

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO**  
**DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL**

**PATOGENICIDAD Y CONTROL INTEGRAL DE HONGOS  
FITOPATÓGENOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ Y TALLO  
DEL TOMATE ROJO EN COCULA GUERRERO.**

**TESIS**

Que como requisito parcial para obtener el grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL**

Presenta:

**PEDRO JESÚS PLANCARTE GALÁN**

Bajo la supervisión de: **Dr. MATEO VARGAS HERNÁNDEZ**



Chapingo, Estado de México, Diciembre de 2017



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

**PATOGENICIDAD Y CONTROL INTEGRAL DE HONGOS  
FITOPATÓGENOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ Y  
TALLO DEL TOMATE ROJO EN COCULA GUERRERO.**

Tesis realizada por el ING. PEDRO JESÚS PLANCARTE GALÁN bajo la supervisión del Comité Asesor indicado, aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

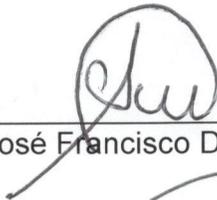
**MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL**

DIRECTOR:



Dr. Mateo Vargas Hernández

ASESOR:



M.C. José Francisco Díaz Nájera

ASESOR:



Dr. Marcelo Acosta Ramos

ASESOR:



Dr. Omar Guadalupe Alvarado Gómez

## Contenido General

Contenido General .....	ii
Lista de Cuadros .....	ix
Lista de Figuras .....	x
Dedicatorias .....	xi
Agradecimientos.....	xii
Datos biográficos.....	xiv
Resumen general .....	xv
<i>Abstract</i> .....	xvi
1 CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL.....	1
1.1 Objetivos.....	2
1.2 Hipótesis.....	2
2 CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA.....	3
2.1 Tomate Rojo ( <i>Solanum lycopersicum</i> L.).....	3
2.1.1 Importancia .....	3
2.1.2 Taxonomía .....	3
2.1.3 Origen y Distribución .....	4
2.1.4 Usos .....	4
2.1.5 Producción nacional.....	4
2.1.6 Ecología del cultivo .....	5
2.2 Manejo Integral de Plagas .....	5
2.3 Triangulo epidemiológico de la enfermedad .....	6
2.4 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (Sacc.) Snyder y Hansen .....	6

2.4.1	Importancia .....	6
2.4.2	Hospedantes .....	7
2.4.3	Distribución .....	7
2.4.4	Taxonomía .....	7
2.4.5	Morfología .....	8
2.4.6	Síntomas .....	8
2.4.7	Ciclo Biológico y Epidemiología .....	8
2.5	<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn .....	10
2.5.1	Importancia .....	10
2.5.2	Hospedantes .....	10
2.5.3	Distribución .....	10
2.5.4	Taxonomía .....	10
2.5.5	Morfología .....	10
2.5.6	Síntomas .....	11
2.5.7	Ciclo Biológico y Epidemiología .....	11
2.6	<i>Sclerotium rolfsii</i> Sacc.....	12
2.6.1	Importancia .....	12
2.6.2	Hospedantes .....	12
2.6.3	Distribución .....	12
2.6.4	Taxonomía .....	12
2.6.5	Morfología .....	12
2.6.6	Síntomas .....	13

2.6.7	Ciclo Biológico y Epidemiología .....	13
2.7	<i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goid. ....	13
2.7.1	Importancia .....	13
2.7.2	Hospedantes .....	14
2.7.3	Distribución .....	14
2.7.4	Taxonomía .....	14
2.7.5	Morfología .....	14
2.7.6	Síntomas .....	15
2.7.7	Ciclo Biológico y Epidemiología .....	15
2.8	Fungicidas .....	16
2.8.1	Inhibidores de Ácidos Nucleicos (Metalaxil-M).....	16
2.8.2	Inhibidores de la mitosis y división celular (Fluopicolide, Metil Tiofanato).....	16
2.8.3	Inhibidores de la respiración fuera de la quinona (Qol) (Piraclostrobina).....	17
2.8.4	Inhibidores de la demetilación (Prochloraz) .....	17
2.8.5	Inhibidores de la síntesis de aminoácidos y proteínas (Ciprodinil) .....	18
2.8.6	Transducción de señales .....	18
2.8.7	Inhibidores de la Síntesis de membranas y lípidos (Propamocarb y Quintozeno) .....	18
2.8.8	Inductores de Fitoalexinas (Fosetil-AI) .....	18
2.9	Control Biológico.....	19

2.9.1	Generalidades.....	19
2.9.2	Trichoderma spp. ....	19
2.10	Literatura citada.....	22
3	CAPÍTULO III. PATOGENICIDAD DE HONGOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ DEL TOMATE ROJO.....	26
3.1	Resumen .....	26
3.2	Abstract.....	27
3.3	Introducción .....	28
3.4	Objetivos.....	29
3.5	Hipótesis.....	29
3.6	Materiales y Métodos.....	29
3.6.1	Obtención de las cepas.....	29
3.6.2	Incubación.....	29
3.6.3	Incremento del inóculo .....	30
3.6.4	Conteo de las Unidades Formadoras de Colonia (UFC) .....	30
3.6.5	Pruebas de patogenicidad.....	31
3.7	Resultados y Discusión.....	31
3.8	Conclusiones. ....	34
3.9	Literatura citada .....	35
4	CAPÍTULO IV. CONTROL BIOLÓGICO <i>in vitro</i> DE HONGOS PATOGENOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ DEL TOMATE ROJO.....	37
4.1	Resumen .....	37

4.2	Abstract.....	38
4.3	Introducción .....	39
4.4	Objetivos.....	40
4.5	Hipótesis .....	41
4.6	Materiales y Métodos.....	41
4.6.1	Obtención de las cepas.....	41
4.6.2	Prueba de Metabolitos difusibles .....	41
4.6.3	Prueba de Micoparasitismo .....	43
4.7	Resultados y Discusión.....	44
4.7.1	Metabolitos difusibles .....	44
4.7.2	Micoparasitismo .....	47
4.8	Conclusiones .....	50
4.9	Literatura citada .....	52
5	CAPÍTULO V. CONTROL QUÍMICO <i>in vitro</i> DE HONGOS PATÓGENOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ DEL TOMATE ROJO.....	54
5.1	Resumen .....	54
5.2	Abstract.....	55
5.3	Introducción .....	56
5.4	Objetivos.....	57
5.5	Hipótesis .....	57
5.6	Materiales y Métodos.....	57
5.6.1	Tratamientos en estudio.....	57

5.6.2	Diseño y Unidad experimental .....	58
5.6.3	Técnica del medio del cultivo envenenado.....	58
5.6.4	Variables en estudio.....	58
5.6.5	Análisis estadístico.....	58
5.7	Resultados y Discusión.....	59
5.7.1	Análisis para cada patógeno .....	59
5.7.2	Análisis combinado .....	61
5.8	Conclusiones .....	62
5.9	Literatura citada .....	64
6	CAPÍTULO VI. CONTROL INTEGRADO DE PATÓGENOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ DEL TOMATE ROJO EN INVERNADERO Y CAMPO.....	66
6.1	Resumen .....	66
6.2	Abstract.....	67
6.3	Introducción .....	68
6.4	Objetivos.....	69
6.5	Hipótesis.....	69
6.6	Materiales y Métodos.....	70
6.6.1	Ensayo en invernadero .....	70
6.6.2	Ensayo en campo.....	73
6.7	Resultados y Discusión.....	75
6.7.1	Ensayo en invernadero .....	75

6.7.2	Ensayo en campo.....	78
6.8	Conclusiones .....	82
6.9	Agradecimiento.....	82
6.10	Literatura citada.....	83

## LISTA DE CUADROS

Cuadro 1. Cepas de <i>Trichoderma</i> spp utilizadas en los ensayos .....	41
Cuadro 2. Efecto <i>in vitro</i> de los compuestos difusibles y micoparasitismo de <i>Trichoderma</i> sobre hongos patógenos.....	51
Cuadro 3. Tratamientos y dosis utilizadas en el ensayo <i>in vitro</i> . .....	57
Cuadro 4. Efecto <i>in vitro</i> de fungicidas químicos sobre hongos patógenos. ....	62
Cuadro 5. Tratamientos y dosis utilizadas en el ensayo. ....	70
Cuadro 6. Escala arbitraria utilizada para el cálculo de la severidad. ....	72
Cuadro 7. Resultados de los análisis combinados en invernadero y campo. ...	81

