas y pudiendo afectar a toda la hoja. La bacteria puede invadir los tejidos vasculares finos de los pecíolos y de los tallos impidiendo el desplazamiento de alimentos y agua a través de la planta, motivo por el cual las hojas amarillean y las flores son de color pálido. Los tallos afectados se vuelven de color marrón oscuro y se produce la muerte de la planta (García, 2010).

3.12.1.2 Biología

Xanthomonas campestris pv. *dieffenbachiae* es una bacteria móvil, con un solo flagelo polar, en forma de varilla, aeróbica, Gram-negativa, que mide 0,3-0,4 x 1,0-1,5 nm

(EPPO, 2015). Se ha encontrado en todas las plantas que pertenecen a la familia Araceae. La bacteria no puede sobrevivir fuera de la planta por mucho tiempo. Los medios más importantes de diseminación son: salpicadura de lluvia, agua de riego, herramientas contaminadas, y prácticas culturales como las podas. Se propaga por material vegetal infectado, por trabajadores, y se mueve a través del suelo, por medio del calzado, vehículos, herramientas y otros equipos (Higaki, *et al.*, 1995).

3.12.1.3 Control

El tizón bacteriano es una enfermedad difícil de controlar debido a que es causado por una bacteria sistémica. Prevenir la introducción de la bacteria a través de material propagativo, herramientas, trabajadores y otros equipos evitan la diseminación de la misma. Si la enfermedad se llega a presentar en el cultivo, debe hacerse todo lo posible por evitar su diseminación a otros cultivos. Esto involucra la remoción de plantas con síntomas foliares y síntomas sistémicos. Estas plantas removidas deben ser quemadas o enterradas. Las replantaciones hechas por secciones son ideales para invernaderos pequeños, de esta manera es más manejable de implementar medidas de control y así aislar las nuevas plantaciones de focos de infección activa. Utilizar material vegetal libre de la enfermedad es esencial (Higaki, *et al.*, 1995).

Trabajar de lotes no infectados a lotes infectados y no alrevés, no colocar anturios cerca de plantas afines como *Aglaonema*, *Philodendron*, *Caladium* y *Spathiphyllum*; dado que al pertenecer a la misma familia botánica, también son susceptibles al patógeno (Hernández, *et al.*, 2012). Los antibióticos no son recomendados como parte de una rutina de control, debido a que la estreptomycin y oxitetraciclina no eliminan por completo a la bacteria, y además en dosis normal causa una rápida resistencia, volviéndose un gran problema. Las herramientas de trabajo deben desinfestarse lo más continuo posible (Higaki, *et al.*, 1995).

3.12.2 Pudrición blanda

Hernández, *et al.*, 2012, señala a *Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*, como el agente causal de la pudrición blanda en anturio.

3.12.2.1 Daño

Los síntomas aparecen en la base del tallo como una lesión blanda y húmeda. El tejido se colapsa rápidamente, tornándose oscuro y maloliente. El ataque es más severo bajo condiciones cálidas y de alta humedad (Hernández, *et al.*, 2012). Esta bacteria entra a través de heridas, causando una pudrición suave acuosa, olor fuerte y desagradable (Murguía, 2007). Afecta principalmente a plantas jóvenes y se manifiesta por la coloración amarilla de la hoja que comienza en la base del tallo y se extiende por los nervios principales (García, 2010).

3.12.2.2 Biología

La pudrición se disemina rápidamente en las hojas, raíces y mas lentamente en el rizoma y pseudobulbo (Murguía, 2007).

3.12.2.3 Control

Para el control, se sugiere desinfectar herramientas y asperjar estreptomicina con sulfato de cobre y terramicina, en caso de que avance la enfermedad, se deberán destruir las plantas (Murguía, 2007).

3.12.3 *Pseudomonas* spp.

Sus síntomas se manifiestan como manchas negras con el filo amarillo que se producen generalmente al lado de los nervios y a veces limitadas por estos (García, 2010).

3.13 Enfermedades causadas por hongos

3.13.1 Antracnosis

La antracnosis es causada por el hongo *Colletotrichum gloesporoides*, y es una causa para rechazar la entrada de flores a Hawaii (Higaki, *et al.*, 1995).

3.13.1.1 Daños

Colletotrichum gloesporoides es común en ornamentales, frutas, y hortalizas, cultivos que crecen en áreas tropicales y subtropicales (Higaki, *et al.*, 1995). Enfermedad provocada por el hongo *Colletotrichum gloesporoides*, la cual comienza con pequeños puntitos oscuros producidos por el hongo; son negros y circulares, se expanden en forma triangular o poligonal sobre la hoja y van acompañados de una mancha café con la orilla amarilla; el daño puede presentarse también en los espádices mediante puntos que se extienden y necrosan a éstos y a la espata (Murguía, 2007). De acuerdo a Bonilla, 2013, los síntomas de antracnosis aparecen como manchas en las hojas que luego se tornan de color pajizo y se secan parcialmente. García, 2010 menciona que en circunstancias de exceso de humedad se observan manchas negras en las hojas, mientras que si el ambiente es seco se producen manchas húmedas de color marrón en el borde de las hojas. De acuerdo a Hernández, *et al.*, 2012, la enfermedad también se puede desarrollar en el follaje, aunque quizás este síntoma sea causado por una especie distinta a *gloesporoides*. En caso de que el follaje sea afectado, se notarán lesiones circulares o irregulares de una coloración café oscuro, rodeadas de un halo amarillento.

3.13.1.2 Biología

Las condiciones que favorecen la presencia del hongo son la alta humedad relativa y temperaturas cálidas, por lo que la enfermedad puede presentarse durante todo el año, ya que estas condiciones son las mismas que se necesitan para el desarrollo del cultivo (Hernández, *et al.*, 2012).

3.13.1.3 Control

Con fungicidas se logra un buen control de la enfermedad, pero se depositan restos de los mismos sobre las flores y el follaje, lo que desmerita la calidad de las flores y plantas (Hernández, *et al.*, 2012). Bonilla, 2013, recomienda aplicar Benlate de 20 a 30 g por 100 litros de agua. El hongo *Colletotrichum* produce miles de pequeñas esporas que fácilmente se pueden mover por las salpicaduras de agua, el movimiento del aire, y por el hombre. Por lo que un programa estricto de saneamiento es crucial para controlar la

propagación de este patógeno en una planta de producción (Norman, *et al.*, 2012). Los fungicidas como mancozeb son eficaces. Sin embargo, los fungicidas aplicados son generalmente descartados debido a los residuos en flores y plantas, por lo que disminuyen las posibilidades de comercialización. Algunos programas de mejoramiento genético en plantas de anturio se han implementado en Hawaii y Florida, con resistencia a diversas enfermedades (Norman, *et al.*, 2012).

3.13.2 Pudrición de la raíz

La presencia de *Phytophthora* y *Pythium* es un problema bastante común en plantaciones de anturio que tienen varios años de edad (Hernández, *et al.*, 2012). De acuerdo a Norman, *et al.*, 2012, las especies que dañan al cultivo de anturio son *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica* y *Pythium splendens*. Higaki, *et al.*, 1995, menciona que la enfermedad conocida como pudrición de la raíz (root rot) es común en anturios que son cultivados en camas o contenedores; diversos hongos pueden estar presentes en esta enfermedad, dañando y pudriendo raíces, tales como *Pythium splendens*, *Calonectria crotalariae*, *Rhizoctonia* sp., *Phytophthora* sp., *Pythium* spp., y *Fusarium* sp.

3.13.2 .1Daño

Al inicio de la infección, en las raíces pueden observarse pequeñas lesiones húmedas con una coloración grisácea o café. Estas lesiones pueden crecer rápidamente y afectar todo el sistema radical. Las raíces infectadas se tornan negras y pegajosas, con la corteza fácilmente separable del cilindro central. En estados avanzados las raíces se encuentran totalmente podridas. En las hojas inferiores se presenta un amarillamiento marginal y necrosis, acompañada de una reducción en el tamaño de las plantas, desarrollo de menos hojas y flores. Las flores y hojas que llegan a formarse son de un tamaño reducido (Hernández, *et al.*, 2012). De acuerdo a Murguía, 2007, la enfermedad es provocada por el nemátodo *Radopholus similis*. Se presenta más cuando los medios envejecidos y descompuestos impiden un apropiado drenaje y una buena aireación de las raíces. De acuerdo a García, 2010, los síntomas causados por *Phytophthora* y *Pythium* se

manifiestan en que los bordes de las hojas amarillean, deteriorándose rápidamente, mientras el centro continua intacto; posteriormente las hojas cuelgan lánguidamente y se vuelven quebradizas. Las plantas infectadas con cualquiera de estos patógenos exhiben marchitamiento, amarillamiento de las hojas (clorosis), y muerte regresiva de la raíz. Estos síntomas son similares a los causados por *Rhizoctonia*, sin embargo crecimiento micelial se llega a observar con infecciones causadas por *Phytophthora* y *Pythium* (Norma, *et al.*, 2012). Higaki, *et al.*, 1995, menciona que las raíces pueden llegar a tener un olor fuerte, como resultado de la descomposición causada por la invasión secundaria de bacterias.

3.13.2 .2Biología

Esta enfermedad causada por *Phytophthora* y *Pythium*, es frecuente también en plantaciones establecidas sobre sustratos orgánicos debido a que este tipo de sustratos al descomponerse disminuyen su aireación, favoreciendo este exceso de humedad y el desarrollo de los hongos ya mencionados (Hernández, *et al.*, 2012). Las raíces también están predispuestas a la descomposición como resultado de daños por fertilizante, dosis excesivas de plaguicidas y por el nemátodo barrenador (*R. similis*) (Higaki, *et al.*, 1995).

3.13.2 .3Control

El control de esta enfermedad se puede realizar con aplicaciones a base de oxamilo, fosetil aluminio, etc (García, 2010). Utilizar suelos bien drenados, plantas libres de enfermedades. Las plantas con síntomas de la enfermedad deben ser eliminadas y el resto de las plantas sanas deben ser tratadas con un fungicida. Si se vuelven a utilizar los contenedores para macetas, deben ser lavados y esterilizados. Herramientas como tijeras y cuchillos deben ser sumergidos en un desinfectante apropiado (Norman, *et al.*, 2012). Un método de control es asegurarse que el nemátodo barrenador no cause la pudrición de la raíz. Realizar una evaluación completa de todas las prácticas culturales. Asegúrese de que el drenaje es bueno y que el sustrato utilizado no retenga excesiva humedad. Revisar los niveles de pH del suelo o sustrato, y utilizar fungicidas que estén registrados

para su aplicación en anturio, sin embargo, el control más eficaz se lleva a través de las prácticas culturales (Higaki, *et al.*, 1995).

García, 2010, también menciona que otros hongos que en menor medida pueden afectar al cultivo del anturio son *Botrytis cinerea*, *Cylindrocarpom destructans*, *Fusarium* spp., *Rhizoctonia* spp., etc.

3.13.3 Marchitez

Provocada por *Fusarium* sp. Este hongo puede transmitirse por material enfermo o desarrollarse en sustratos mal drenados, la enfermedad es lenta y las plantas manifiestan síntomas de amarillamiento en hojas, necrosis, pudrición interna del tallo, pudrición de raíz y muerte de la planta (Murguía, 2007).

3.13.4 Septoria

Causada por el hongo *Septoria anthurii*, produce manchas irregulares de color gris pardo, con el centro muerto de color marrón y con los bordes amarillos. Su control químico se puede llevar a cabo con captan, clortalonil (preventivo), etc (García, 2010).

3.14 Malezas

Bonilla, 2013, menciona las siguientes malezas presentes en el cultivo de anturio: gramíneas (*Panicum zizanioides*, *Paspalum* sp., Paja de perro), helechos (*Pteris* spp.), coquillo (*Cyperus* spp.), hoja ancha como *Mimosa* spp. (adormidera), *Desmodium* spp (amor seco), *Malvastrum* spp. (malvas), *Gallinsoga parviflora* (guascas).

3.14.1 Daño

Es muy importante mantener surcos y caminos limpios de toda clase de malezas. Estas roban nutrientes, humedad y espacio vital y dan albergue a plagas (Bonilla, 2013).

3.14.2 Control

La eliminación de las malezas es mediante deshierbes, los cuales deben ser manuales y constantes. Esto es con el objetivo de no dañar las raíces, ya que éstas son muy carnosas

y superficiales, por lo que al provocar heridas se pueden tener daños por patógenos. Por esta razón, no se recomienda usar azadón u otras herramientas cortantes. El diurón es el herbicida más usado en Hawai'i debido al control aceptable que se tiene de malezas. Sin embargo, se ha indicado que el uso de diurón para el control de malezas en anturio, incrementa enormemente la pudrición de raíz causada por diferentes especies del género *Pythium*. Se piensa que esto se debe principalmente a un incremento en la susceptibilidad de las plantas hospederas y que el uso regular de herbicidas en el cultivo puede estar relacionado con la dispersión de la enfermedad (Hernández, *et al.*, 2012). Bonilla, 2013 menciona que se deben hacer deshierbes periódicos hechos a mano ya que no se tiene conocimiento de herbicidas específicos para anturio. Los deshierbes deben ser mensuales y una de las mejores prácticas culturales consiste en no dejar semillar las malezas dentro del cultivo.

3.15 Diagnóstico e identificación de hongos fitopatógenos

Todos los países de América Latina y el Caribe están sometidos en mayor o menor grado a un proceso de modernización que, en materia agrícola, les permita ingresar al comercio internacional sus productos. La gran mayoría de enfermedades requieren para su diagnóstico de la identificación precisa del patógeno (o patógenos) que las causa, bien sea porque los síntomas que inducen sean tan variables o imprecisos que den lugar a confusión, o porque diferentes patógenos causen un síntoma similar en la misma especie vegetal. Actualmente existen técnicas que permiten identificar prácticamente a todos los organismos patógenos de las plantas; muchas son muy sencillas, otras lo son menos, pero algunas son tan complicadas que requieren ser realizadas por verdaderos especialistas. Muchos de los fitopatógenos pueden ser cultivados en medios artificiales, lo que facilita mucho el diagnóstico de las enfermedades. Para determinar el agente causal de una enfermedad en particular, no es suficiente haber aislado a un organismo patógeno de los tejidos afectados, sino que debe demostrarse que dicho organismo está involucrado, total o parcialmente, en dicha enfermedad, sobre todo en el caso de enfermedades poco comunes, desconocidas, de etiología incierta, o cuando se sospeche que son causadas por más de un patógeno. Para esto es obligatorio realizar los

postulados de Koch, que permiten establecer sin lugar a dudas la relación patógeno-enfermedad (Sosa, *et al.*, 1997). Un diagnóstico oportuno detecta el agente causal de un evento patológico y es fundamental para el manejo del problema. Genera medidas de control efectivas, optimización de los recursos, reducción de los efectos negativos en el medio ambiente y a la vez origina información respecto a la interacción patógeno hospedante. Al realizar un diagnóstico debe asegurarse de tener un cuadro amplio del caso particular que está analizando y considerar otros factores como, la historia del lugar y el patrón de daño causado por la enfermedad o plaga. En años pasados, básicamente la detección de patógenos dependía de métodos que requieren de mucha experiencia, habilidad y conocimiento de la taxonomía de los microorganismos. Además son técnicas que consumen mucho tiempo. Sin embargo las técnicas modernas han permitido una detección más eficiente de variedades patogénicas con mayor rapidez y precisión, ejemplo de ello tenemos el uso de técnicas serológicas (ELISA) y moleculares (PCR) (Macias, *et al.*, 2006)

3.16 Postulados de Koch

Los postulados de Koch exigen que el organismo sospechoso se encuentre permanentemente asociado con la enfermedad en cuestión; que sea aislado, cultivado y purificado para poder ser inoculado en plantas susceptibles; que se reproduzcan los síntomas de la enfermedad en las plantas inoculadas artificialmente, y que pueda ser nuevamente aislado del mismo organismo patógeno de los tejidos enfermos (Sosa, *et al.*, 1997).

Para determinar la patogenicidad y la etiología de un patógeno comúnmente es necesario aplicar los postulados de Koch, los cuales permiten identificar de forma rápida utilizando hospedantes sanos de la misma especie el agente causal que esta causando afectaciones fisiológicas a las plantas los cuales son enunciados a continuación:

- El organismo debe ser encontrado asociado con la enfermedad en todos los casos observados (Macias, *et al.*, 2006).

- El organismo patógeno debe ser aislado y cultivado *in vitro* en el laboratorio (Macias, *et al.*, 2006).
- El organismo patógeno debe ser inoculado a un hospedante sano de la misma especie o variedad en la cual aparece la enfermedad (Macias, *et al.*, 2006).
- El organismo patógeno debe ser reaislado en cultivo puro y tener las mismas características que el postulado 2 (Macias, *et al.*, 2006).

3.17 Extracción de ADN

Un punto clave en la extracción de ADN de buena calidad del micelio de hongos fitopatógenos es el crecimiento óptimo del micelio sobre un medio de cultivo. Se utiliza, generalmente, este tipo de tejido del hongo porque tiene un crecimiento más homogéneo que otros tejidos del hongo.

Las esporas, por ejemplo, son más difíciles de procesar que el micelio, porque son estructuras muy rígidas que requieren protocolos de extracción especiales; además, pertenecen, por su formación, a la etapa madura o senescente del crecimiento del hongo. Para lograr un buen crecimiento del micelio de un hongo es necesario aplicar las buenas prácticas microbiológicas (BPM), entre ellas las siguientes (Castellanos, *et al.*, 2015):

- esterilidad
- identificación correcta de las muestras
- cultivo del hongo en la fase exponencial de crecimiento

3.18 Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

La reacción en cadena de la polimerasa es una técnica *in vitro* utilizada para amplificar enzimáticamente una región determinada de ADN situada entre dos regiones de ADN cuya secuencia se conoce. Mientras que antes solo podían obtenerse cantidades mínimas de un gen específico, ahora incluso un único ejemplar de un gen puede amplificarse con

la PCR hasta un millón de ejemplares en tan solo unas pocas horas (Somma, *et al.*, 2015).

3.18.1 Principios de la PCR

La PCR se basa en el mecanismo de la replicación in vivo del ADN: el ADN bicatenario se desenrolla y pasa a ADN monocatenario, se duplica y se vuelve a enrollar. Esta técnica consiste en ciclos repetitivos de:

- Desnaturalización del ADN por fusión a temperatura elevada, a fin de convertir el ADN bicatenario en ADN monocatenario (Somma, *et al.*, 2015).
- Unión (anillamiento) de dos oligonucleótidos, utilizados como cebadores, al ADN diana (Somma, *et al.*, 2015).
- Extensión de la cadena de ADN por adición de nucleótidos a partir de los cebadores utilizando ADN polimerasa como catalizador, en presencia de iones Mg^{2+} (Somma, *et al.*, 2015).

Los oligonucleótidos consisten normalmente en secuencias relativamente cortas, que son diferentes entre sí y complementarias de los sitios de reconocimiento que flanquean el segmento de ADN diana que debe amplificarse. Las fases de desnaturalización del ADN molde, anillamiento del cebador y extensión del cebador constituyen un «ciclo» del método de amplificación por PCR. Tras cada ciclo, las hebras de ADN recién sintetizadas pueden servir de ADN molde para el ciclo siguiente. El producto principal de esta reacción exponencial es un segmento de ADN bicatenario cuyos extremos vienen definidos por los extremos 5' de los oligonucleótidos cebadores y cuya longitud viene dada por la distancia entre los cebadores (Somma, *et al.*, 2015).

Los productos de una primera ronda de amplificación efectiva son moléculas de ADN de diferentes tamaños, cuyas longitudes pueden superar la distancia entre los sitios de unión de los dos cebadores. En la segunda ronda, estas moléculas generan hebras de ADN de longitud definida que se acumulan de forma exponencial en rondas posteriores de

amplificación y constituyen los productos dominantes de la reacción (Somma, *et al.*, 2015).

3.19 Secuenciación

Inicialmente, se pensaba que la secuenciación de los ácidos nucleicos era mucho más difícil que la de las proteínas, y muy poco progreso se hizo hasta 1960. La estrategia básica de la secuenciación de ácidos nucleicos es idéntica a la que se utiliza en la secuenciación de proteínas (Necochea, *et al.*, 2004).

Ésta involucra:

- 1.- La degradación específica y el fraccionamiento de los polinucleótidos de interés a fragmentos suficientemente pequeños para ser secuenciados (Necochea, *et al.*, 2004).
- 2.- La secuenciación de los fragmentos pequeños (Necochea, *et al.*, 2004).
- 3.- El ordenamiento de los fragmentos a través de la repetición de los pasos anteriores, usando un procedimiento de degradación que produce una serie de fragmentos de polinucleótidos que traslapan el punto de corte en la primera serie (Necochea, *et al.*, 2004).

3.19.1 El método de degradación química.

En este método, un fragmento de ADN de cadena doble o sencilla se marca en los extremos 5' o 3' de una o ambas hebras con ^{32}P . Después, la muestra de ADN se divide en cuatro alícuotas y se fragmenta en cuatro reacciones químicas distintas. Posteriormente, los fragmentos de ADN generados pueden ser separados por electroforesis en cuatro carriles distintos con base en su tamaño. Conociendo el nucleótido en el que se realizaron los cortes, se puede inferir la secuencia de la molécula original. Las reacciones químicas que se utilizan para fragmentar la molécula de ADN son las siguientes (Necochea, *et al.*, 2004) :

1. Corte de las purinas. Las purinas adenina y guanina se metilan con dimetil sulfato (DMS). Después, la reacción es tratada en condiciones alcalinas; la molécula de ADN se

fragmenta en las purinas metiladas. Como resultado, se obtiene una serie de bandas oscuras que corresponden a las guaninas (las cuales se metilan 5 veces más rápido), y bandas claras que corresponden a las adeninas. Para interpretar fácilmente el patrón de bandas generadas, se puede comparar contra un tratamiento que favorezca el corte de las adeninas (Necochea, *et al.*, 2004).

2. Corte de adeninas. Esta reacción es una variación de la anterior. Las purinas metiladas se tratan inicialmente con un ácido diluido. Esto favorece el corte de las adeninas metiladas. Después de un tratamiento alcalino las guaninas también son cortadas. Este tratamiento genera una serie de bandas oscuras y claras que también corresponden a las adeninas, y las guaninas, respectivamente (Necochea, *et al.*, 2004).

3. Corte de pirimidinas. Esta reacción utiliza el reactivo hidracina, que corta las bases citosina y timina. Posteriormente, se trata con piperidina para completar la reacción (Necochea, *et al.*, 2004).

4. Corte de citosina. La presencia de NaCl 2M inhibe la reacción de hidracina con tiamina, y el tratamiento posterior con piperidina, produce solamente fragmentos que terminan en citosina. Desde que se reportó este método, no se han encontrado reactivos químicos específicos que corten las bases A o T, por lo que se utiliza la estrategia de corte. Esta estrategia permite distinguir entre los nucleótidos que se encuentran al final de cada corte y deducir la secuencia de ADN (Necochea, *et al.*, 2004).

3.19.2 El método enzimático.

El método de Sanger o enzimático se basa en el uso de la ADN polimerasa para sintetizar cadenas de ADN con una terminación específica. Con este método se generan fragmentos de ADN de todos los tamaños posibles que se puedan distinguir entre sí, por el tipo de marcaje que llevan o por la incorporación de un terminador específico. Las enzimas del tipo de la ADN polimerasa requieren de un templado de ADN de cadena sencilla, y realizan la síntesis de la hebra complementaria extendiéndola a partir de un iniciador en dirección 5' a 3'. Entre los componentes de la reacción se incluyen nucleótidos que no tienen un grupo hidroxilo en su extremo 3' (ddNTP), para poder

obtener una terminación específica en las cadenas. Una vez que el ddNTP se incorpora como el residuo terminal, evita que la cadena de ADN sintetizada continúe extendiéndose. La incorporación de los ddNTPs es al azar, de tal forma que se obtienen fragmentos de todos los tamaños posibles que terminan en un residuo específico. La estrategia es hacer cuatro reacciones diferentes de síntesis de ADN, utilizando un ddNTP distinto en cada tubo. Con la mezcla del nucleótido normal (dNTP) y su terminador (ddNTP), se pueden generar fragmentos complementarios de diferentes tamaños que terminan en el mismo nucleótido. Después, estos fragmentos se pueden separar en un gel de electroforesis con cuatro carriles distintos, para determinar la secuencia del templado. Este método tiene varias ventajas sobre el método de degradación química. Las reacciones de secuenciación del método enzimático se pueden realizar en unas horas, en cambio las del método de degradación química tardan al menos un día. Las reacciones del método de Sanger o enzimático son más “puras”, con menos contaminantes que puedan afectar la resolución del gel (Necochea, *et al.*, 2004).

3.20 Regiones ITS

Los genes de ARN ribosómico de eucariotes (conocidos como ADN ribosomal o ADN_r) se encuentran como partes de unidades repetidas que están dispuestas en tándem, situadas en los sitios cromosomales conocidos como regiones nucleolares organizadas (NORs). Cada unidad repetida consiste de una región transcrita (los cuales tienen genes de 18S, 5.8S y 26 rRNAs y los espaciadores transcritos externos como por ejemplo el ETS1 y ETS2) y una región no transcrita espaciada (NTS). En la región transcrita se encuentran espaciadores transcritos internos (ITS) ubicados a ambos lados del gen 5.8rRNA y se conocen como ITS1 e ITS2 (Sharma, *et al.*, 2015).

La región ITS es, tal vez, la región de ADN que más se ha secuenciado en los hongos. Ha sido más útil para la sistemática molecular a nivel de especie, e incluso dentro de las especies (por ejemplo, para identificar razas geográficas). Debido a su mayor grado de variación que otras regiones génicas de ADN_r (SSU y LSU), la variación entre repeticiones individuales de ADN_r a veces se puede observar dentro de regiones del ITS y regiones del IGS (Vilgalys, 2015).

3.21 Manejo de enfermedades en anturio

Es importante, si se busca la calidad de exportación, tener un magnífico control de insectos y enfermedades, que pueden deteriorar la flor (Bonilla, 2013). Chandler, 1991, señala que se debe de tener cuidado y eficiencia en el momento de aplicar productos químicos, y así evitar daño en las flores. Considerar la compatibilidad de productos antes de mezclar, ya que la incorrecta aplicación puede causar una fitotoxicidad. Menciona también que se ha reportado daños en anturio por la aplicación de diazinon, dimetoato, malation y dicofol.

Higaki, *et al.*, 1995, menciona que un Manejo Integrado de Plagas o MIP es un enfoque holístico que puede ayudar a reducir el daño de plagas a niveles económicamente aceptables maximizando el uso de tácticas de control no químicos y minimizando el uso de productos tóxicos. Tácticas de control sin el uso de agroquímicos son incluir el control cultural (variedades resistentes, podas, uso de estructuras de protección), control mecánico (exclusión por barreras, trampas), control del ambiente, control biológico, y los protocolos reglamentarios. Un MIP requiere de observaciones regulares en el campo, observaciones sobre el crecimiento de la planta, y su fisiología, y monitoreo de daños por plagas.