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Porcentaje de la producción nacional por estados. ....	5
Figura 2. Izq.) Planta a los 50 días después de ser inoculada con <i>Macrophomina</i> . Der.) Planta sana. ....	32
Figura 3. A) Plantas sanas, plantas inoculadas con: B) la combinación de todos los hongos, C) <i>Macrophomina</i> , D) <i>Fusarium</i> , E) <i>Rhizoctonia</i> , F) <i>Sclerotium</i> , G) <i>Fusarium+Rhizoctonia</i> , H) <i>Fusarium+Sclerotium</i> , I) <i>Fusarium+Macrophomina</i> , J) <i>Rhizoctonia+Sclerotium</i> , K) <i>Rhizoctonia+Macrophomina</i> y L) <i>Sclerotium+Macrophomina</i> .....	33
Figura 4. Micoparasitismo de <i>Trichoderma</i> spp. contra <i>Rhizoctonia</i> .....	47
Figura 5. A) Tratamiento control de <i>Macrophomina</i> , y Derecha) el efecto antagónico de <i>Trichoderma</i> spp. sobre <i>Macrophomina</i> .....	48
Figura 6. A) Sportak, B) Cercobin-m, C) Ridomil® gold 480 SL, D) Switch® 62.5 WG, E) Rovral® 50 PH, F) Previcur® Energy energy, G) Headline®, H) Pentaclor 600 F e I) Control.....	60
Figura 7. Diagrama de la distribución del experimento en invernadero. ....	71
Figura 8. Síntomas en raíces, de acuerdo a la escala de severidad.....	73
Figura 9. Porcentaje de incidencia para los dos genotipos a los 27 ddt. ....	76

## **DEDICATORIAS**

### **A mis padres**

**Pedro Plancarte Mondragón y Rufina Galán Flores** que me dieron la vida, me han llenado de amor, que nunca me han dejado solo, que han sido mis amigos, mi sustento, que se han quitado el pan de la boca para que nunca me falte nada y que por ellos estoy cumpliendo una meta más en mi vida.

### **A mis hermanos**

**Yesenia Plancarte Galán, Mijail Aldair Plancarte Galán y Denilson Clarence Plancarte Galán**, por todo su apoyo incondicional.

## **AGRADECIMIENTOS**

Al **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACyT)**, por la beca económica brindada durante mis estudios de posgrado.

A la **Universidad Autónoma Chapingo**, especialmente al **Departamento de Parasitología Agrícola** y al programa de posgrado en **Protección Vegetal**, por todo el apoyo económico para viajes de estudio, congresos, alimenticio y de laboratorio, que fueron de gran utilidad para complementar mis estudios.

Al **Dr. Mateo Vargas Hernández** por todo su apoyo y ayuda en congresos y con la investigación, como profesor y director de tesis de investigación, por la ayuda con los análisis estadísticos de los datos obtenidos y la revisión de la tesis.

Al **Dr. Marcelo Acosta Ramos** por su apoyo incondicional como profesor, asesor y amigo, así como por facilitarme las instalaciones del laboratorio para poder realizar los experimentos pertinentes.

Al **M.C. José Francisco Díaz Nájera** gracias por su amistad brindada y todo el apoyo que me ha brindado desde hace ya algunos años, por la ayuda con la realización de la presente tesis y de proyectos en congresos como asesor.

Al **Dr. Omar G. Alvarado Gómez** por su apoyo y asesoría en la realización de la presente tesis.

Al **Dr. Sergio Ayvar Serna** por su amistad incondicional brindada y todo el apoyo dado para la realización de los ensayos de campo, así como también por impulsarme a seguir con los estudios de posgrado.

Al **Dr. Antonio Mena Bahena** gracias por todo el apoyo brindado para que la realización de este proyecto se haya cumplido, y más por la gran amistad que desde hace unos años me ha brindado.

A todos los **Profesores** que contribuyeron en mi educación de posgrado **y los laboratoristas**, por el gran apoyo incondicional brindado.

A **Mis grandes amigos incondicionales Arturo Peláez y Teresa Téllez**, porque me han brindado su gran apoyo en las buenas y en las malas, que más que unos amigos son como unos hermanos más.

A mis amigos **José Alfredo Flores Yáñez, José Adame Bores y Mauricio Salgado Ruíz**, por su gran amistad, la ayuda y todo el trabajo de campo realizado para que todo saliera bien.

A mis amigos **Cintha Fernández, Flor Hernández, Jessika Ordoñez, Javier Flores, Aldo Bustamante, José Bojórquez, Paola Cubillos, Eduardo Badillo, Adrián Delgadillo, Lucio, Dionicio, Maidana, Erick, Galaviz, Edgar, Pablo, Josafaht, Abraham, Humberto, Chuy, David, Gerardo, Mayra, Loya, Ezequiel y G** por su gran amistad y haber hecho mi estancia en Chapingo más amena.

## DATOS BIOGRÁFICOS



### Datos personales

Nombre: Pedro Jesús Plancarte Galán  
Fecha de nacimiento: 03 de diciembre de 1992  
Lugar de nacimiento: Chilpancingo de los Bravo, Guerrero, México  
No. Cartilla militar: D-1072521  
CURP: PAGP921203HGRLLD09  
Profesión: Ingeniero Agrónomo Fitotecnista  
Cedula profesional: 9655088

### Desarrollo académico

Bachillerato: Centro de Bachillerato Tecnológico Forestal N°5  
Licenciatura: Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero

## RESUMEN GENERAL

### PATOGENICIDAD Y CONTROL INTEGRAL DE HONGOS FITOPATÓGENOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ Y TALLO DEL TOMATE ROJO EN COCULA GUERRERO.

Es necesario generar un manejo eficaz para el control de patógenos del suelo que causan pudrición de raíz al tomate, por ello la realización de este estudio con los objetivos de: Comprobar la patogenicidad de hongos edáficos en tomate rojo; Definir el mejor control biológico y químico para los patógenos; y Determinar un manejo integral en invernadero y campo para el control de los hongos patógenos del suelo. Se realizó una prueba de patogenicidad con cuatro hongos patógenos en raíces de tomate, pruebas de control biológico *in vitro* a través de los ensayos de confrontación dual y del papel celofán, también una prueba de control químico, mediante el ensayo del medio envenenado, en los cuales se evaluó el % de inhibición. Se realizó un control integral de los patógenos *in vivo*, en condiciones de invernadero, se utilizaron dos genotipos, 8 tratamientos, se inocularon los patógenos, se evaluó el porcentaje de incidencia y severidad; también un ensayo en condiciones de campo donde se ocuparon nuevamente los dos genotipos, 7 tratamientos y se evaluó la incidencia. En el primer ensayo se encontró que las cuatro cepas fueron patogénicas, al inocularse en plantas de tomate; *Trichoderma virens* generó los mejores metabolitos difusibles para el control de los patógenos, mientras que *T. asperellum* fue el mejor micoparásito; en el control químico, los productos SPORTAK 45 CE , SWITCH® 62.5 WG y ROVRAL® 50 PH inhibieron en su totalidad a los patógenos; en el ensayo de invernadero y campo el tratamiento 6 (HEADLINE®, CERCOBIN-M, SWITCH® 62.5 WG , PENTACLOR 600 F y RIDOMIL® GOLD 480 SL), fue mejor estadísticamente que el resto de los tratamientos.

**Palabras clave:** *Fusarium*, *Sclerotium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, Control integral y Tomate

Tesis de Maestría en ciencias en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Pedro Jesús Plancarte Galán

Director de Tesis: Mateo Vargas Hernández

## Abstract

### PATHOGENICITY AND INTEGRATED CONTROL OF PHYTOPATHOGENIC FUNGI THAT CAUSE ROOT AND STEM ROT IN RED TOMATO IN COCULA GUERRERO

It is necessary to generate effective management for the control of soil pathogens that cause root rot in tomatoes. For that reason, this study was conducted in order to: test the pathogenicity of edaphic fungi in red tomato; define the best biological and chemical control for pathogens; and determine an integrated greenhouse and field management plan for the control of pathogenic soil fungi. A pathogenicity test was carried out with four pathogenic fungi on tomato roots, along with *in vitro* biological control tests through dual confrontation assays and cellophane paper, and a chemical control test, through the testing of the poisoned medium, in which the % inhibition was evaluated. An integrated pathogen control treatment was carried out *in vivo*. Under greenhouse conditions, two genotypes and 8 treatments were used. The pathogens were inoculated, and the percentage of incidence and severity were evaluated. Also, an assay was conducted under field conditions where the same two genotypes and 7 treatments were used. Incidence was again evaluated. In the first trial the four strains were found to be pathogenic when inoculated in tomato plants; *Trichoderma virens* generated the best diffusible metabolites for the control of the pathogens, while *T. asperellum* was the best mycoparasite; in the chemical control, the SPORTAK 45 CE, SWITCH® 62.5 WG and ROVRAL ® 50 PH products completely inhibited the pathogens; in the greenhouse and field trial, treatment 6 (HEADLINE®, CERCOBIN-M, SWITCH® 62.5 WG , PENTACLOR 600 F and RIDOMIL® GOLD 480 SL) was statistically better than the rest of the treatments.

**Keywords:** *Fusarium*, *Sclerotium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia*, Integral Control and Tomato

Master Science thesis in plant protection, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Pedro Jesús Plancarte Galán

Thesis Director: Mateo Vargas Hernández

## 1 CAPÍTULO I. INTRODUCCIÓN GENERAL

El tomate rojo (*Solanum lycopersicum* L.) es una hortaliza con escasas calorías, 100 g de tomate aportan solamente 18 kcal La mayor parte de su peso es agua y el segundo constituyente en importancia son los hidratos de carbono. Contiene azúcares simples que le confieren un ligero sabor dulce y algunos ácidos orgánicos que le otorgan el sabor ácido característico. El tomate rojo es una fuente importante de ciertos minerales (como el potasio y el magnesio). De su contenido en vitaminas destacan la B1, B2, B5 y C. Presenta también carotenoides como el licopeno (pigmento que da el color rojo característico al tomate). A demás la vitamina C y el licopeno son antioxidantes que retardan o previenen la oxidación de las moléculas en el ser humano (Gebhardt & Thomas, 2002).

El cultivo de tomate rojo es de las hortalizas más importantes en el mundo con una producción de casi 165 millones de toneladas con una productividad aproximada en miles de pesos de 60 millones (FAOSTAT, 2014). En México es la hortaliza más importante, ya que es de consumo diario en la dieta de los mexicanos; Se producen 2,320,109 t y un consumo per cápita de 14.66 kg año<sup>-1</sup>, se exportan 1,560,000 t y se importan 209,000 t de tomate rojo fresco; el mayor productor de tomate es el estado de Sinaloa con 550 mil t, el estado de Guerrero que tiene un buen potencial para la producción de tomate solo se producen aproximadamente 15 mil t (FAOSTAT, 2014; SIAP, 2014).

El aumento de la población, genera la preocupación sobre como abastecer el consumo de tomate rojo en México ya que, con una población de 120 millones de personas y un consumo de 1,759,200 t de tomate rojo al año en promedio, solo 969,109 t de tomate rojo quedan en el país, esta cantidad no es suficiente

para abastecer el mercado nacional; El estado de Guerrero puede tener un buen potencial para la producción de tomate ya que durante los meses más fríos del año cuando hay heladas en los estados como Sinaloa y Puebla que son de los mayores productores, Guerrero tiene las condiciones óptimas para la producción de esta hortaliza y además como la demanda es alta y la oferta baja el precio del producto aumenta y es ahí cuando los productores del estado de Guerrero deben aprovechar la ventana de mercado.

Las enfermedades de origen edáfico son un grave problema ya que logran provocar pérdidas de hasta el 80% en la producción del jitomate, son producidas por patógenos como: *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotium rolfsii*, *Phytophthora capsici*, *Pythium* sp, *Verticillium* sp y Nemátodos (Ramírez y Sáinz, 2010).

Para poder prevenir las pérdidas causadas por estos patógenos es necesario hacer uso racional de las distintas estrategias de control existentes, como lo son: El control genético, biológico, orgánico, químico, etc. Al utilizar diferentes métodos de control se evita que los patógenos generen resistencia, reduce sus poblaciones, es amigable con el medio ambiente y por otra parte los productos generados son inocuos.

## 1.1 Objetivos

- Comprobar la patogenicidad de *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina* en tomate rojo.
- Determinar que especie de *Trichoderma* spp. es más eficaz para el control biológico de *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina*.
- Evaluar productos químicos para el control de *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina* en condiciones *in vitro*, de invernadero y campo.
- Estudiar un manejo integral en invernadero y campo para el control de hongos edáficos patógenos del cultivo de tomate.

## 1.2 Hipótesis

- Los hongos utilizados en este estudio son patogénicos cuando son inoculados en plantas sanas de tomate rojo.
- El uso de *Trichoderma* spp. es una estrategia eficaz para el control *in vitro* de los cuatro patógenos.
- Los productos químicos controlan en su totalidad *in vitro* a *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina*.
- Los manejos planteados en invernadero y campo, reducen la incidencia y severidad de los hongos.

## 2 CAPÍTULO II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1 Tomate Rojo (*Solanum lycopersicum* L.)

#### 2.1.1 Importancia

El tomate rojo, es una de las hortalizas con mayor dinamismo; la producción de este commodity va en ascenso a nivel mundial, siendo china quien lidera la producción con 52.5 millones de t (Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics [FAOSTAT], 2014). En el Continente Americano, México es el tercer productor de esta hortaliza, siendo el principal exportador al gran mercado de Estados Unidos.

Por los altos estándares de producción que presenta el tomate mexicano, es una de las hortalizas con mayor demanda tanto a nivel nacional como internacional ya que cuenta con un alto grado de calidad e inocuidad que lo hacen una de las especies vegetales con más rendimiento y rentabilidad. En el país existen distintas variedades y tipos de tomate rojo, entre las más importantes están el jitomate cherry, saladette, tipo pera, bola y bola grande (Hydroenvironment, 2015).

#### 2.1.2 Taxonomía

La clasificación del tomate rojo (*Solanum lycopersicum* L.) según (National Science Foundation [NSF], 2009) es:

Reino: Plantae

División: Magnoliophyta

Clase: Magnoliopsida

Subclase: Asteridae

Orden: Solanales

Familia: Solanaceae

Género: *Solanum*

Especie: *Solanum lycopersicum* L.

### **2.1.3 Origen y Distribución**

El centro de origen del tomate rojo se localiza en la región de los Andes, integrada por Colombia, Bolivia, Chile y Perú, donde existe la mayor variabilidad genética y abundancia de tipos silvestres. Puede desarrollarse de forma rastrera, semierecta o erecta. Por otra parte, la evidencia histórica favorece a México como el centro más importante de la domesticación del tomate. Hecho ampliamente aceptado en el mundo científico, ya que la utilización de formas domesticas en nuestro país es muy antigua. Sus frutos eran bien conocidos y empleados como alimentos por las culturas indígenas que habitaban la parte centro y sur de México, quienes la llamaban en lengua náhuatl “tomatl”; en el siglo XVI fue llevado a Europa y en España e Italia comenzó a servir como alimento. En otros países europeos solo se utilizaban en farmacias y así se mantuvieron en Alemania hasta comienzos del siglo XIX. Los españoles y portugueses difundieron el tomate a Oriente Medio y África, y de allí a otros países asiáticos, y de Europa también se difundió a Estados Unidos y Canadá. En la actualidad el tomate se encuentra distribuido por todo el mundo (Ramírez y Sáinz, 2010).

### **2.1.4 Usos**

El tomate rojo tiene diferentes usos de los cuales destacan: el uso medicinal gracias a su alto contenido de minerales, vitaminas y antioxidantes; en la Industria en la elaboración de puré, pasta y salsas; y el uso más importante, en fruto fresco, que llega a la mesa de todas las familias en México, ya que es de uso cotidiano en la preparación y acompañamiento de muchos de los platillos mexicanos (Subsecretaría de Fomento a los Agronegocios [SFA], 2010).

### **2.1.5 Producción nacional**

En México se producen casi 2.3 millones de t, de las cuales Sinaloa produce 551 mil t, seguido de San Luis Potosí, Jalisco, Zacatecas, R. Lagunera, Baja California, Baja California Sur y Michoacán con: 195,795; 150,468; 145,432;

143,286; 135,741; 123,638 y 117,710 t respectivamente. El estado de Guerrero figura en el lugar 24 de la lista con una producción de 15 mil t, el 1% de la producción total del país (Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera [SIAP], 2014) (Figura 1).