Se debe estar entrenado para detectar los primeros signos y síntomas de los problemas más comunes. La detección temprana de los problemas de plagas y enfermedades ayuda a tomar las precauciones necesarias antes de que el problema se vuelva grave. Esto es la clave para un programa de MIP con éxito (Higaki, *et al.*, 1995). Los Reglamentos cuarentenarios de plantas nacionales es el primer paso a seguir en el mantenimiento de plantas libres las plagas y enfermedades (Chandler, 1991).

Los productores que deseen importar material de propagación deberán solicitar permisos de importación a la autoridad necesaria encargada en cada país. El permiso será especificar las condiciones de importación. Sin embargo, no en todos los países se permite la importación de material vegetal; en otros casos solamente el uso de material vegetal *in vitro*. Algunos fungicidas que contienen azufre reaccionan fuertemente con productos químicos como el dimetoato, causando manchas en las hojas y flores en

anturio. Se aconseja asperjar sólo durante la mañana muy temprano o por la tarde-noche, ya que la planta de anturio es particularmente sensible a la fitotoxicidad durante el período de 10 a.m.-3 p.m. (Chandler, 1991).

4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.1 Localización del experimento

El experimento se llevó a cabo en el Laboratorio e Invernaderos de Micología Agrícola del Departamento de Parasitología Agrícola, en la Universidad Autónoma Chapingo.

4.2 Muestreo

Las muestras utilizadas para este trabajo, fueron obtenidas de plantas de anturio provenientes del Rancho ASTUR Heliconias en la Cuenca del Papaloapan Tuxtepec, Oaxaca. Ubicado en las coordenadas 18°05'24" de latitud Norte y 96°06'50" de latitud Oeste, a una altura de 20 metros sobre el nivel del mar. Irrigada por las aguas del Río Papaloapan, con clima cálido-húmedo. Cuenta con una temperatura alrededor de los 24.6°C y un promedio de precipitación pluvial anual de 2307.7 mm. Se realizó un muestreo dirigido (INECC-CCA, 2010) con síntomas de marchitez, clorosis y necrosis. Se colectaron 9 muestras compuestas de 3 plantas cada una, las cuales se trasladaron al Laboratorio de Micología Agrícola en la Universidad Autónoma Chapingo en bolsas de papel de estraza, cubiertas de bolsas de polipapel, con el fin de evitar su deterioro y contaminación.

4.3 Postulados de Koch

4.3.1 Aislamiento y purificación del patógeno

Se realizaron cortes de aproximadamente 1 cm de longitud en la zona de transición entre tejido enfermo y sano, de hojas, tallos y raíces de las muestras colectadas, se desinfectaron en hipoclorito de sodio (NaClO) al 3% y se enjuagaron en agua destilada estéril durante cinco minutos (Magos, *et al.*, 2010), se dejaron secar por unos segundos y se transfirieron a cajas de Petri con medio de cultivo agar agua (A-A), papa- dextrosa-agar (PDA) y medio jugo de V8 (Lozoya, 1989). Las cajas se revisaron continuamente (cada 72 horas) para observar el crecimiento del patógeno. Las cajas con buen y diferente crecimiento, se utilizaron para realizar transferencias a nuevas cajas de PDA,

A-A, y V8, con el fin de incrementar y purificar al patógeno (Lozoya, 1989). Para lo anterior, se realizaron cultivos monospóricos y puntas de hifa (Gilchrist, *et al.*, 2005).

4.3.2 Inoculación y reaislamiento

Los organismos aislados y purificados de los síntomas de las muestras de anturio se inocularon en plantas sanas de tres variedades de anturio. Se utilizaron variedades propagadas vegetativamente en cultivo *in vitro* en el Laboratorio de micropropagación *in vitro* de plantas ornamentales de FIRA (Fideicomisos Instituidos en Relación con la Agricultura) en el municipio de Tezoyuca, Estado de Morelos. Las variedades empleadas para la inoculación fueron variedad Roja Tezoyuca, variedad Blanca Tezoyuca y variedad Rosa Tezoyuca. Como fuente de inóculo, se utilizaron cinco soluciones preparadas con cada crecimiento miceliar diferente de 10 cajas de Petri/L de agua cada una; se realizó un conteo de propágulos utilizando el hematocitometro o cámara de Neubauer, para ajustar a una concentración de 10^6 propágulos / ml (Gilchrist, *et al.*, 2005), se adicionó cada micelio al agua destilada y se licuo; posteriormente se agregaron 4 mL de Tween 20.

La inoculación consistió en retirar de cada maceta las plantas con todo y raíz, se dejaron sumergidas en charolas de plástico para que sus raíces estuvieran en contacto con la solución de inóculo, durante un periodo de 24 horas. Posterior a las 24 horas, las plantas se transfirieron a sus macetas con suelo estéril. Se dejaron en condiciones de humedad relativa del 100% con ayuda de un humidificador, encendido durante las primeras horas del día durante 20 días. Se tomaron observaciones posteriores a los 20 días de la inoculación. Se obtuvieron nuevas muestras para re aislar al patógeno.

Para el re aislamiento de los patógenos, se utilizó una vez más el medio de PDA y V8, se realizaron cortes de 1 cm de longitud, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3%, se enjuagaron en agua destilada estéril y se dejaron secar. Posteriormente se colocaron en cajas con medio de cultivo. Posterior al crecimiento, se realizaron preparaciones semipermanentes con el fin de observar estructuras como conidios o esporangios. Se midieron el largo y el ancho de cada estructura con el programa Motic Images plus 2.0.

4.4 Identificación morfológica

Posterior a cada crecimiento miceliar puro, se realizaron preparaciones semipermanentes para observar sus características al microscopio (Lozoya, 1989). Las características de cada crecimiento deben corresponder a las observadas en el aislamiento y purificación anterior (Macias, *et al.*, 2006). Para la identificación de los patógenos se utilizó el manual de Leslie, *et al.*, 2006, el manual de Gallegly, *et al.*, 2008, y se utilizaron también artículos científicos como el de Sandoval, *et al.*, 2012.

4.5 Extracción de ADN

Para llevar a cabo el protocolo de extracción de ADN se utilizaron las cepas derivadas del reasilamiento que se hizo en las pruebas de patogenicidad. Se incrementaron y se purificaron. Se dejó crecer cada micelio durante más de diez días para obtener suficiente material para realizar la extracción de ADN. La extracción de ADN se llevó a cabo mediante el protocolo establecido en el kit comercial DNeasy^R Plant Mini Kit de Qiagen, en el año 2014, en el Laboratorio de Histopatología en Colegio de Postgraduados.

4.6 Prueba de PCR

La amplificación molecular se realizó utilizando los iniciadores universales ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) e ITS5 (GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG) para analizar la región rADN ITS (Solano, 2007; Magos, *et al.*, 2010; Silva, *et al.*, 2009; Sandoval, *et al.*, 2012). La prueba de PCR se realizó en el Laboratorio MACROGEN en Korea.

4.7 Secuenciación

Este producto de PCR se secuencio en la empresa MACROGEN en Korea. Posteriormente se consulto el banco de genes del Centro Nacional para la información de la Biotecnología de Estados Unidos (NCBI, por sus siglas en inglés) (García, 2008).

4.8 Evaluación daño en variedades de anturio

Se manejaron tres variedades comerciales propagadas *in vitro* en el Laboratorio de FIRA en Tezoyuca, Morelos, las cuales fueron: variedad Roja Tezoyuca, Variedad Blanca Tezoyuca y variedad Rosa Tezoyuca. Con estas variedades se estableció un diseño experimental completamente al azar y cada tratamiento tuvo 3 repeticiones, conformadas por 9 unidades muestrales de plantas inoculadas y 3 unidades muestrales sin inocular que representaron al testigo. Para determinar el porcentaje de daño en cada variedad de anturio, se elaboró una escala visual arbitraria considerando el estado de las plantas (Cuadro 1). La evaluación se realizó 20 días después de haber inoculado las plantas.

Cuadro 1. Escala de daño visual utilizada para la obtención de daño en plantas inoculadas de anturio (por la autor).

Sin síntomas visibles de la enfermedad	0
Hojas inferiores con amarillamiento, algunas con necrosis; marchitez ligera, daño en raíz color café.	1-20%
Hojas con amarillamiento, con necrosis; marchitez, pudrición de raíz y desprendimiento de corteza	21-40%
Hojas con necrosis; marchitez, pudrición de raíz y desprendimiento de corteza.	41-60%
Planta con necrosis total, raíces completamente descompuestas.	61-80%
Planta muerta	81-100%

4.9 Análisis estadístico de daño en anturio

Con los datos obtenidos se realizó una varianza y una comparación de medias por cada una de las tres variedades inoculadas, utilizando el programa SAS System V8, con un nivel de significación de $\alpha = 0.05\%$ para ambos análisis. Se establecieron las siguientes hipótesis para la varianza:

H_0 = Todos los hongos inoculados en cada variedad de anturio tienen el mismo efecto de daño

H_a = Al menos uno de los hongos inoculados en cada variedad de anturio tiene un efecto diferente de daño a los demás.

Para la comparación de medias se utilizó una prueba de Tukey , con el fin de determinar cual tratamiento (hongo inoculado) fue el que causó un mayor daño en cada una de las variedades inoculadas de anturio, y en base a esto determinar qué variedad fue la más susceptible y cual fue la más tolerante. El experimento se estableció en el año 2014, en un diseño completamente al azar, contemplando 7 tratamientos en total, en donde los 6 primeros cuentan con 3 repeticiones de cada variedad de anturio (9 unidades experimentales) y el tratamiento 7 con tres testigos utilizados.

5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los síntomas que se observaron en el material enfermo colectado fueron diversos, tales como plantas con hojas cloróticas (Figura 1a) y algunas necrosadas (Figura 1b) lo que coincide con lo citado por Murguía, 2007. Hojas amarillentas, y en algunos casos hojas con manchas color marrón (Figura 2) que coincide con lo citado por Bonilla, 2013. Las raíces mostraron una coloración café y menor número de las mismas (Figura 3a), en un daño más avanzado las raíces presentaron pudrición total, incluso se observó que su corteza se desprendía fácilmente (Figura 3a), así como que las hojas se volvían quebradizas (Figura 3b) esto coincide con lo señalado por Hernández, *et al.*, 2012.

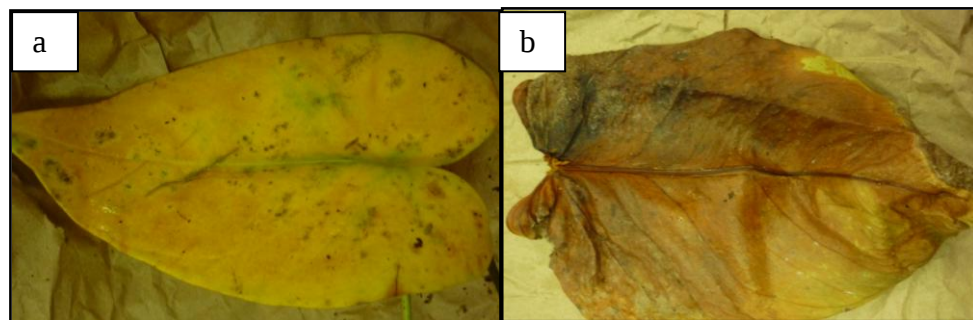


Figura 1. Hojas colectadas de plantas de anturio. a) hoja mostrando clorosis; b) hoja mostrando necrosis. De autor, 2013, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.

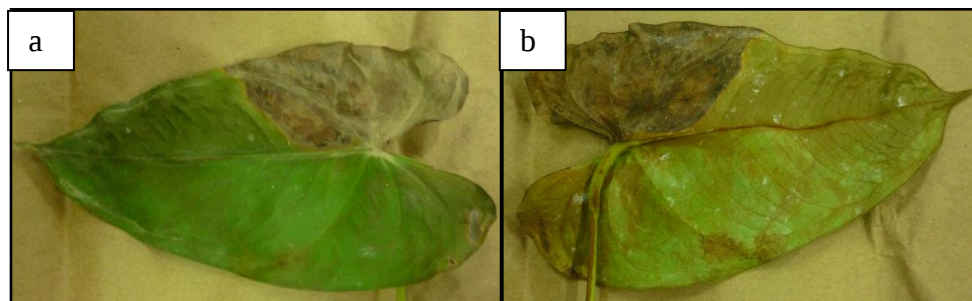


Figura 2. Hojas colectadas de planta de anturio mostrando manchas color marrón. a) vista por el haz, b) vista por el envés. De autor, 2013, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.

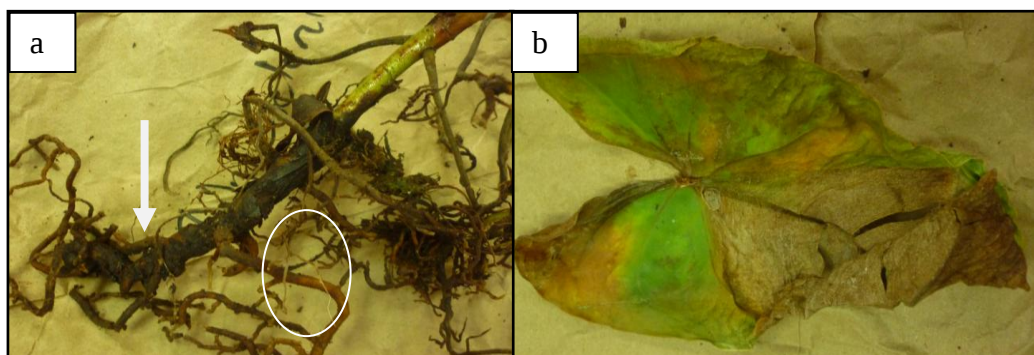


Figura 3. Planta de anturio colectada en Tuxtepec, Oaxaca. a) Raíces color café, mostrando menor número de raíces, y corteza desprendida; b) hojas con aspecto quebradizo. De autor, 2013, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.