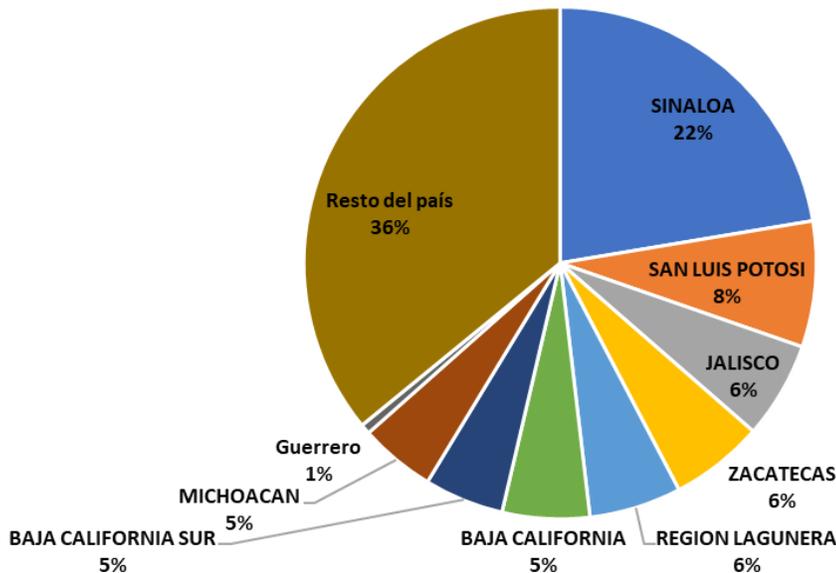


Figura 1. Porcentaje de la producción nacional por estados.

### 2.1.6 Ecología del cultivo

**Temperatura:** La temperatura óptima de desarrollo del tomate se sitúa en 23°C durante el día y entre 13-17°C durante la noche. **Humedad:** La humedad relativa óptima oscila entre un 60 y 80%. **Luminosidad:** Niveles de radiación diaria alrededor de 0.85 MegaJoules por metro cuadrado, son los mínimos para la floración y cuajado. **Suelo:** La planta de tomate se puede cultivar en cualquier tipo de suelo, pero se prefieren suelos profundos, margosos y bien drenados. Lo ideal es un suelo ligeramente ácido, con un pH de 6.2 a 6.8 (SFA, 2010).

### 2.1.7 Manejo Integral de Plagas

El manejo integral de plagas (MIP) es una estrategia de contención de plagas y enfermedades que busca maximizar las fuerzas naturales de control, como depredadores y parásitos, y utilizar otras tácticas sólo cuando sea necesario y

con un mínimo de perturbaciones ambientales (Glass, 1975; Barzman *et al.*, 2015).

**Control cultural:** Es la utilización de prácticas agrícolas ordinarias, o algunas modificaciones de ellas, con el propósito de contribuir a prevenir el ataque de patógenos, hacer el ambiente menos favorable para su desarrollo, destruir inóculos, destruir huéspedes secundarios y así disminuir la cantidad de enfermedad. **Control Genético:** La utilización de genotipos de plantas mejoradas genéticamente para que resistan o toleren el ataque de ciertos patógenos. **Control Biológico:** Es el uso de organismos (o de sus metabolitos o subproductos) que son enemigos naturales de una plaga o patógeno, con el fin de reducir o eliminar sus efectos dañinos en las plantas o sus productos. **Control Químico:** Consiste en la reducción de las poblaciones de plagas mediante el empleo de sustancias químicas diversas, cuyo uso se recomienda de manera selectiva (Serrano y Galindo, 2007).

## **2.2 Triángulo epidemiológico de la enfermedad**

Las enfermedades en las plantas ocurren cuando tres factores ocurren de forma simultánea como son la presencia del patógeno, las condiciones climáticas favorables y el huésped susceptible, en lo que se consideran vértices del triángulo de la enfermedad, sin embargo, después se agrega que esos tres factores tienen que estar juntos durante cierto tiempo para que ocurra la enfermedad por lo que ese triángulo se convierte con ese cuarto factor o vértice (el tiempo) en una pirámide triangular (Hernández, 2017).

## **2.3 *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen**

### **2.3.1 Importancia**

El género *Fusarium* es un hongo patogénico, necrológico, necrótrofo. *F. oxysporum* produce principalmente marchitamiento vascular en muchos cultivos, mientras que numerosas especies, especialmente *F. solani*, causan pudriciones

de raíces, tallos y semillas a causa de sus micotoxinas. *F. oxysporum* se compone de más de 120 formas especiales según los huéspedes infectados. Cada uno de ellos puede subdividirse en razas fisiológicas, cada una de las cuales muestra un patrón característico de virulencia en las variedades diferenciales del huésped (Agrios, 2005).

La marchitez vascular producida por *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyder y Hansen es la principal enfermedad que causa problemas en el cultivo del jitomate, disminuye en un 60% el rendimiento y afecta la calidad del producto (Jones, Jones, Stall, & Zitter, 1991).

### **2.3.2 Hospedantes**

Michelse & Rep (2009) mencionan que se han reportado más de 120 formas especiales de *F. oxysporum* diferentes, basadas en una amplia gama de familias hospedantes, por ejemplo: *F. oxysporum* ataca a la familia de las solanáceas, pero solo *F. oxysporum* f. sp. *lycopersici* ataca y causa síntomas en tomate rojo (*Solanum lycopersicum*). Sin embargo, algunas formas especiales tienen rangos de hospedantes más amplios, tales como *F. oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*, que al menos en los estudios en invernadero puede causar enfermedad en otras familias como: Leguminosae, Cucurbitaceae y Chenopodiaceae (Menzies, Koch & Seywerd, 1990; Kistler, 1997).

### **2.3.3 Distribución**

*Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* tiene una amplia distribución en el mundo se encuentra reportado en por lo menos 32 países (Jones *et al.*, 1991).

### **2.3.4 Taxonomía**

Reino: Fungi; Phylum: Ascomycota; Clase: Deuteromycete; Orden Hypocreales; Familia: Hypocreaceae; Genero: *Fusarium*; Especie: *Oxysporum*; Forma especial: *Lycopersici* y Nombre Binomial: *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Díaz de Castro, Restrepo, y Rojas, 2007).

### **2.3.5 Morfología**

El micelio es incoloro al principio, pero con el tiempo se vuelve de color crema, amarillo pálido, rosa pálido, o algo violáceo. El hongo produce tres tipos de esporas asexuales. Los microconidios, que tienen una o dos células. Los macroconidios son las típicas esporas de *Fusarium*; Son de tres a cinco células, tienen puntas gradualmente puntiagudas y curvadas. Las clamidosporas son esporas redondas de una o dos paredes, de espesor grueso, producidas dentro o en el extremo de micelios más antiguos (Agrios, 2005).

### **2.3.6 Síntomas**

Las hojas más antiguas muestran epinastia causada por la caída de los pecíolos. Las plantas infectadas en la etapa de la plántula se marchitan generalmente y mueren después de la aparición de los primeros síntomas. Las plantas más viejas en el campo pueden marchitarse y morir repentinamente si la infección es severa y si el tiempo es favorable para el patógeno. Más comúnmente, en las plantas más viejas, el aclaramiento de las venas y la epinastia de la hoja son seguidos por el retraso del crecimiento de las plantas, el amarillamiento de las hojas inferiores, la formación ocasional de raíces adventicias, el marchitamiento de las hojas y los tallos jóvenes y finalmente la muerte de la planta. A menudo estos síntomas aparecen en un solo lado del tallo y progresan hacia arriba hasta que el follaje y el tallo se mueren. En cortes transversales cerca de la base del tallo de la planta infectada, un anillo marrón es evidente en el área de los haces vasculares. La extensión ascendente de la decoloración depende de la gravedad de la enfermedad (Agrios, 2005).

### **2.3.7 Ciclo Biológico y Epidemiología**

Sobrevive en los restos vegetales infectados, en el suelo como micelio y en todas sus formas de esporas, pero más comúnmente como las clamidosporas en las

regiones templadas o más frías. Se disemina sobre distancias cortas por medio de agua y equipo agrícola contaminado y en largas distancias principalmente en trasplantes infectados o en el suelo llevado con ellos. Por lo general, una vez que una zona se infesta con *Fusarium*, permanece indefinidamente. Cuando las plantas sanas crecen en el suelo contaminado, el tubo germinativo de las esporas o el micelio penetra directamente en las raíces o entra en las raíces a través de heridas o en el punto de formación de las raíces laterales. El micelio avanza a través de la corteza de la raíz intercelularmente, y cuando llega a los vasos del xilema penetra en ellos a través de los pozos. El micelio permanece entonces exclusivamente en los vasos y viaja a través de ellos, principalmente hacia arriba, hacia el tallo y la corona de la planta. Mientras que, en los vasos, el micelio se ramifica y produce microconidios, que se desprenden y se llevan hacia arriba en la corriente de la savia. Los microconidios germinan en el punto en que su movimiento ascendente se detiene, el micelio penetra en la pared superior del vaso y se producen más microconidios en el vaso siguiente. El micelio también avanza lateralmente en los vasos adyacentes, penetrándolos a través de los pozos. Una combinación de los procesos discutidos anteriormente, producen, el taponamiento de los vasos por micelio, esporas, geles, gomas y tilosas y trituración de los vasos por proliferación de células de parénquima adyacentes. Cuando las hojas transpiran más agua que la que pueden absorber las raíces, los estomas se cierran y las hojas se marchitan y finalmente mueren, seguido por la muerte del resto de la planta. El hongo entonces invade todos los tejidos de la planta extensivamente, alcanza la superficie de la planta muerta, y allí esporula. Las esporas pueden ser diseminadas a nuevas plantas o áreas por el viento, el agua, etc. la temperatura óptima para la enfermedad es de 27-30°C. y los síntomas comienzan a los 20 días después del trasplante, donde se pueden notar un 10% de daños (Agrios, 2005; Leyva, Gonzales, Rodríguez, y Montalvo, 2013).

## **2.4 *Rhizoctonia solani* Kühn**

### **2.4.1 Importancia**

Se ha demostrado que causa pérdidas de más de 10% en sistemas de labranza convencional y 20 a 30% en sistemas de mínima o cero labranza en Estados Unidos. En Brasil, en conjunto con *Fusarium*, se tiene reportado un alcance del 60% (Harveson, 2011). La enfermedad es persistente, muy adaptable, versátil y con capacidad de causar daños importantes al tejido vegetal colonizado logrando ocasionar lesiones significativas en las raíces y el tallo (Yildiz & Timur, 2002).

### **2.4.2 Hospedantes**

El fitopatógeno *R. solani* puede atacar 250 especies de plantas y se presenta tanto en campo como en el sitio de almacenamiento de tubérculos que van a ser usados como material de propagación (Jager & Velvis, 1988).

### **2.4.3 Distribución**

Ogoshi (1987) reportó que *R. solani* se encontraba en todo el mundo por lo cual su distribución es cosmopolita.

### **2.4.4 Taxonomía**

Reino: Fungi; Phylum: Basidiomycota; Clase: Agarycomycetes; Orden: Polyporales; Familia: Ceratobasidiaceae; Genero: *Rhizoctonia*; Especie: *solani* y Nombre binomial: *Rhizoctonia solani* Kühn (National Center for Biotechnology Information [NCBI], 2014).

### **2.4.5 Morfología**

El micelio de *R. solani* es incoloro cuando joven, pero se torna amarillento o café claro a medida que madura, esta pigmentación varía entre distintos medios nutritivos, pero todas las colonias maduras muestran algún tono de color café. El micelio está constituido por largas células y se ramifica en ángulo recto desde la

hifa principal, con una ligera constricción en la ramificación y un septo cerca de este punto (Parmeter & Whitney, 1970).

#### **2.4.6 Síntomas**

El ahogamiento es quizá el síntoma más común que ocasiona *Rhizoctonia* en la mayoría de las plantas que afecta. Se produce principalmente en suelos fríos y húmedos. Las plántulas muy jóvenes pueden morir antes o poco después de que han emergido del suelo. Antes de que las plántulas emerjan, el hongo ataca y mata al ápice de crecimiento de ella, que muere entonces en poco tiempo. Sin embargo, las plántulas carnosas y gruesas, tales como la de las leguminosas y los brotes de los tubérculos de papa, pueden mostrar puntas muertas y lesiones muy marcadas de color café antes de su muerte. Una vez que las plántulas han emergido, el hongo ataca su tallo y lo hace aguanoso, blando e incapaz de sostener a la plántula, la cual se desploma y muere (Agrios, 2005).

#### **2.4.7 Ciclo Biológico y Epidemiología**

El patógeno pasa el invierno usualmente como micelio o esclerocios en el suelo o sobre plantas perennes infectadas o material de propagación. En algunos huéspedes el hongo puede incluso ser transportado en la semilla. Está presente en la mayoría de los suelos y, una vez establecido en un campo, permanece allí indefinidamente. El hongo se propaga con lluvia, riego, agua de inundación o mecánicamente. Para la mayoría de las razas del hongo la temperatura óptima para la infección es de unos 15 a 18 ° C, pero algunas razas son más activas a temperaturas mucho más altas, hasta 35 ° C. La enfermedad es más severa en suelos moderadamente húmedos que en suelos que están inundados o secos. La infección de las plantas jóvenes es más grave cuando el crecimiento de las plantas es lento debido a las condiciones ambientales adversas para la planta (Agrios, 2005).

## **2.5 *Sclerotium rolfsii* Sacc**

### **2.5.1 Importancia**

La marchitez sureña afecta a las plantas de tomate y muchas otras familias en los meses cálidos. Ocasionalmente causa pérdidas significativas en suelos altamente infestados (Ramírez y Sáinz 2010).

### **2.5.2 Hospedantes**

*S. rolfsii* Sacc. es uno de los hongos fitopatógenos habitantes de suelo de más amplio rango de hospedantes; se conocen alrededor de 500 especies de plantas susceptibles a su ataque, las cuales se ubican en alrededor de 100 familias, en su mayoría dicotiledóneas (Flores, Montes, Rogel y Martínez, 2008).

### **2.5.3 Distribución**

Comúnmente se encuentra en zonas tropicales, subtropicales y otras regiones de temperatura cálida. Especialmente en el sureste de USA, Centro y sur de América, África, India, Japón y países del sureste de Europa (Ferreira & Boley, 1992).

### **2.5.4 Taxonomía**

Reino: Fungi; División: Deuteromycota; Clase: Hyphomycetes; Orden: Mycelia Sterilia; Genero: *Sclerotium*; Especie: *rolfsii* y Nombre binomial: *Sclerotium rolfsii* (Noyd, 2000; Ulloa y Herrera, 1994).

### **2.5.5 Morfología**

Se caracteriza por su micelio blanco abundante, no forma esporas; pero produce numerosos esclerocios de color café oscuro (Agrios, 2005). Las hifas pueden ser de dos tipos: los principales que son grandes en comparación con otros hongos por que presentan de 5 a 9 micrones de diámetro, tienen paredes delgadas, son

hialinas y tienen conexiones en forma de gancho (Fíbulas) a nivel de las septas, características que permite identificar esta especie (Barnett & Hunter, 1987).

### **2.5.6 Síntomas**

Marchitamiento general de la planta, sin un cambio en el color del follaje, hasta que la planta muere. La base del tallo y parte de la raíz se cubren con un crecimiento micelial blanco, lo cual también ocurre en el suelo húmedo que rodea a la planta infectada. Incrustados en el micelio, se pueden observar los esclerocios color café del tamaño de una semilla de mostaza, los cuales son característicos de la enfermedad. Los frutos pueden infectarse si están en contacto con el suelo (Ramírez y Sáinz, 2010).

### **2.5.7 Ciclo Biológico y Epidemiología**

*S. rolfsii* se disemina por medio del agua, o al mover suelo infestado principalmente con implementos agrícolas. Sobrevive en forma de esclerocios y en residuos de plantas enfermas, o en hospedantes que sobreviven hasta la siguiente temporada del cultivo. Presumiblemente, primero excreta enzimas que disuelven la capa celular exterior antes de penetrar al hospedante. La enfermedad es más severa a temperaturas altas (30-35°C) y altos niveles de humedad, a los 4 días después del trasplante suele tenerse una incidencia del 40% de la enfermedad (Ramírez y Sáinz, 2010; American Phytopathological Society [APS], 2017).

## **2.6 *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid.**

### **2.6.1 Importancia**

*M. phaseolina* agente causal de la pudrición carbonosa, es un hongo patógeno con un amplio intervalo de hospedantes que ocurre en regiones con climas variados, desde áridos hasta tropicales. En México, se ha observado que *M.*

*phaseolina* causa daños significativos, principalmente en frijol común y algunas hortalizas (Makey, López, López, Cumpián y Acosta, 2001).

### **2.6.2 Hospedantes**

*M. phaseolina* tiene como hospedantes a más de 500 especies de plantas, entre ellas: frijol común, ajonjolí, berenjena, tomate rojo, sorgo, soya, etc. (Makey, López y Acosta 2002; Blancard, 2011).

### **2.6.3 Distribución**

*M. phaseolina* tiene una distribución cosmopolita, lo que indica que lo podemos encontrar en casi todo el mundo (Cabañas, Hernández y Makey, 2005).

### **2.6.4 Taxonomía**

Reino: Fungi; División: Ascomycota; Clase: Ascomycetes; Familia: Sphaeropsidales; Genero: *Macrophomina*; Especie: *phaseolina* y Nombre binomial: *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid (Martinez, Barrios, Rovesti y Santos, 2006).