5.1 Aislamiento y purificación del patógeno

Los crecimientos fueron miceliares y se obtuvieron a los 20 días posteriores a la siembra en medio de cultivo de A-A, PDA y V8. La primera colonia mostro en medio de agar-agua y PDA una coloración violeta (Figura 4a), de abundante micelio solo en PDA, el crecimiento fue observado a 40x en donde se observó macroconidios en masa (Leslie, *et al.*, 2006). Sin formación de esclerocios, aunque Leslie, *et al.*, 2006 señala que en algunos aislamiento se producen algunos esclerocios abundantes.

La segunda colonia observada mostro crecimiento color blanco cremoso, de forma rastrera, no abundante y sin la formación de estructuras (Figura 4b). No se ha encontrado esta descripción en literatura, debido probablemente a las transferencias constantes para purificar el crecimiento.

El tercer crecimiento que se observó en agar-agua, en PDA y V8 fue de color blanco en forma de roseta densa (Figura 4c) (Sullivan, 2001), con formación de esporangios, anteridios y oognoios, y de la formación de estructuras de resistencia como clamidosporas.

Se observó también un cuarto crecimiento, en donde las características de la colonia fueron tanto en agar agua como en PDA, de color naranja con micelio no tan abundante, sin la formación de esporodoquios (Figura 4d), aunque Leslie, *et al.*, 2006 señala que a

menudo se producen en abundancia y son de color crema, azules o verdes. Incluso que los crecimientos en medio de cultivo agar agua se observan de color violeta o marrón.

Una quinta colonia se logró distinguir, en medio de cultivo de agar agua se observo un crecimiento pobre y con escasa coloración grisácea (Figura 4e). Esta colonia se observo también en medio de cultivo de PDA con micelio color blanco grisáceo y algodonoso, su crecimiento se observo aéreo, rápido y abundante (Figura 4f) (Sandoval, *et al.*, 2012).

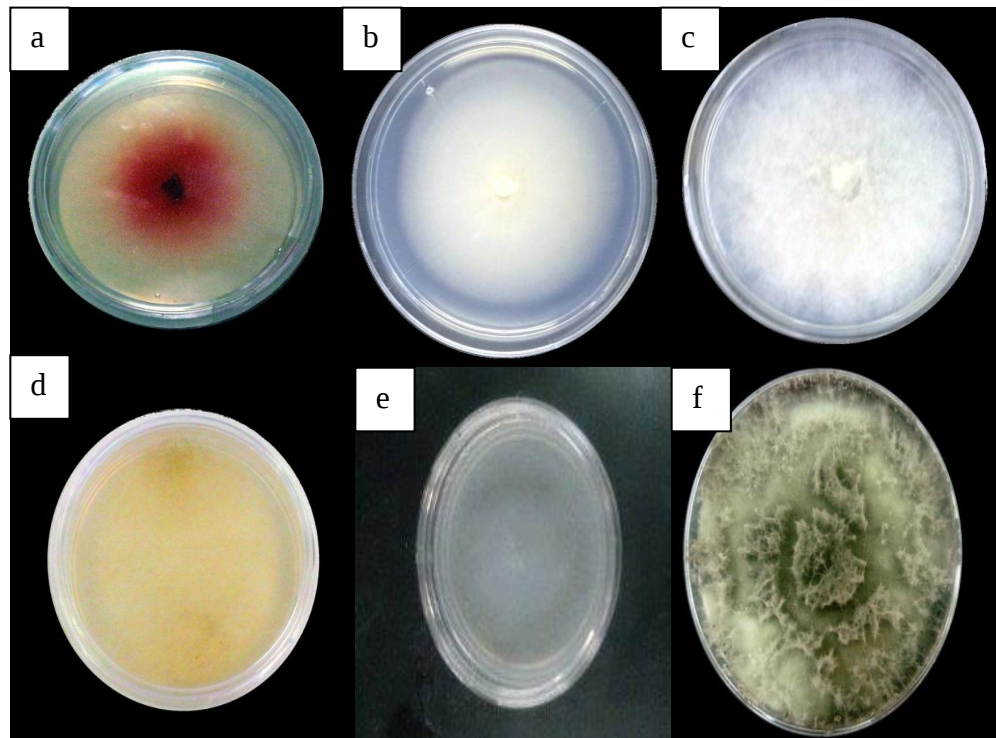


Figura 4. Crecimientos de colonias aisladas y purificadas de tallo y hoja de plantas de anturio (*Anthurium andreanum*); a) colonia color violeta en medio de cultivo de agar agua. b) colonia en medio de agar agua color blanco cremoso, de forma rastrera, no abundante y sin la formación de estructuras. c) colonia color blanco en forma de roseta densa. d) colonia color naranja con micelio no tan abundante. e) crecimiento pobre y con escasa coloración grisácea. f) colonia en PDA con micelio color blanco grisáceo y algodonoso. De autor, 2013, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.

5.2 Pruebas de patogenicidad

5.2.1 Inoculación y reaislamiento de la enfermedad

Con los hongo aislados, se realizó la inoculación en 3 variedades de plantas de anturio, variedad Roja Tezoyuca, variedad Blanca Tezoyuca y variedad Rosa Tezoyuca, las cuales mostraron los primeros síntomas a los 20 días después de la inoculación, cabe señalar que a la fecha no hay alguna literatura que cite el tiempo exacto en que los anturios muestran síntomas causados por algún hongo, sin embargo se observó que los síntomas se expresaron lentamente, debido probablemente a que se utilizaron variedades diferentes a las de la región de Tuxtepec, Oaxaca. Estas últimas pueden ser propuestas para el manejo de enfermedades, ya que su forma de propagación es a través de cultivos *in vitro*.

Entre los síntomas que se encontraron en éstas variedades, fueron amarillamiento en hojas (Figura 5a), necrosis (Figura 5b), tal y como lo menciona Murguía, 2007, el cual atribuye estos síntomas a los causados por especies de *Fusarium*.



Figura 5. Síntomas de de *Fusarium* sp. en variedades de anturio. a) amarillamiento en hojas inferiores; b) necrosis en hojas de anturio. De autor, 2014, Invernadero de Micología Agrícola, UACH.

En otros daños se observaron manchas de forma irregular rodeadas por un halo clorótico (Figura 6a), como lo menciona Hernández, *et al.*, 2012, y que corresponden al género de *Colletotrichum* sp; sin embargo Bonilla, 2013 menciona que los síntomas en anturio por antracnosis se observan como manchas en hojas que luego se tornan de color pajizo y se

secan parcialmente, aunque después de la inoculación las hojas no se observaron de color pajizo, sí se observó que las hojas se fueron secando conforme permanecieron en el invernadero. Así también García, 2010 menciona que en ambiente secos se producen manchas húmedas de color marrón en el borde de las hojas (Figura 6b), esto coincide con los resultados de la inoculación.



Figura 6. Hojas de plantas inoculadas de las variedades de anturio. a) manchas en forma irregular rodeadas por un halo clorótico; b) manchas color marrón en el borde de las hojas. De autor, 2014, Invernadero de Micología Agrícola, UACH.

En las variedades de anturio inoculadas con el crecimiento color blanco en forma de roseta, también se observó la pudrición de raíces (Figura 7a), al principio con una coloración café, posteriormente se observó que la corteza de estas raíces se desprendieron de su cilindro central (Figura 7b), como lo señala Hernández, *et al.*, 2012. Además se pudo observar que en el borde de las hojas se amarillaron (Figura 7c), que en el paso de los días éstas hojas tuvieron una apariencia quebradiza y colgaban languidamente (Figura 7d) como lo menciona García, 2010. De acuerdo a este autor, estos síntomas son causados por el género *Phytophthora* y *Phytium*. Norma, *et al.*, 2012 señala que estos síntomas se puede confundir con *Rhizoctonia*, sin embargo en infecciones causadas por *Phytophthora* y *Phytium*, se llega a observar crecimiento micelial, como sucedió en las plantas de anturio inoculadas (Figura 7e). Murguía, 2007, menciona que esta enfermedad, de pudrición de raíces, es causada también por el nemátodo *Radopholus similis*, sin embargo, Higaki, *et al.*, 1995, señala que la enfermedad conocida como pudrición de la raíz (root rot) es común en anturios que son

cultivados en camas o contenedores, en este sentido Rancho ASTHUR Heliconias, mantiene a los anturios en camas.

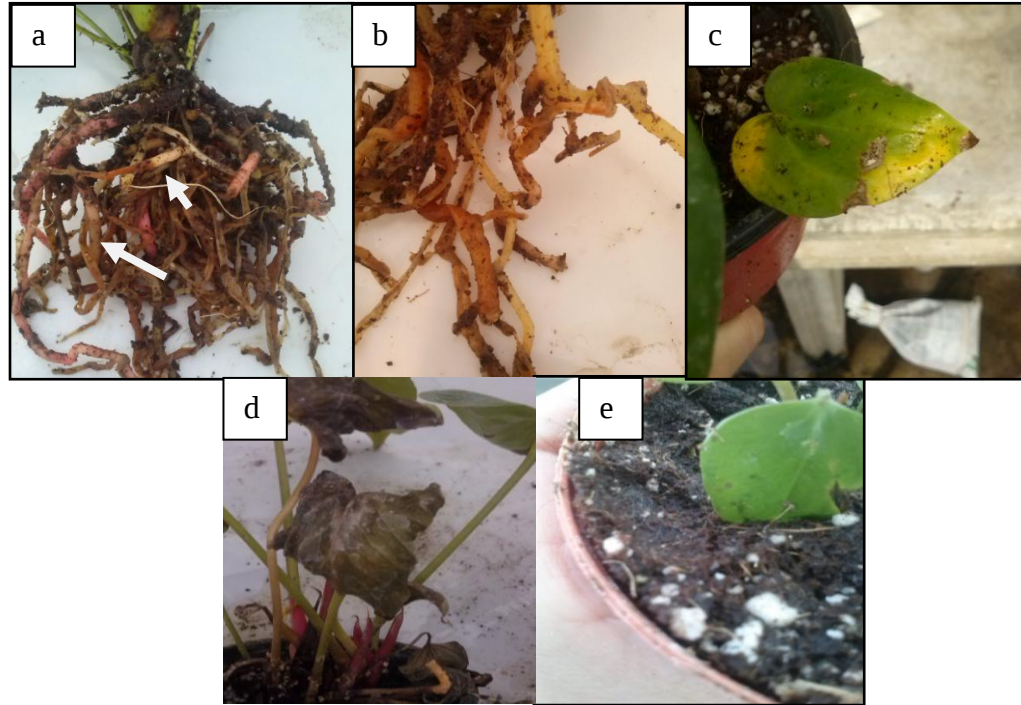


Figura 7. Plantas de anturio inoculadas con el crecimiento color blanco en forma de roseta. a) pudrición de raíces; b) coloración café en raíces; c) borde de las hojas amarillentas; d) hojas colgando languidamente ; e) crecimiento miceliar sobre las plantas de anturio. De autor, 2014, Invernadero de Micología Agrícola, UACH.

En las variedades inoculadas con el crecimiento color gris algodonoso, mostraron síntomas de necrosis (Figura 8a) y pudrición en tallo, comenzando por el ápice hacia lo largo de los tallos (Figura 8b). Aunque a la fecha no hay ningún reporte que explique estos síntomas en anturio, varios autores como Sandoval, *et al.*, 2012, menciona que la pudrición es un problema ocasionado por especies del género *Lasiodiplodia* spp., aunque en este caso lo reportan para pudrición y muerte descendente en arboles frutales de mango. Tovar, *et al.*, 2012, menciona que este tipo de síntoma de pudrición y muerte descendente se presenta en varios cultivos como un problema en los sitios de unión de injertos en material propagativo de marañón (*Anacardium occidentale* L.), guayaba (*Psidium guajava* L.), cítricos, vid y zapote mamey.

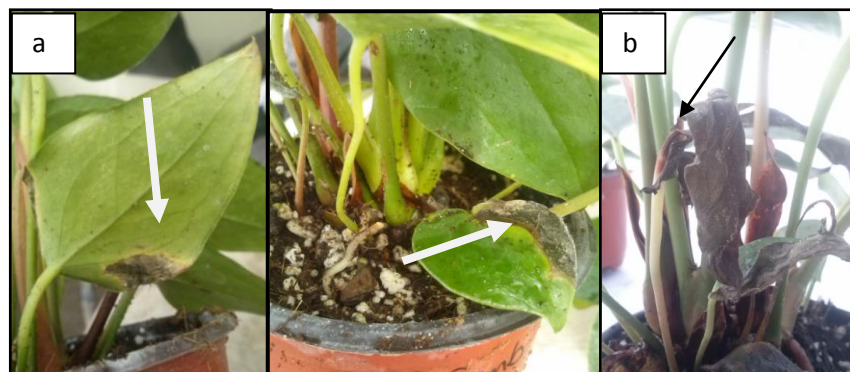


Figura 8. Plantas inoculadas con el crecimiento color gris abundante. a) necrosis en hojas; b) Pudrición de tallo. De autor, 2014, Invernadero de Micología Agrícola, UACH.

Finalmente se inocula las mismas variedades propagadas *in vitro* con la combinación de los crecimientos de todos los hongos, aunque no existe ningún daño reportado por algún complejo de hongos, en este trabajo, se observo que los síntomas fueron más severos, y las plantas de anturio inoculadas mostraron clorosis (Figura 9a), posteriormente necrosis y pudriciones de tallo (Figura 9b).