### **2.6.5 Morfología**

Leyva, Velásquez, Tlapal, Tovar, Rosas y Alvarado (2015) reportaron que *M. phaseolina* tiene un crecimiento micelial denso, de aspecto veloso, de color gris oscuro al inicio y posteriormente se tornan de coloración negra. Microesclerocios de forma esférica a irregular, negros, lisos, duros y de 85-130  $\mu\text{m}$  de diámetro. Picnidios usualmente solitarios, globosos, negros, de 165-260  $\mu\text{m}$  y con ostiolo truncado. Las células conidiogénicas son hialinas, obpiriformes a subcilíndricas y se encuentran recubriendo la superficie interior del picnidio. Los conidios inmaduros fueron hialinos, cilíndricos a elipsoidales, unicelulares, de 10.64-19.56

× 3.91-6.45 µm. y conidios maduros de color café claro, con pared exterior de consistencia granular y con apéndices mucoides.

### **2.6.6 Síntomas**

Chancros negros, que aparecen bajo los cotiledones en el momento de la emergencia, podredumbres radiculares y del cuello en plántulas jóvenes en viveros o después de la plantación; una podredumbre de la corteza de las raíces y una degradación de la parte baja del tallo, tomando una coloración grisácea a negro en el interior. Muy frecuentemente, numerosos y pequeños esclerocios negros de 50 a 200 µm están presentes sobre y dentro de los tejidos lesionados. Además, las plantas son raquíticas, cloróticas, marchitas y pueden morir (Blancard, 2011).

### **2.6.7 Ciclo Biológico y Epidemiología**

*M. phaseolina* sobrevive como microsclerocios en el suelo y en los residuos de plantas infectadas. Los microclerocios sirven como fuente primaria de inóculo y se ha encontrado que persisten en el suelo hasta tres años. Los microsclerocios son estructuras negras, esféricas a oblongas que se producen en el tejido huésped y se liberan en el suelo a medida que la planta infectada se degrada. Estas estructuras multicelulares permiten la persistencia del hongo en condiciones adversas tales como bajos niveles de nutrientes del suelo y temperatura por encima de 30°C. La supervivencia se reduce en gran medida en suelos húmedos, a no más de 7 a 8 semanas y el micelio no más de 7 días. Las semillas también pueden llevar el hongo en la cutícula. Las semillas infectadas no germinan o producen plántulas que mueren poco después de la emergencia. La germinación de los microsclerocios, ocurre a temperaturas que van de 28 a 35 °C. Germinan en la superficie de la raíz, forman apresorios que penetran las paredes celulares epidérmicas del hospedante por la presión mecánica y la digestión enzimática o a través de aberturas naturales. Las hifas crecen primero intercelularmente en la corteza y luego intracelularmente a través del xilema.

Una vez en el tejido vascular, *M. phaseolina* se propaga a través de la raíz principal y el vástago inferior de la planta produciendo microesclerios que taponan los vasos. La tasa de infección aumenta con temperaturas altas y baja humedad del suelo aumentando la gravedad de la enfermedad. La pudrición ocurre a menudo cuando las plantas se someten a estrés por sequía. El taponamiento de los vasos del xilema por microsclerios, la producción de toxinas, la acción enzimática y la presión mecánica durante la penetración conducen al desarrollo de la enfermedad. La población de *M. phaseolina* en el suelo aumentará cuando los hospedantes sean cultivados en años sucesivos y puedan ser redistribuidos por prácticas de labranza (Dhingra y Sinclair, 1977; Wyllie, 1988).

## **2.7 Fungicidas**

### **2.7.1 Inhibidores de Ácidos Nucleicos (Metalaxil-M)**

En este grupo se encuentran las Phenyl Amides (Furalaxil, Metalaxil, Oxadixyl Benalaxil, Ofurace) los cuales afectan la síntesis de RNA y/o DNA. Estos compuestos son efectivos contra patógenos del orden de los Peronosporales. Estudios efectuados con isótopos radioactivos han demostrado que estos productos afectan la síntesis de RNA, con efecto secundario sobre la síntesis de otras macromoléculas. El grupo de las Phenyl Amides presentan alto riesgo de resistencia. Generalmente están en coformulación con fungicidas de amplio espectro con el fin de disminuir el riesgo a resistencia, también están clasificados, los grupos: Hidroxy- pirimidinas, Heteroaromaticos y los Acidos carboxílicos (Melgarejo y Abella, 2011)

### **2.7.2 Inhibidores de la mitosis y división celular (Fluopicolide, Metil Tiofanato)**

La tubulina (microtúbulos-cytoesqueleto), es una proteína importante en la formación y segregación de cromosomas en la división celular; la alteración de

esta afecta la mitosis a nivel de la metafase (El huso acromático es distorsionado y la separación del núcleo es suspendida, causando la muerte de la célula fungosa). Los benzimidazol, carbamatos, n-fenilcarbamatos, bloquean la  $\beta$ -tubulina e impiden la formación de los microtubulos. Las benzamidas, que desorganizan las espectrinas colapsando el citoesqueleto y con ello inhibiendo la división celular (Román, 2014).

### **2.7.3 Inhibidores de la respiración fuera de la quinona (QoI) (Piraclostrobina)**

Las estrobilurinas son compuestos relacionados con un metabolito secundario del hongo *Strobilurus tenacellus*. Actúan inhibiendo la respiración en un punto determinado (complejo del citocromo bc1), siendo por su sitio de acción clasificados como inhibidores QoI (Quinone Outside Inhibitors). Las estrobilurinas afectan germinación de esporas de *Venturia inaequalis*, *oidios*, *Septoria* spp., *Pyrenophora teres*, *P. grisea*, *R. solani*, *C. beticola*, *Alternaria* spp., *Phytophthora infestans* (Gepp y Mondino, 2016).

### **2.7.4 Inhibidores de la demetilación (Prochloraz)**

Actúan inhibiendo la biosíntesis de ergosterol (Fungicidas IBE), un esteroles que forma parte de las membranas de las células fúngicas. Comprende a los fungicidas inhibidores de la enzima esteroles C14-demetilasa, que cataliza la demetilación de C14 en la síntesis del ergosterol, y que recibe el nombre de inhibidores de la demetilación o DMI (DeMethylation inhibitors), se interrumpe la síntesis del ergosterol en la membrana celular, se acumulan esteroles intermedios tóxicos, aumenta la permeabilidad de la membrana y se interrumpe el crecimiento del hongo. En este grupo se encuentran las siguientes familias: piperacinas, piridinas, pirimidinas, imidazoles, anilopirimidinas, fenilpiroles y triazoles (Pérez, Fernández, De Vicente, Torres y López, 2005; Biasoli, 2016).

### **2.7.5 Inhibidores de la síntesis de aminoácidos y proteínas (Ciprodinil)**

El Ciprodinil, perteneciente al grupo químico de los anilino-pyrimidines, actúa inhibiendo la biosíntesis de la metionina, en el gen *cgs*, distinguido con el código D1 según la Fungicide Resistance Action Committee (Frac, 2017).

### **2.7.6 Transducción de señales**

El Fludioxonil, pertenece al grupo químico de los phenylpyrroles, que actúan inhibiendo las proteínas MAP, la histidina-quinasa en la transducción de señal osmótica (*os-2*, HOG1), distinguido con el código E2; El Iprodione, perteneciente al grupo químico dicarboximides, de igual forma inhibe las proteínas MAP, la histidina-quinasa solo que en la transducción de señal osmótica (*os-1*, Daf1) alterando la transducción de señales que inhiben los mecanismos metabólicos que permiten a la célula adaptarse a su entorno (Frac, 2017).

### **2.7.7 Inhibidores de la Síntesis de membranas y lípidos (Propamocarb y Quintozeno)**

En este grupo se incluyen productos que afectan la formación de glucolípidos en las membranas de las células de los hongos, lo cual provoca cambios en la permeabilidad de la misma y con ello el daño a las hifas (Melgarejo y Abella, 2011).

### **2.7.8 Inductores de Fitoalexinas (Fosetil-AI)**

Las Fitoalexinas son metabolitos, producto del estrés, inducidos por altos niveles de radiación ultravioleta, heridas, descenso de temperatura y por la aplicación de fungicidas tales como el Fosetil-AI. Las fitoalexinas se sintetizan en las células sanas adyacentes a las células dañadas y se acumulan tanto en tejidos necróticos resistentes, como susceptibles, es decir, se producen restringidamente en un sitio alrededor del lugar de infección. La resistencia ocurre

cuando una o más fitoalexinas alcanzan una concentración suficiente para inhibir el desarrollo del patógeno (García y Pérez, 2003; Agrios, 2005).

## **2.8 Control Biológico**

### **2.8.1 Generalidades**

El control biológico implica la reducción de las poblaciones plaga mediante el uso de enemigos naturales como parasitoides, depredadores, patógenos, antagonistas o competidores para disminuir las poblaciones de plaga. El control biológico es una opción práctica para regular las poblaciones de plaga debido a que: es fácil y seguro de usar, es un método de control rentable y amigable ambientalmente, especialmente en comparación con los plaguicidas utilizados frecuentemente, reduce el uso de plaguicidas convencionales, se puede implementar como parte de un programa de Manejo Integral de Plagas (MIP) y una vez establecidos, las poblaciones son autosostenibles (United States Department of Agriculture [USDA], 2016).

Las plagas o enfermedades tienen antagonistas que contribuyen a la atenuación de los daños que causan las enfermedades, en los agroecosistemas donde existan condiciones para su desarrollo y conservación. Para lograr este objetivo los microorganismos benéficos presentan diferentes modos de acción que les permiten ejercer su efecto biorregulador. Estos atributos y la capacidad de multiplicarse rápida y abundantemente, los hace ideales para su uso como agentes de control biológico (Fernández, 2001).

### **2.8.2 *Trichoderma* spp.**

Las cepas de *Trichoderma* ejercen varios mecanismos de acción involucrados en el antagonismo de hongos fitopatógenos, además de influir en el metabolismo de las plantas. El antagonismo depende de diversos genes involucrando señalización, antibiosis, transporte o micoparasitismo, de los cuales 44 y 26% de los genes identificados están relacionados con el micoparasitismo y antibiosis,

respectivamente. Mientras que la resistencia sistémica inducida, reprogramación genética/señalización y competencia representan solo el 12, 11, y 5% de los genes, respectivamente (Daguerre, Siegel, Edel-Hermann, & Steinberg, 2014).

La capacidad de *Trichoderma* de producir diversos metabolitos y de adaptarse a diversas condiciones ambientales y sustratos le confiere las características ideales como agente de control biológico (Martínez, Infante y Reyes, 2013).

### **Micoparasitismo**

Es un proceso complejo en la interacción antagonista-patógeno, que ocurre en cuatro etapas: Crecimiento quimiotrófico donde *Trichoderma* puede detectar a distancia a sus posibles hospedantes, Reconocimiento: Se considera que existe una alta especificidad del antagonista por su sustrato, Adhesión y enrollamiento: Ocurre por la asociación de un azúcar de la pared del antagonista con una lectina presente en la pared del patógeno y Actividad lítica: Producción de enzimas líticas extracelulares, fundamentalmente quitinasas, glucanasas y proteasas, que degradan las paredes celulares del patógeno y posibilitan la penetración de las hifas de *Trichoderma*. El micoparasitismo concluye con la pérdida del contenido citoplasmático de la célula hospedante, mostrando síntomas de disgregación. Diferentes interacciones hifales están involucradas en el micoparasitismo, tales como: enrollamiento, penetración, vacuolización, granulación, coagulación, desintegración y lisis (Martínez *et al.*, 2013).

### **Antibiosis**

*Trichoderma* tiene la capacidad de producir compuestos orgánicos volátiles, como 2-propanona, 2-metil-1-butanol, heptanal, octanal, nonanal y decanal. Y compuestos no volátiles, dentro de los cuales existe un gran número de compuestos de importancia en la actividad biorreguladora de patógenos, algunos de ellos son harzianolida, alameticina, tricolina, viridina, gliovirina, gliotoxina, 6-pentil- $\alpha$ -pirona, isonitrina, trichodermina, suzucacilina y trichorzianina. Estos compuestos juegan un papel importante inhibiendo el crecimiento y desarrollo de microorganismos patógenos. La combinación de enzimas líticas y antibióticos

resulta con un alto nivel de antagonismo frente a organismos patógenos (Castro y Rivillas, 2012).

### **Competencia**

Un factor esencial para que exista competencia es la escasez o limitación de un requerimiento (espacio y/o nutrientes), por lo que competencia puede definirse como el comportamiento desigual de dos o más organismos ante un mismo requerimiento, siempre y cuando la utilización del mismo por uno de ellos, reduzca la cantidad necesaria para los demás. La presencia de *Trichoderma* en suelos de todo el mundo es una evidencia, de que es un excelente competidor por espacio y recursos nutricionales, y de su plasticidad ecológica. La competencia por nutrientes de *Trichoderma*, es principalmente por carbono, nitrato y hierro. De forma general, las cualidades que favorecen la competencia de este antagonista son, la alta velocidad de crecimiento que posee gran parte de sus aislamientos y la secreción de metabolitos de diferente naturaleza, que frenan o eliminan a los competidores en el microambiente. Este modo de acción influye en bloquear el paso al patógeno y resulta importante para la diseminación del antagonista (Martínez *et al.*, 2013).

## 2.9 Literatura citada

- Agrios, G. N. (2005). *Plant Pathology*, (5ª ed.) Florida: ELSEVIER. 901 p.
- American Phytopathological Society. (2017). *Epidemiología de las Enfermedades de las Plantas. El Progreso de la Enfermedad*. Recuperado de la red: <http://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topics/Epidemiologia/Pages/ProgresoEnfermedad.aspx>. Fecha de consulta: 01/05/2017.
- Barnett, H. L., and Hunter, B. B. (1987). *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*. (4a ed.) New York, U.S.A.: Macmillan Publishing Company.
- Barzman, M., Bàrberi, P., Birch, A. N. E., Boonekamp, P., Dachbrodt-Saaydeh, S., Graf, B... Sattin, M. (2015). Eight principles of integrated pest management. *Agron. Sustain. Dev.* 35(2): 1199–1215.
- Biasoli, M. (2016). *Estructura y actividad de los antifúngicos*. Centro de Referencia de Micología. Recuperado de la red: <http://www.fbioyf.unr.edu.ar/evirtual/pluginfile.php/4130/course/section/1519/Estructura%20y%20actividad%20de%20los%20antifungicos.pdf>. Fecha de consulta: 10/07/2017.
- Blancard, D. (2011). *Enfermedades del Tomate. Identificar, Conocer, Controlar*. (2ª Ed). México: Ediciones Mundi-prensa.
- Castro, T. A. M., y Rivillas, O. C. A. (2012). *Trichoderma* spp. Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café. Cenicafé, Colombia: Espacio Gráfico Comunicaciones S.A.
- Daguerrre, Y., Siegel, K., Edel-Hermann, V., & Steinberg, C. (2014). Fungal proteins and genes associated with biocontrol mechanisms of soil-borne pathogens. *Fungal Biology Reviews* 28: 97-125.
- Díaz de Castro, F. J., Restrepo, M. A., y Rojas, W. (2007). *Microbiología de las infecciones humanas*. Corporación para investigaciones Biológicas. Medellín. Colombia: CIB.
- Dhinga, O. D., y Sinclair, J. B. (1977). Una bibliografía anotada de *Macrophomina phaseolina*. Universidad Federal de Vicosá, Minas Gerais, Brasil.
- Ferreira, A. S., & Boley, A. R. (1992). *Sclerotium rolfsii*. Department of Plant Pathology. University of Hawaii at Manoa. Recuperado de la red: [http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/crop/type/s\\_rolfs.htm](http://www.extento.hawaii.edu/Kbase/crop/type/s_rolfs.htm).
- Fernández, L. V. O. (2001). Microorganismos antagonistas para el control Fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas (Costa Rica)* 62:96-100.
- Flores, M. H. E., Montes, B. R., Rogel, H. A., y Martínez, R. M. E. (2008). Diversidad Genética de *Sclerotium rolfsii* Sacc. en México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 26(1).
- Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics. (2014). *Producción mundial de tomate rojo*. Recuperado de la red:

<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC/visualize>. Fecha de consulta 01/03/2017.