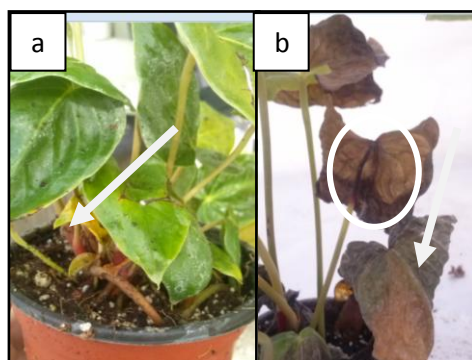


Figura 9. Plantas inoculadas con el crecimiento de todos los hongos. a) hojas con clorosis; b) hojas con necrosis y pudrición de tallo. De autor, 2014, Invernadero de Micología Agrícola, UACH.

5.3 Identificación de los agentes causales por características morfológicas

Después de la inoculación para la reproducción de síntomas, los hongos inoculados presentaron las mismas características que los hongos aislados. Para la colonia de

pigmentación violeta (Figura 10) se observó que se formaron macroconidios y microconidios, formación de clamidosporas y fialides cortas. En base a esto se utilizó el manual de Leslie, *et al*, 2006. Los macroconidios mostraron una morfología ligeramente curvada y delgados, la célula ápical cónica y la célula basal en forma de punta (Figura 10a). Los microconidios se observaron en forma oval, algunos con septas y otros no septados con monofialides cortos y presencia de abundantes clamidosporas (Figura 10b). De la medición de macros y microconidios se muestran en el Cuadro 2.

Cuadro 2. Promedios de ancho y largo de macroconidios y microconidios de *Fusarium oxysporum* (De autor, 2014).

Promedio de ancho de macroconidios	Promedio de largo de macroconidios
2.102 μm	9.402 μm
Promedio de ancho de microconidios	Promedio de largo de microconidios
1.876 μm	6.512 μm
Promedio de septos en macroconidios	Promedio de septos en microconidios
3 septos	2 septos

Lo cual indica que éstas características corresponden a *Fusarium oxysporum*.



Figura 10. Crecimiento de pigmentación violeta. a) macroconidios delgados de *Fusarium oxysporum*. De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.

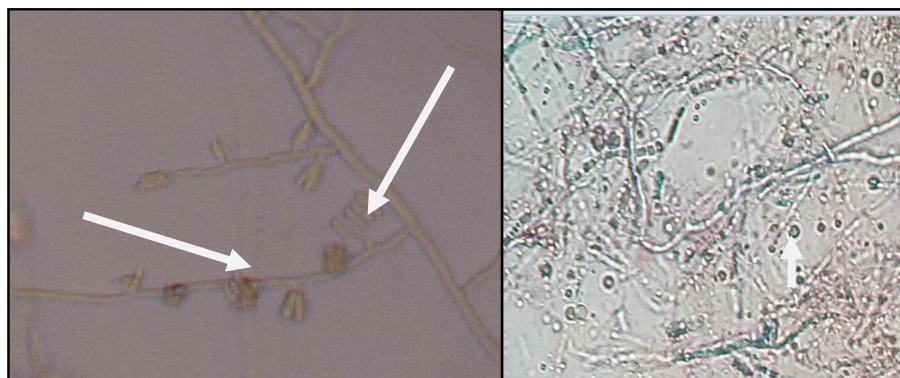


Figura 10. b) Monofiálides cortos y formación de clamidosporas de *Fusarium oxysporum*. De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.

El segundo crecimiento de color blanco cremoso mostró la formación de conidios sin septos, de forma recta cilíndrica, con los extremos redondeados (Figura 11), lo que coincide con varios aislamientos de especies de *Colletotrichum* de acuerdo a lo que menciona Guttierrez, *et al.*, 2002. Con un promedio de conidios, de longitud de 4.8 μm y de ancho 2.2 μm La identificación de este hongo a nivel de especie, se basó más en la identificación molecular.

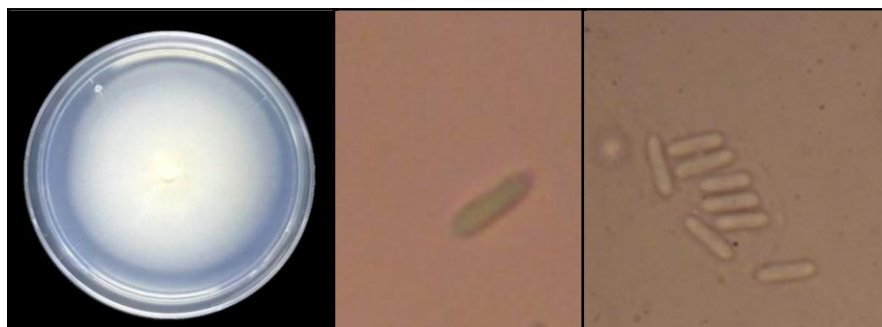


Figura 11. Crecimiento color blanco cremoso, con conidios sin septos, de forma recta cilíndrica, con los extremos redondeados. De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.

La tercera colonia se observó con un crecimiento miceliar en forma de roseta de color blanco (Figura 12). El anteridio es anfígeno (Figura 12a) y el oogonio se observó circular liso (Figura 12b). El esporangio se observó de forma ovoide con una papila pronunciada (Figura 12c). La presencia de clamidosporas (Figura 12d). De acuerdo a Gallegly, *et al.*, 2008, estas características coinciden con *Phytophthora parasítica*.

En el Cuadro 3, se observa el promedio de la medición de cada estructura de *Phytophthora parasítica*.

Cuadro 3. Promedio de oogonio, anteridio, esporangio y clamidosporas (De autor, 2014).

Promedio de diámetro de oognio	Promedio de anteridio
25.3 μm	12.57 μm
Promedio de esporangio	Promedio de clamidosporas
30x23 μm	27.8

De acuerdo a las medidas descritas anteriormente, Gallegly, *et al.*, 2008 señala que el promedio de los oogonios se encuentran entre 23 a 30 μm , el anteridio con un promedio de 13 μm , el esporangio cerca de 45x37 μm y las clamidosporas con un promedio cerca de 30 μm ; sin embargo, Romero, 1988, señala que los oogonios están en un rango de medición de 19 a 41 μm , los anteridio de 9.2x11.5 μm , los esporangios de 25 a 85 x 17 a 38 μm y las clamidosporas de 17 a 63 μm . Como se observa en la tabla los promedios caen entre los rangos señalados por Romero, 1988, y con las características señaladas por Gallegly, *et al.*, 2008, por lo que de acuerdo a estos autores, estas características coinciden con *Phytophthora parasítica*.

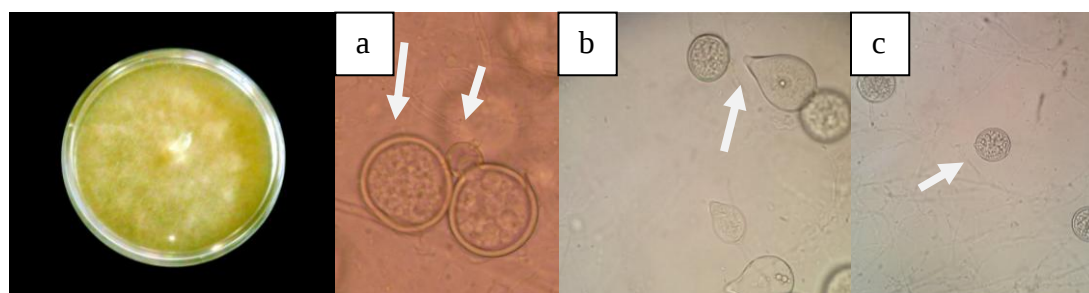


Figura 12. Crecimiento micelial en forma de roseta de color blanco. a) anteridio anfígeno; oogonio circular liso; b) esporangio ovoide con una papila pronunciada; c) clamidosporas. De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.

La cuarta colonia mostró un crecimiento miceliar color blanco con micelio escaso (Figura 13), macroconidios numerosos, rectos y robustos (Figura 13a) con la célula apical redondeada y la célula basal poco desarrollada, tal y como lo menciona Leslie, *et al.*, 2006. En el cuadro 4, se menciona el promedio de la medición de macroconidios y microconidios, así como el promedio de septos.

Cuadro 4. Promedio de macroconidios y microconidios en el crecimiento blanco (De autor, 2014).

Promedio de ancho de macroconidios	Promedio de largo de macroconidios
3.362	9.918
Promedio de ancho de microconidios	Promedio de largo de microconidios
2.532	6.314
Promedio de septos en macroconidios	Promedio de septos en microconidios
3	2

Los microconidios se observaron ovales, monofialides largos (Figura 13 c), así como la formación de clamidosporas. De acuerdo a Leslie, *et al.*, 2006, estas características corresponden a *Fusarium solani* (Figura 14). Sin embargo en la literatura consultada solo mencionan a nivel de género a *Fusarium* spp., como el causante de la marchitez en anturios, como lo menciona Murguía, 2007.

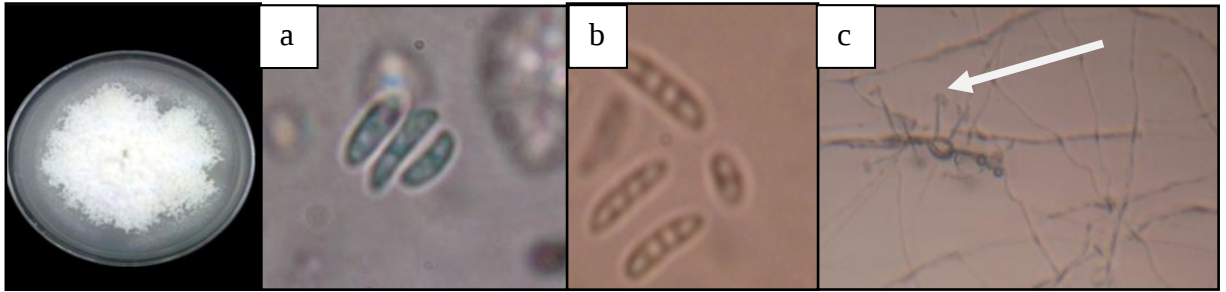


Figura 13. Crecimiento color blanco con micelio escaso. a) macroconidios rectos y robustos; b) microconidios ovales. c) monofiálides largos. De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.

Finalmente, el crecimiento color gris algodonoso (Figura 14) se identificó con conidios y picnidios. Los picnidios se observaron dentro del tejido de las plantas de anturio en estroma simple, de forma globosa, de color negro (Figura 14a), conidios inmaduros hialinos sin septas (Figura 14b), lo que coincide con Sandoval, *et al.*, 2012. Los conidios hialinos tuvieron un promedio de ancho de $8.1 \mu\text{m}$ x $15 \mu\text{m}$ de longitud. Los conidios maduros se observaron de colores café oscuro, elipsoidales (Figura 14c). Su crecimiento micelial se observó abundante, de rápido crecimiento, color gris inicialmente volviéndose gris oliváceo de acuerdo a Tovar, *et al.*, 2012. Ambos autores citan a *Lasiodiplodia theobromae* como el hongo que coincide con estas características.

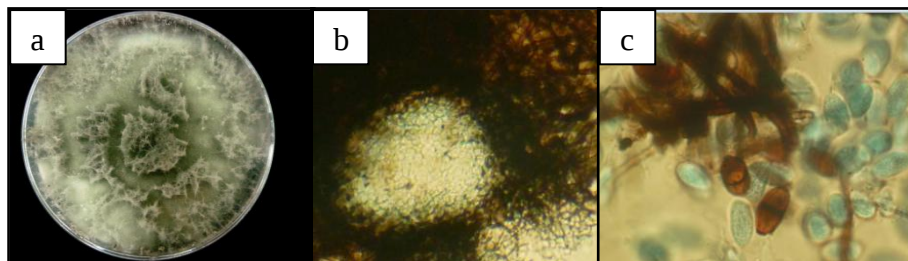


Figura 14. Crecimiento color gris algodonoso; a) picnidios de forma globosa color negro; b) conidios inmaduros; c) conidios maduros. De autor, 2014, Laboratorio de Micología Agrícola, UACH.

5.4 Secuenciación

Los resultados obtenidos, se confrontaron con los datos disponibles en el banco de genes del Centro Nacional para la Información de la Biotecnología de los Estados Unidos

(NCBI) con el programa Clustal, lo que mostró que las secuencias obtenidas a partir de la amplificación con los iniciadores universales ITS4 e ITS5 muestran lo siguiente:

La secuencia para el crecimiento color violeta mostro una similitud del 99% con tres especies, *Fusarium proliferatum*, *Fusarium verticilloides* y *Fusarium oxysporum*; sin embargo de acuerdo a Leslie, *et al.*, 2006, las características morfológicas coinciden con *Fusarium oxysporum*, por lo que la especie que causa amarillamientos, necrosis y marchitez en las plantas de anturio en la región de Tuxtepec, Oaxaca, es *Fusarium oxysporum*. Esta secuencia arrojó 532 pares de bases.

```
CGAGGTCACATTCAGAAGTTGGGGGTTTAAACGGCTTGGCCGCGCCGCGTA
CCAGTTGCGAGGGTTTTACTACTACGCAATGGAAGCTGCAGCGAGACCGC
CACTAGATTTGCGGGCCGGCTTGCCGCGAGGGCTCGCCGATCCCCAACAC
CAAACCCGGGGGCTTGAGGGTTGAAATGACGCTCGAACAGGCATGCCCGC
CAGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGATTCACTGA
ATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTGCTGCGTTCCTTCATCGATG
CCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTGTATTTATTTATGGTTTTA
CTCAGAAGTTACATATAGAAACAGAGTTTAGGGGTCCTCTGGCGGGCCGT
CCCGTTTTTACCGGGAGCGGGCTGATCCGCCGAGGCAACAATTGGTATGTT
CACAGGGGTTTGGGAGTTGTAACTCGGTAATGATCCCTCCGCTGGTTCA
CCAACGGAGACCTTGTTGCTTATTTTATTTTCATGCTGTTGTTTCTGTACC
TACATAAATTGTATTACAGAGGAACAGTTTTACTCACTCTCTTTTTTTTAA
TAAATAATCATATAATATTCTTAAGAATCAAAATCATTGATGGATCTTT
CATTTCTTTTCCCATCATGAGAAAGGTTTGTTTATTTTAATCTGATTCTG
ATTTTATAAATATGACTTTGATCTGCCCCCTGGTGATGTGAATCAATAGAC
CTATTTGAAAGAGAGGAGGAGAGAGGGGAGCGGCCTTGACCTAACTAGT
TGGAGCCTGTTTCAGCTGACGAGGTGAAGAGATCTTATGGTTGA
```

La secuencia para el crecimiento color blanco crema, con conidios cilíndricos, rectos y redondeado de los extremos, mostro una similitud del 99% con *Plectosphaerella cucumerina* y *Colletotrichum pisi*; De acuerdo al Atlas Interactivo de Agricultura Ecológica de Rusia y países vecinos (AgroAtlas), 2013, señala que los conidios de *Colletotrichum pisi* son hialinos, unicelulares, rectos o ligeramente curvados, de 10 a 20 x 3-4 micras de tamaño., sin embargo se obtuvo un promedio de 5 x 3 µm. Verma, *et al.*, 1999, menciona que *C. pisi* produce conidios ligeramente curvados, hialinos, de una sóla célula, de 15 a 15 x 3.5 a 4 µm. este autor señala que *C. pisi* ataca a cultivos de maní, frijol. De acuerdo al Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, 1951, menciona que *C. pisi* no es una enfermedad de importancia, debido a esto no se han

elaborado medidas de control, sin embargo la rotación de cultivos puede ayudar. Autores como Osorio, *et al.*, 2012, señalan que *C. pisi* también ataca al cultivo de arveja, sin embargo no menciona al cultivo de anturio. Existen otros autores como Verma, *et al.*, 1999, donde señalan que *Colletotrichum pisi* es sinónimo de *Colletotrichum gloeosporoides* sin embargo GBIF, 2015 los señalan como dos especies diferentes, y aunque no existe mucha información acerca de los daños y la morfología sobre *C. pisi* en anturio, en el análisis molecular no se muestra a *C. gloeosporoides* por lo que en base a morfología y análisis molecular, la especie que causa manchas color marrón y círculo irregulares en anturio en la Región de Tuxtepec, Oaxaca es *C. pisi*. En el cuadro 5, se menciona el promedio de largo y ancho de los conidios de *C. pisi*.

Cuadro 5. Promedios de conidios de *Colletotrichum pisi* (De autor, 2014).

Promedio de ancho de conidios	Promedio de largo de conidios
3 µm	8 µm

Por lo que en base a la morfología y a lo señalado por Verma, 1999, y AgroAtlas, 2013, y de acuerdo a los resultados de la secuenciación molecular, se obtiene que *Colletotrichum pisi* causa daños en el cultivo de anturio. La secuencia arrojó 553 pares de bases:

```
AATCATCAACCTTGGTGCCGCGGAGCGGGCTTGTGGGGGGTTTAGAGGC
AGGACGCCGAGGGATCCCAATGCGAGGCTGATGCTACTGCGCAAAGGAGA
GGGCCTTCGGGTCCGCCACTGATTTTGGGAGACTGCCGTGGCAGATCTCC
AACGCCGGGCCACGGGGGCTCGAGGGTTGAAACGACGCTCGGACAGGCAT
GCCTCCCAGGATACTGGAAGGCGCCATGTGCGTTCAAAGATTTCGATGATT
CACTGAATTCTGCAATTCACATTACATATCGCGTTTCGCTGCGTTCTTCA
TCGATGCTGGAGCCAAGAGATCCGTTGTTAAAAGTTTTGACAGTTCGCTA
AGAACTCAGAAGTATCGTCGGGTTGAAAACAGAGATTCTGATGAGAC
CGGCGGGCACCTCGCGGGCGCCGCGAAGCAACAGGTATAATAGTTCAC
AAAGGGTAGAGAGTGTAGTACTCAGTAATGATCCCTCCGCTGGTTCACCA
ACGGAGACCTTGTAGTTTTTTTTTTTCCACAAGCCCGGGTTTTTTATTA
AACCCCGTTGGCCAAACATTTTTCAGTTACAAGGTCCCAGCGGGGGTTTTA
GGGGAGCTTAGACTAACTTTCCCCACAAATGGATTCCCCTACCAGGAGG
GGGCCCCCAAAGAGAAAAAAACACTAGGAAACGAGTTTTTAAAGCCATAT
CGAAAAGCCTTTTTTTTCTTACGAGGGGGTAGCACTCCACAACGTGCTG
AATAGAATAACGCCTACCATCCCGCAGTCATATGACCTCTCTCATCTAGT
CGGGTAGACCTGCTCACGCGAAGAAGTTTTTTGAGGTTGAGACGATGCT
CCTTCCAGCGGGATCCCTATGGAGCCTTGTCTTTTCTCTTTGCTTCAC
TATCGCAACTTGCTTGTA
```

La secuencia para el crecimiento color blanco en forma de roseta mostro una similitud del 97% con *Phytophthora parasitica* y *Phytophthora nicotianae*; sin embargo de acuerdo Gallegly, *et al.*, 2008, señala que estas dos especies son morfológicamente iguales, por lo que el nombre correcto es *P. nicotianae*. Norman, *et al.*, 2012, menciona que la especie que ataca a anturio y es el agente causal de la pudrición de raíces es *Phytophthora nicotianae* var. *parasitica*, especie a la cual Gallegly, *et al.*, 2008, la señala como una especie morfológicamente igual a *Phytophthora nicotianae*. Por lo que en base a la morfología y al análisis molecular, el agente causal responsable de la pudrición de raíces en anturio es *Phytophthora nicotianae*. La secuencia de esta especie arrojó 806 pares de bases:

```
CGGTAATTTTCAGCCTGCATACCGCGTATTATTAGAGCATTGCGTACACGA
ATTACACATATCACAGTTCCCAAATGGATCGACCCTCGACAACCGAAGCT
GCCACCCTACTTCGCAACAGCAAAGCCAATTCAAAAGCCAAGCCACCGAG
CTATGGTTTCACCAGTCCATCACGCCACAGCAGGAAAAACGTCCAATAAGT
GCATTGTTTCAGCCGAAGCCAACCATAACCACGAATCGAACACTCTTCCATT
AATGCCGCAGCAGACAAACCAGTCGCCAATTTGCCACAATAGCAGCCTTC
ACAACCAGCAACGCCACCCTTTTCGAGCAAAGAGAAGTTCAGTTTAGTA
CATTTAAAAGGACTCGCAGCCGGTCCGAAGACCAATCGCAAGACACTTCA
CATCTGACATCTCCTCCACCGACTACACGGAAGGAAGAAAGTCAAGTTTA
ATGTACGGACACTGATACAGGCATACTTCCAGGACTAACCCGGAAGTGCA
ATATGCGTTCAAAAATTTTCGATGACTCACTGAATCCTGCAATTTCGATTAC
GTATCGCAGTTCGCAGCGTTCTTCATCGATGTGCGAGCCTAGACATCCAC
TGCTGAAAGTTGCTATCTAGTTAAAAGCAGAGACTTTTCGTCCCCACAGTA
TATTCAGTATTAAGGAATGGGTTTTAAAAGAAAAAAGACTACTAAATCAG
GCCGAAGCCCAAACGTTTCGCCTTTTTTTTTTGGAGATAGGGCACACTCAGCA
GCAGCGCGCCAACAATTAACGCCAGCACGCCGCCGCATATGAGACCCCCA
ACTATGGGTTGAACGGTTCATGTGAAGTTTTATTGAGTGTGTGATGATCT
GCGCATGTCACTACGAATCTGATTTTTTTTTTTTTTTCACACATAAAA
```

La secuencia para el crecimiento color crema naranja mostro una similitud del 99% *Fusarium oxysporum* y *Fusarium solani*; sin embargo de acuerdo a Leslie, *et al.*, 2006, las características morfológicas coinciden con *Fusarium solani*, ya que los monifialides se observaron largos a diferencia de los monofialides cortos de *F. oxysporum*. Por lo que la especie que causa daño en anturio es *Fusarium solani*, la secuencia arrojó un número de 566 pb:

CGAGGTCACATTCAGAAGTTGGGTGTTTTACGGCGTGCCGCGCCGCTCT
 CCAGTTGCGAGGTGTTAGCTACTACGCAATGGAAGCTGCGGCGGGACCGC
 CACTGTATTTGGGGGACGGCGTTGTGCCCGCAGGGGGCTTCGCGCGATCC
 CCAACGCCAGGCCCGGGGGCCTGAGGGTTGTAATGACGCTCGAACAGGCA
 TGCCCCGCCAGAATACTGGCGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATGAT
 TCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCTTC
 ATCGATGCCAGAGCCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAATTTATTTGC
 TTGTTTACTCAGAAGAAACATTATAGAAACAGAGTTAGGGGGTCCTCTGG
 CGGGGGCGGCCCGTGTTCAGGGGCCGTCTGTTCCCGCCGAGGCAACGTTA
 TAGGTATGTTTACAGGGTTGATGAGTTGTATAACTCGGTAATGATCCCTC
 CGCTGGTTTACCAACGGAGACCTTGTAATTTTTTTCATACCCAAGTAGCAA
 AACATCCACTGCTGAAAGTTGCTATCTAGTCCAAAGCTGAGACTTTTCTT
 CCCACAGTATATTCAGTATTAAGGAATGGGTTTAAAAGAAAAAAGACT
 ACGAAAATCAGGCCGAAGCCAAAACGCTCGCCTTTTTTTATTAGGGAGGG
 GGATCACTCCACAGCTTCCGCGATCGGATGCGCCCCAGCAGCCGCCACT
 TTAAGACCCCTCAGCTAGTGGCGAGAAAACGTCTCATGGGAAAATGTTTT
 TTTTAGGTGGTGGATGAAGGATACTTTTTCAGTAGGGTCGCCTATGGAAACG
 TTGGTATGGTTTACTTTTTCAACTATAGAAA

La secuencia para el crecimiento color gris esponjoso mostro una similitud del 99% con *Lasiodiplodia theobromae*; sin embargo a la fecha no se ha encontrado algún registro sobre esta especie en el cultivo de anturio. Sandoval, *et al.*, 2012, relaciona a *L. theobromae* con la pudrición del pedúnculo y muerte descendente del mango. Por lo que de acuerdo a las características morfológicas y al análisis molecular, el daño en anturio también es causado por *Lasiodiplodia theobromae*, la secuencia de esta especie arrojo un número de 533 pares de bases:

ACATGGCCTGCGAGGTCACCTTGACCATTAGTTACAGAATGGTTACGTCC
 GGCGGGCGACGCCAACCGCTCCAAAGCGAGGTGTATTCTACTACGCTTGA
 GGGCTGAACAGCCACCGCCGAGGTCTTTGAGGCGCGTCCGCAGTGAGGAC
 GGTGCCCAATTCCAAGCAGAGCTTGAGGGTTGTAATGACGCTCGAACAGG
 CATGCCCCCGGAATACCAAGGGGCGCAATGTGCGTTCAAAGATTCGATG
 ATTCACTGAATTCTGCAATTCACATTACTTATCGCATTTTCGCTGCGTTCT
 TCATCGATGCCAGAACCAAGAGATCCGTTGTTGAAAGTTTTAGTTTATTA
 ACTTGTTTATCAGACGTCTGCGTTTACTGACTGGAGTTTGAAGGTCCCTT
 GGCGGCCCGAGCCGCCAAAGCAACAGAGGTACGTTACAAAGGGTGGGAG
 AGTCGAGCCGGAGCTCGAAAACCTCGGTAATGATCCTTCCGCAGGTTACAC
 TACGGAAACCTTGTTACATTTTTTTTTTTTTCTTAACAACCGCCAAGGCGG
 TGCACCTTGTTAACACCTTGTTACCCTATACACCCCCCCCACAAATGTGG
 ATGCGCGGGTTTTAGATATTTCTTCGCAAAAATCCGCTATCTAGATTCAC
 AGCAGAGACCGTCGTCATCATAGAGATGTGACACTATTATACGAGGTGAA
 TAGAAAAGAGAGATACCAGCTCTCTTCCACGAGTAGCGACACACATCGT
 TCGTGAGTGAGAGGGGCTGGCATCCGGCTGTCAGTTGGCTCTACTTTTG
 ACATCGACGGCCCGCTCAAGCAGTCCTAACTAGTTGAGCTGATACAGT
 TCAAGTGGAAGTTATTGAGGTGTGGTCTGTCTTGCGCACGTTTCGCTACT
 GAACCTCAG

A pesar que al anturio (*Anthurium andreanum*) es una especie popular y económicamente importante, ocupando el segundo lugar de relevancia dentro de los ornamentales tropicales, sólo después de las orquídeas (Hernández, *et al.*, 2012), no es un cultivo muy conocido en cuanto a los posibles patógenos que lo pueden dañar. Sin embargo estos resultados sobre las características morfológicas y moleculares pueden servir de referencia para futuros estudios en anturio.

5.5 Evaluación del daño en variedades de anturio

De acuerdo a la escala arbitraria que se formuló, los resultados del porcentaje de daño en las plantas de anturio inoculadas 20 días después, se indican en el Cuadro 6.

Cuadro 6. Porcentaje de daño evaluado en las variedades de anturio.

Tratamiento	Repetición	Roja Tezoyuca (%)	Blanca Tezoyuca (%)	Rosa Tezoyuca (%)
1	1	25	12	7
1	2	30	15	10
1	3	35	18	12
2	1	18	15	12
2	2	18	14	17
2	3	17	16	15
3	1	25	20	18
3	2	35	15	13
3	3	38	10	18
4	1	35	13	10
4	2	38	15	10
4	3	32	8	8
5	1	25	15	10
5	2	30	18	8
5	3	32	20	9
6	1	35	15	10
6	2	40	18	8
6	3	35	18	7
7	1	0	0	0
7	2	0	0	0
7	3	0	0	0

De los cuales el promedio de daño por variedad se muestra en el Cuadro 7.

Cuadro 7. Promedios en porcentaje de daño de cada variedad de anturio.

Variedad	Daño (%)
Roja Tezoyuca	25.8
Blanca Tezoyuca	13.09
Rosa Tezoyuca	9.6

5.6 Análisis estadístico de daño en anturio

Debido a que no hay alguna literatura en donde se hayan realizado estudios sobre probar variedades como una forma de control de las enfermedades citadas anteriormente, los siguientes resultados del análisis estadístico sobre el daño causado en anturio se muestran en el Cuadro 8.

Cuadro 8. Número de tratamientos utilizados en el análisis estadístico.

Tratamiento	Patógeno
1	<i>Fusarium oxysporum</i>
2	<i>Colletotrichum pisi</i>
3	<i>Phytophthora nicotianae</i>
4	<i>Fusarium solani</i>
5	<i>Lasiodiplodia theobromae</i>
6	Combinación
7	Testigos

En la variedad Roja Tezoyuca se obtuvo un coeficiente de variación de 14.7, con una media de 25.8, y el valor de F del tratamiento fue de 34.64. En el apéndice 1 se muestra el cuadro completo del ANOVA.

Por lo que en base a las hipótesis anteriormente establecidas y a la regla de decisión, se tiene:

Si $F_{cal} > F_{tab} \Rightarrow$ Rechazo H_0

Por lo tanto:

Sí $34.64 > 2.8477 \Rightarrow$ Rechazo H_0 . Por lo que los datos del experimento muestran diferencia significativa ($\alpha=0.05$) de que al menos uno de los hongos inoculados en las variedades de anturio tienen un efecto diferente de daño a los demás.

En base a esto, el análisis de comparación múltiple de medias (Cuadro 9) utilizando la prueba Tukey, arrojó que el tratamiento que causó un mayor daño en las plantas inoculadas de anturio de la variedad Roja Tezoyuca fue el tratamiento 6, el cual corresponde a la inoculación de todos los hongos involucrados, *Fusarium solani*, *Colletotrichum pisi*, *Phytophthora parasítica*, *Fusarium oxysporum*, y *Lasiodiplodia Theobromae*. Aunque no se tienen registros acerca de la incidencia de hongos en anturio, por medio de este análisis se deduce que estos hongos pueden causar un daño mayor, prevaleciendo juntos, en variedades de anturio como la Roja. Por lo que debe considerarse el uso de esta variedad en la región de Tuxtepec, Oaxaca.

Cuadro 9. Agrupación de Tukey y media del porcentaje de daño en la variedad Roja Tezoyuca.

Tratamiento	Media	Agrupación Tukey
6	36.6	A
4	35.0	A
3	32.6	A
1	30.0	A
5	29.0	A
2	17.6	B
7	0.0	C

En la variedad Blanca Tezoyuca se obtuvo un coeficiente de variación de 21.8, una media de 13.09 y el valor de F del tratamiento de 13.41. En el apéndice 2 se muestra el cuadro completo del ANOVA.

Por lo que en base a las hipótesis anteriormente establecidas y a la regla de decisión, se tiene que:

Si $F_{cal} > F_{tab} \implies$ Rechazo H_0

Por lo tanto:

Sí $13.41 > 2.8477 \implies$ Rechazo H_0 . Por lo que los datos del experimento muestran diferencia significativa ($\alpha=0.05$) de que al menos uno de los hongos inoculados en la variedad Blanca Tezoyuca de anturio tiene un efecto diferente de daño a los demás.

En base a esto, el análisis de comparación múltiple de medias utilizando la prueba Tukey (Cuadro 10), arroja que el hongo que causó un mayor daño en las plantas inoculadas de anturio de la variedad Blanca Tezoyuca fue el tratamiento 5, el cual corresponde a la inoculación de *Lasiodiplodia Theobromae*. Cabe señalar que la información acerca de *Lasiodiplodia* como agente causal de enfermedades en anturio no existe, sin embargo Alama, *et al.*, 2006, menciona una necrosis, la cual origina una defoliación severa en árboles de aguacate (*Persea americana*). Por lo que este sería el primer dato acerca de que esta nueva especie identificada morfológicamente y molecularmente en este trabajo causa un daño importante en variedades de anturio.

En este caso, la variedad Blanca Tezoyuca, puede considerarse como una posible variedad comercial en Tuxtepec, Oaxaca, sin embargo se tienen que tomar medidas preventivas para evitar la entrada y propagación del resto de los hongos a las plantas de anturio.

Cuadro 10. Agrupación de Tukey y media del porcentaje de daño en la variedad Blanca Tezoyuca.

Tratamiento	Media	Agrupación Tukey
5	17.6	A
6	17	A
3	15	A
2	15	A
1	15	A
4	12	A
7	0.0	B

En la variedad Rosa Tezoyuca se obtuvo un coeficiente de variación de 19.9, una media de 9.6 y un valor de F del tratamiento de 22.5. En el apéndice 3 se muestra el cuadro completo del ANOVA.

Por lo que en base a las hipótesis anteriormente establecidas y a la regla de decisión, se tiene que:

Si $F_{cal} > F_{tab} \implies$ Rechazo H_0

Por lo tanto:

Sí $22.53 > 2.8477 \implies$ Rechazo H_0 . Por lo que los datos del experimento muestran diferencia significativa ($\alpha=0.05$) de que al menos uno de los hongos inoculados en la variedad Rosa Tezoyuca de anturio tiene un efecto diferente de daño a los demás. En base a esto, el análisis de comparación múltiple de medias utilizando la prueba Tukey (Cuadro 11), arrojo que el hongo que causo un mayor daño en las plantas inoculadas de anturio de la variedad Rosa Tezoyuca fue el tratamiento 3, el cual corresponde a la inoculación de *Phytophthora parasítica*. Sin embargo, se observa que los tratamiento que comparten letras no son significativamente diferentes entre ellos, así tenemos como referencia al tratamiento 2 que corresponde a *Colletotrichum pisi*, al tratamiento 1, que

corresponde a *Fusarium solani* y al tratamiento 4, que corresponde a *Fusarium oxysporum*. En base a esto, el hongo que causó mayor daño fue *Phytophthora parasítica*, tal y como lo menciona Norman, *et al.*, 2012. Por lo que la variedad rosa Tezoyuca es una variedad susceptible a este hongo.

Cuadro 11. Agrupación de Tukey y media del porcentaje de daño en la variedad Rosa Tezoyuca.

Tratamiento	Media	Agrupación Tukey
3	16.3	A
2	14.6	AB
1	9.6	CB
4	9.3	CB
5	9	C
6	8.3	C
7	0.0	D

Aunque las tres variedades de anturio resultaron ser dañadas por estos hongos, la variedad que estadísticamente mostró mayor daño por la inoculación de todos los hongos fue la variedad Roja Tezoyuca, por lo que la variedad Blanca y Rosa Tezoyuca se pueden considerar como variedades menos susceptibles a la infección grupal de estos hongos.

Del análisis estadístico se puede resaltar que en la Variedad Roja Tezoyuca, el hongo que causó mayor daño fue la combinación de todos, en la Variedad Blanca Tezoyuca el hongo que causó mayor daño fue *Lasiodiplodia theobromae* y en la variedad Rosa Tezoyuca el hongo que mayor daño causó fue *Phytophthora parasítica*.

Sin embargo, cabe señalar que observando los datos de la evaluación, la variedad que mayor daño mostró por la inoculación de cada hongo fue la variedad Roja Tezoyuca, siguiendo la variedad Blanca y finalmente la variedad Rosa, estos porcentajes de daño

pudieron haber estado influenciados por la variedad que se utilizó, ya que es una variedad diferente a las variedades de la Cuenca del Papaloapan.

Cabe señalar que el río Papaloapan es la fuente de riego importante en esa región y se utiliza para irrigar los cultivos de anturio. Sin embargo, se realizó un estudio de la calidad del agua que se utiliza para irrigar los cultivos de anturio en Tuxtepec, Oaxaca, y no se mostro la presencia de ningún fitopatógeno.

6. CONCLUSIONES

Por medio de los postulados de Koch, de un análisis molecular y de un análisis estadísticos, se logró identificar a *Fusarium oxysporum*, *Colletotrichum pisi*, *Phytophthora nicotianae*, *Fusarium solani*, *Lasiodiplodia theobromae* como los agentes causales de la pudrición del cuello en anturio (*Anthurium andreanum*) en la Región de Tuxtepec, Oaxaca.

Se logró valorar el comportamiento de tres variedades comerciales de anturio (*A. andreanum*) con los hongos identificados morfológicamente y molecularmente. De las cuales la variedad Roja Tezoyuca resulto con un daño mayor que la variedad Blanca y Rosa Tezoyuca.

7. APÉNDICES

Apéndice 1. Tabla de ANOVA de la variedad Roja Tezoyuca.

F.V.	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F Value	Pr > F
Tratamiento	6	3028.571429	504.761905	34.64	<.0001
Error	14	204.000000	14.571429		
Total	20	3232.571429			
	R-Square	Coeficiente de Variación	Root MSE	Media	
	0.936892	14.76286	3.817254	25.85714	

Apéndice 2. Tabla de ANOVA de la variedad Blanca Tezoyuca.

F.V.	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F Value	Pr > F
Tratamiento	6	659.1428571	109.8571429	13.41	<.0001
Error	14	114.6666667	8.1904762		
Total	20	773.8095238			
	R-Square	Coeficiente de Variación	Root MSE	Media	
	0.851815	21.85452	2.861901	13.09524	

Apéndice 3. Tabla de ANOVA de la variedad Rosa Tezoyuca.

F.V.	Gl	Suma de cuadrados	Cuadrado medio	F Value	Pr > F
Tratamiento	6	495.6190476	82.6031746	22.53	<.0001
Error	14	51.33333333	3.6666667		
Total	20	546.9523810			
	R-Square	Coeficiente de Variación	Root MSE	Media	
	0.906147	19.90690	1.914854	9.619048	

8. LITERATURA CITADA

- AgroAtlas. 2013. *Colletotrichum pisi* Pat. - Anthracnose of Peas. Atlas Interactivo de Agricultura Ecológica de Rusia y países vecinos. Disponible en línea: http://www.agroatlas.ru/en/content/diseases/Fabacee/Fabacee_Colletotrichum_pisi/
- Alama, I., Maldonado, E., Rodríguez, G. E. 2006. *Lasiodiplodia theobromae* afectando al cultivo de Palto (*Persea Americana*) en las condiciones de Piura-Perú. Revista Universalia 11 (2).
- Bonilla, G. E. 2013. El anturio. Jardines Tocarema. Disponible en línea: http://corpomail.corpoica.org.co/BACFILES/BACDIGITAL/11300/s2d48896240D859257043291E38D0E38A89_1.pdf.
- Castillo, D. T. I. 2012. Viabilidad económica del cultivo de la flor de anturio y esquemas de comercialización. Universidad Tecnológica de la Mixteca, Instituto de Ciencias Sociales y Humanidades. Temas de Ciencia y Tecnología, 15: 19-25. Disponible en línea: http://www.utm.mx/edi_anteriores/temas48/T48_1Ensayo3-Viabilidad_economica.pdf
- Castellanos, G., Jara, C., Mosquera, G. 2015. Producción de micelio en medio líquido para extracción de ADN. Centro Internacional de Agricultura Tropical. Disponible en línea: http://ciat.cgiar.org/wp-content/uploads/2013/04/guia_practica9.pdf
- Cásares, C. M., Maciel, N. 2009. Estabilidad del medio de crecimiento y comportamiento del anturio (*Anthurium* x *Cultorum* cv. Arizona) en sustratos de disponibilidad local. Revista Bioagro 21 (2): 99-104. Disponible en línea: <http://www.ucla.edu.ve/bioagro/Rev21%282%29/Estabilidad%20del%20medio%20de%20crecimiento.pdf>

- Chandler, F. 1991. Comercial Anthurium Production. Caribbean Agricultura Research and Development Institute (CARDI). Disponible en línea: <http://www.cardi.org/cardi-publications/factsheets/crops/>
- COAG. 2009. Planta ornamental y flor cortada. Coordinadora de Organizaciones de Agricultores y Ganaderos. Análisis Agroganadero. Anuario Agrario. Disponible en línea: http://www.coag.org/rep_ficheros_web/df6a16f7eeb7ad8fdd3731f080c7d398.pdf
- Departamento de Agricultura de Estados Unidos. 1951. Cultivo y plagas de chícharo. Washington. p. 13. Disponible en línea: <https://books.google.com.mx/books?id=ynpHAQAAMAAJ&pg=PA65&lpg=PA65&dq=colletotrichum+psi+pat&source=bl&ots=DL4DG91e7c&sig=k4QeXOA8KpZcN9D0QhmG5TNRtn0&hl=es&sa=X&ei=a39eVZuSMtGHYASG6IFw&ved=0CD8Q6AEwCDgK#v=onepage&q=colletotrichum%20psi%20pat&f=false>
- Departamento de Agricultura, Silvicultura y Pesca. 2010. Anthurium (flamingo flower). República de Sudáfrica. Disponible en línea: <http://www.nda.agric.za/docs/Brochures/Anthuriumflower.pdf>
- EPPO. 2015. *Xanthomonas axonopodis* pv. *dieffenbachiae*. European and Mediterranean Plant Protection Organization. Data Sheets on Quarantine Pests. Disponible en línea: http://www.eppo.int/QUARANTINE/bacteria/Xanthomonas_dieffenbachiae/XANTDF_ds.pdf
- Gallegly, E. M., Hong, C. 2008. Phytophthora, Identifying Species by Morphology and DNA Fingerprints. The American Phytopathological Society, APS PRESS. St. Paul, Minnesota, U. S. A.
- García, A. O., Gómez, G. A., Chalita, T. L., Brambila, P. J., García, A. R. 2014. Factibilidad financiera por opciones reales para la producción de Anturio (*Anthurium andreanum* Lindem Ex Andre) en Cuitláhuac, Veracruz. Revista

Mexicana de ciencias Agrícolas, Pub. Esp. Núm. 8: 1467-1475. Disponible en línea:
<http://revistas.inifap.gob.mx/index.php/Agricolas/article/view/3123/2572>

García, M. A. M. 2008. Determinación morfológica, molecular, patogénica y manejo de enfermedades de raíz y cuello en céspedes de campos de golf. Tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal. Depto. de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México. 60 p.

García, P. I. 2010. Diseño de invernaderos para producción de flor cortada de anturio. Universidad Estadual de Campinas. Faculdade de Engenharia Agrícola. Disponible en línea: <http://academica-e.unavarra.es/bitstream/handle/2454/2123/577211.pdf?sequence=1>

GBIF. 2015. *Colletotrichum pisi* Pat. The Global Biodiversity Information Facility. Disponible en línea. <http://www.gbif.org/>

Gilchrist, S., Fuentes, D. L., Martínez, C., López, A. R., Duveiller, E., Singh, R. P., Henry M., García, A. 2005. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. Segunda edición. México, D.F.: CIMMYT. Disponible en línea: <http://ageconsearch.umn.edu/bitstream/56185/2/guiaTrigoCebada.pdf>

González, M. J., Riestra, D. D., Gallardo, L. F., Alonso, L. A., Olguín, P. C., Cruz, C. G., Rodríguez, L. A., Flores, M. A. 2002. Caracterización de factores socioeconómicos del cultivo de anturio (*Anthurium andreanum* Linden) en el estado de Veracruz, México. Revista Chapingo, 9 (1): 163-177.

González, S. C. 2010. Manual Básico. Diseño y Manejo de Proyectos Florícolas. Tuxtla, Chiapas. Disponible en línea: http://www.utn.org.mx/docs_pdf/novedades/MANUAL_FLORICULTURA_PESA_CHIAPAS_2010.pdf

Gutiérrez, A. O., Nieto, A. D., Gutiérrez, A. J., Delgadillo, S. F., Domínguez, A. L. 2002. Características Morfológicas, Culturales y Patogenicidad de Aislamientos de

- Colletotrichum spp. obtenidos de Frutos de Guayaba (*Psidium guajava* L.). Revista Mexicana de Fitopatología, (20)1: 24-30. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/pdf/612/61220105.pdf>
- Hernández, O. A., Valdez, A. L. 2012. Anturio, Cultivo y Fisiología. Universidad Autónoma Chapingo. 102 p.
- Hernández, L. 2004. El cultivo del Anthurium. Instituto Nacional de ciencias Agrícolas. Red de Revistas Científicas de América Latina, el Caribe, España y Portugal, 25 (4): 41-51. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/pdf/1932/193225911004.pdf>
- Higaki, T., Lichty, S. J., Moniz, D. 1995. Anthurium culture in Hawai'i. College of Tropical Agriculture And Human Resources. University of Hawai'i. Disponible en línea: <http://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/RES-152.pdf>
- INECC-CCA. 2010. Guía para elaborar planes de muestreo representativos. Anexo 2. p. 10-11. Disponible en línea: http://www2.inecc.gob.mx/dgcenica/proname/informes/guia_para__planes_de__muestreo_inecc_2013.pdf
- Lee, E. H., Cruz, C. G., García, R. B. 2003. Proliferación de brotes múltiples y aclimatación de anturio (*Anthurium andreaeanum* L.) 'midori' y 'kalapana' cultivados *in vitro*. Revista fitotecnia Mexicana, 26 (4): 301-307. Disponible en línea: <http://www.revistafitotecniamexicana.org/documentos/26-4/12a.pdf>
- Leslie, F. J., Summerell, A. B. 2006. The Fusarium Laboratory Manual. Australian-American Fulbright Commission. pp 212, 250.
- Lont, A., Os, A., Gobielle, M., Eijk, H. 2007. Guía para el cultivo de Anthurium de flor cortada. Disponible en línea: <http://www.anthura.nl/page/es/anthura/departamentos>
- López, P. G., Ramírez, M. A., Lee, E. H., 2013. El cultivo moderno del anturio. Universidad Veracruzana, Revista ciencia. 51-59 p.

- Macias, F. L., Delgado, C. Y., Peña, M. E., León, B. R., Elías, B. R. 2006. Técnicas para el diagnóstico y determinación de variabilidad genética de fitopatógenos. Universidad de Matanzas. Disponible en línea: http://www.bibliociencias.cu/gsdll/collect/libros/import/Genetica_fitopatogenos.pdf
- Magos, G. K., Leyva, M. S. G., Mariscal, M. L. A. 2010. Etiología de la Pudrición de Bulbo y Tallo de la Azucena Híbrida (*Lilium* spp.) y su Control en el Estado de México. Revista Mexicana de Fitopatología (28) 2: 163. Disponible en línea: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?pid=S0185-33092010000200010&script=sci_arttext
- Murguía G. J. 2007. Producción de: orquídea, anturio, gardenia y ave del paraíso. FUNPROVER. Fundación Produce Veracruz. Apuntes, universidad Veracruzana. Disponible en línea: <http://www.funprover.org/formatos/cursos/Manual%20de%20Produccion%20de%20Orquideas-Anturio-Gardenia-Ave%20del%20P.pdf>
- Necochea, C. R., Canul, T. J. 2004. Secuenciación de Ácidos Nucléicos. Métodos fisicoquímicos en biotecnología. Instituto de Biotecnología-UNAM. Disponible en línea: http://www.ibt.unam.mx/computo/pdfs/met/secuenciacion_acidos_nucleicos.pdf
- Norman, J. D., Shad, A. G. 2012. Anthurium diseases: Identification and Control in Commercial Greenhouse Operation. Plant Pathology Department, Florida Cooperative Extension Service, Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. Disponible en línea: <http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/PP/PP29200.pdf>

- Osorio, G. L. A., Castaño, Z. J. Gutiérrez, R. I. 2012. Eficacia *in-vitro* de lixiviados de plátano sobre *Fusarium oxysporum* Schlecht, causante de la pudrición de raíces de arveja (*Pisum sativum* L.). Revista Agronomía. p. 18. Disponible en línea: <http://agronomia.ucaldas.edu.co/downloads/Agronomia%2020%281%29completa.pdf>
- Parrado, J. J., García, G. A., Vásquez, M. A., Rodríguez, M. 2012. Estudio fenológico de dos variedades de anturios, en el piedemonte llanero, en condiciones de vivero, para estudiantes de primer y séptimo semestre de Licenciatura en producción agropecuaria-Unillanos. Revista Sistemas Agroecológicos, 3:1. Disponible en línea: <http://www.sistemasagroecologicos.co/art4/pag7.pdf>
- Romero, C. S. 1988. Hongos Fitopatógenos. Depto. de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo.
- Sánchez, R. F., Moreno, R. J., Puente, M. L., Araiza J. 2004. Producción de plantas ornamentales en maceta en invernadero. Memorias del IV Simposio Nacional de Horticultura. Invernaderos: Diseño, Manejo y Producción, Torreón, Coahuila, México. Disponible en línea: http://www.uaaan.mx/postgrado/images/files/hort/simposio4/02Prod_plantas_ornam_macetaeninvernadero.pdf
- Sandoval, S. M., Nieto, A. D., Sandoval, I. S., Téliz, O. D., Orozco, S. M., Silva, R. H. 2012. Hongos asociados a pudrición del pedúnculo y muerte descendente del mango (*Mangifera indica* L.). Revista Agrociencia 47: 61-73.
- Sharma, S., Rustgi, S., Balyan, H. S., Gupta, P. K. 2015. Internal transcribed spacer (ITS) sequences of ribosomal DNA of wild barley and their comparison with ITS sequences in common wheat. Molecular Biology Laboratory, Department of Agricultural Botany, Ch. Charan Singh University. Vol 32, p. 38-45. Disponible en línea: <http://wheat.pw.usda.gov/ggpages/bgn/32/Sharma.htm>

- SENASA. 2015. *Coccus hesperidum*. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas. Disponible en línea: <http://www.sinavimo.gov.ar/plaga/coccus-hesperidum>
- SENASA. 2015. *Myzus persicae*. Servicio Nacional de Sanidad y Calidad Agroalimentaria. Ministerio de Agricultura, Ganadería y Pesca. Sistema Nacional Argentino de Vigilancia y Monitoreo de Plagas. Disponible en línea: <http://www.sinavimo.gov.ar/plaga/myzus-persicae>
- SIAP. 2015. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Producción Agropecuaria y Pesquera, Cierre de la producción agrícola por cultivo. Disponible en línea: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/>
- Silva, R. V., Fernández, P. S., Góngora, C. C., Macías, L. B., Avila, Q. G. 2009. Distribución Espacio Temporal de la Marchitez del Chile (*Capsicum annuum* L.) en Chihuahua e Identificación del Agente Causal *Phytophthora capsici* Leo. Revista Mexicana de Fitopatología (27) 2. Disponible en línea: http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0185-33092009000200006
- Somma, M., Querci, M. 2015. Análisis de la Presencia de Organismos Genéticamente Modificados en Muestras de Alimentos. Reacción en Cadena de la Polimerasa. Institute for Health and Consumer Protection. European Commission. Disponible en línea: <http://gmo-crl.jrc.ec.europa.eu/capacitybuilding/manuals/Manual%20ES/Sesi%C3%B3n6.pdf>
- Solano, B. A. R. 2007. Etiología y control de la pudrición seca del tallo en crisantemo (*Chrysanthemum morifolium* Ramat), en Texcoco, Estado de México. Tesis de Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola, Depto. De Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Estado de México. 29 p.

- Sosa, M. S., Perdomo, R. F., Brathwaite, D. C. 1997. Técnicas para el diagnóstico de las enfermedades de las plantas. Instituto Panamericano de Cooperación para la Agricultura. Agencia de cooperación Técnica. Disponible en línea: <http://orton.catie.ac.cr/repdoc/A9456E/A9456E.PDF>
- Tovar, P. J., Mora, A. J., Nava, D. C., Téliz, O. D., Valdóvinos, P. G., Villegas, M. A., Hernández, M. J. 2012. Identificación, patogenicidad e histopatología de *Lasiodiplodia theobromae* en injertos de zapote mamey en Guerrero, México. Revista Agrociencia 46: 147-161.
- Sullivan, M. 2001. *Phytophthora parasitica* Dastur var. *nicotianae* (Breda de Haan) Tucker. Proyecto sobre el origen de los patógenos en el suelo. NC, State, University. Disponible en línea: <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp728/Phytophthora/Ppnicotianae.htm>
- UC. 2015. Fungus Gnat. Universidad de California. Programa de manejo Integrado de Plagas. División de Agricultura y Recursos Naturales. Disponible en línea: <http://www.ipm.ucdavis.edu/PMG/PESTNOTES/pn7448.html>
- Universidad de Puerto Rico. 1979. Observaciones sobre el cultivo del anturio (*Anthurium andreanum* Lind.). Colegio de Ciencias Agrícolas. Estación Experimental Agrícola. Puerto Rico. Disponible en línea: <http://136.145.83.33:8000/jspui/bitstream/10476/872/1/Publicacion%20128.pdf>
- Uchida, Y. J., Sipes, S. B., Kadooka, Y. C. 2003. Burrowing Nematode on Anthurium: Recognizing Symptoms, Understanding the Pathogen, and Preventing Disease. College of Tropical Agriculture and Human Resources, University of Hawai'i at Manoa. Plant disease, PD-24. Disponible en línea: <http://www.ctahr.hawaii.edu/oc/freepubs/pdf/PD-24.pdf>
- Verma, R. L., Sharma, C. R. 1999. Diseases of Horticultural Crops: Vegetables, Ornamentals, and Mushrooms. p. 288-289. Disponible en línea: <https://books.google.com.mx/books?id=90x6Ilw4UhkC&pg=PA289&lpg=PA289&>

dq=colletotrichum+psi+pat&source=bl&ots=eW-
k9Y2_9e&sig=xBSWtv0_Its_3PuX1vpGqNHvqkI&hl=es&sa=X&ei=a39eVZuSMt
GHYASG6IFw&ved=0CDsQ6AEwBzgK#v=onepage&q=colletotrichum%20psi%
20pat&f=false

Vilgalys, R. 2015. Conserved primer sequences for PCR amplification and sequencing from nuclear ribosomal RNA. Department of Biology. Duke University. Disponible en línea: [http://sites.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm#Small subunit RNA \(SR\) primer sequences](http://sites.biology.duke.edu/fungi/mycolab/primers.htm#Small_subunit_RNA_(SR)_primer_sequences):