- Fungicide Resistance Action Committee. (2017). FRAC Code List ©\*2017: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). Recuperado de la red: <http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2017-final.pdf>. Fecha de consulta: 01/03/2017.
- García, M. R., y Pérez, L. R. (2003). FITOALEXINAS: MECANISMO DE DEFENSA DE LAS PLANTAS. *Revista Chapingo. Serie Ciencias Forestales y del Medio Ambiente* 9(1):5-10.
- Gebhardt, E. S., & Thomas, G. R. (2002). Nutritive Value of Foods. Departamento de agricultura de los Estados Unidos. Servicio de Investigación Agrícola.
- Gepp, V., y Mondino, P. (2016). Fungicidas. Universidad de la República. Facultad de Agronomía. Departamento de Protección Vegetal. Unidad de Fitopatología. 7 p.
- Glass, E. H. (1975). Integrated pest management: rationale, potential, needs and implementation. *Entomol. Soc. Am. Special Publ.* 75-2. 141 pp.
- Harveson, R. M. 2011. Soilborne Root and Stem Diseases of Dry Beans in Nebraska. University of Nebraska. Descargado de la red: <http://extension.unl.edu/publications>. Fecha de consulta 16/03/2017.
- Hernández, F. (2017). La Pirámide de las Enfermedades de las Plantas en los Invernaderos y a Campo Abierto en las Zonas Tropicales. de la red: [http://www.agro-tecnologiatropical.com/piramide\\_de\\_la\\_enfermedad.html](http://www.agro-tecnologiatropical.com/piramide_de_la_enfermedad.html). Fecha de consulta: 01/08/2017.
- Hydroenvironment. (2015). IMPORTANCIA DEL CULTIVO DE JITOMATE EN MÉXICO. Recuperado de la red: <http://hidroponia.mx/importancia-del-cultivo-de-jitomate-en-mexico/>. Fecha de consulta: 01/08/2017.
- Jager, G., & Velvis, H. (1988). Inactivation of sclerotia of *Rhizoctonia solani* on potato tubers by *Verticillium biguttatum*, a soil-borne mycoparasite. *Netherland Journal of Plant Pathology* 94(5): 225-231.
- Jones, J. B., Jones, J. P., Stall, R. E. & Zitter, T. A. (1991). Compendium of Tomato Diseases, *American Phytopathological Society*, St. Paul, MN, USA. 46 pp.
- Kistler, H. C. (1997). Genetic Diversity in the Plant-Pathogenic Fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 87(4): 474-479.
- Leyva, M. S. G., Gonzales, S. C. M., Rodríguez, P. J. E., y Montalvo, H. D. (2013). COMPORTAMIENTO DE LÍNEAS AVANZADAS DE TOMATE (*Solanum lycopersicum* L.) A FITOPATÓGENOS EN CHAPINGO, MÉXICO. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 19(3): 301-313.
- Leyva, M. S. G., Velásquez, M. G. C., Tlapal, B. B., Tovar, P. J. M., Rosas, S. G. H., y Alvarado, G. O. G. (2015). Caracterización morfológica y molecular

- de aislados de *Macrophomina phaseolina* asociados a cana~ de azúcar en México. *Revista Argentina de Microbiología* 57(2): 143-147.
- Martínez, B., Infante, D., y Reyes, Y. (2013). *Trichoderma* spp. y su función en el control de plagas en los cultivos. *Revista de Protección Vegetal de la Habana* 28(1).
- Martinez, G. E., Barrios, S. G., Rovesti, L., y Santos P. R. (2006). Manejo integrado de plagas. Manual práctico. Cuba: Centro Nacional de Sanidad Vegetal (CNSV).
- Mayek, P. N., López, C. C., López, S. E., Cumpián, G. J., y Acosta, G. J. A. (2001). RESISTENCIA A *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. EN FRIJOL COMÚN ENCONDICIONES DE CAMPO EN MÉXICO. *Agrociencia* 35(6): 649-661.
- Mayek, P. N., López, C. C., y Acosta, G. J. A. (2002). REACCIÓN DE GERMOPLASMA DE *Phaseolus* sp. A *Macrophomina phaseolina*. *Revista Fitotecnia Mexicana* 25(1): 35-42.
- Melgarejo, G. J., y Abella, P. F. (2011). MECANISMO DE ACCIÓN DE LOS FUNGICIDAS. *Revista Ventana al Campo* 11: 193-202.
- Menzies, J. G., Koch, C., y Seywerd, F. (1990). Additions to the host range of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici*.
- Michielse, C. B. and Rep, M. (2009). Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology* 10(3): 311-324.
- Muñoz-Cabañas, R. M, Hernández, D. S., y Mayek, P. N. (2005). Análisis patogénico y genético de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en diferentes hospedantes. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23(1): 11-18.
- National Center for Biotechnology Information. (2014). Database fungi. Recuperado de la red: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. Fecha de consulta 16/03/2017.
- National Science Foundation. (2009). Taxonomía. *Solanum lycopersicum* L. descargado de la red: <http://solanaceaesource.org/solanaceae/solanum-lycopersicum-0>. Fecha de consulta: 01/03/2017.
- Noyd, K. R. (2000). Mycology reference cards. St Paul, Minnesota. U.S.A.: APS press.
- Ogoshi, A. (1987). Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraespecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. *Ann. Rev. Phytopathol.* 25: 125-143.
- Parmeter, J., & Whitney, H. (1970). Taxonomy and nomenclature of the imperfect stage. U.S.A. Univ. California: Berkeley.
- Pérez, G. A., Fernández, O. D., De Vicente, A., Torres, J. A., López, R. F. J. (2005). Resistencia a Inhibidores de la biosíntesis de ergosterol y a estrobirulinas en oídio de cucurbitáceas. *Revista Phytoma* 173.

- Ramírez, V. J., y Sáinz, R. R. A. (2010). Manejo Integrado de las Enfermedades del Tomate. (3ª ed.). México: Once Ríos Editores.
- Román, A. (2014). Modos y mecanismos de acción de los fungicidas. Control de Enfermedades I. ESCUELA SUPERIOR POLITECNICA DE CHIMBORAZO. FACULTAD DE CIENCIAS AGRONOMICAS. ESCUELA DE INGENIERIA AGRONOMICA. Riobamba.
- Serrano, C. L. y Galindo, F. E. (2007). Control biológico de organismos fitopatógenos: un reto multidisciplinario. 13 pp.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2014). Avance de Siembras y Cosechas, Resumen nacional por cultivo. Recuperado de la red:[http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola\\_siap\\_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do](http://infosiap.siap.gob.mx:8080/agricola_siap_gobmx/AvanceNacionalSinPrograma.do). Fecha de consulta: 01/03/2017.
- Subsecretaría de Fomento a los Agronegocios. (2010). Monografía de Cultivos (Jitomate). Recuperado de la red:<http://www.sagarpa.gob.mx/agronegocios/Documents/pablo/Documentos/Monografias/Jitomate.pdf>. Fecha de consulta: 01/03/2017.
- Ulloa, M. y Herrera, T. 1994. Etimología e iconografía de géneros de hongos. México: Universidad Autónoma de México, Instituto de Biología.
- United States Department of Agriculture. (2016). Biological Control Program. Recuperado de la red:[https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/planthealth/sa\\_domestic\\_pests\\_and\\_diseases/sa\\_bio\\_control](https://www.aphis.usda.gov/aphis/ourfocus/planthealth/sa_domestic_pests_and_diseases/sa_bio_control). Fecha consulta: 23/08/2017.
- Wyllie, T. D. (1988). Carbón vegetal de soja-estado actual. En las enfermedades de la soja de la región centro-norte. St. Paul, MN.: APS Press.
- Yildiz, A. & Timur, M. (2002). Anastomosis group determination of *Rhizoctonia solani* Kühn (Teleomorph: *Thanatephorus cucumeris*) isolates from tomatoes grown in Aydin, Turkey and their disease reaction on various tomato cultivars. J. *Phytopathology* 150:526-528.

### 3 CAPÍTULO III. PATOGENICIDAD DE HONGOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ DEL TOMATE ROJO

#### 3.1 Resumen

El diagnóstico correcto de las enfermedades es el principal factor para la realización adecuada de un manejo o control de éstas. El objetivo de este estudio fue comprobar la patogenicidad de 4 hongos patógenos en tomate rojo. Las cepas *Fusarium oxysporum* (KJ652223.1), *Rhizoctonia solani* (KX592586.1), *Sclerotium rolfsii* (KX757771.1) y *Macrophomina pseudophaseolina* (KX757770.1), fueron obtenidas del laboratorio de Fitopatología del Colegio Superior Agropecuario del estado de Guerrero, identificadas y confirmadas por PCR y secuenciación de DNA con el algoritmo BLAST en NCBI (Base de datos de MycoBank, International Mycological Association). Se cultivaron en Papa Dextrosa Agar (PDA) para incrementar su población, la concentración de Unidades Formadoras de Colonia (UFC) se determinó usando una cámara Neubauer. Para comprobar la patogenicidad se inocularon 55 plantas, 5 plantas o repeticiones para cada hongo y sus posibles combinaciones, inoculando  $2 \times 10^6$  UFC para cada planta. Se comprobó la patogenicidad de los hongos a través de los postulados de Koch, ya que las plantas inoculadas presentaron los síntomas característicos de clorosis, marchitamiento y muerte, y los hongos aislados del tejido infectado fueron las mismas cepas inoculadas. Los hongos: *F. oxysporum*, *R. solani*, *S. rolfsii* y *M. pseudophaseolina* son patogénicos al ser inoculados en plantas sanas de tomate rojo.

**Palabras clave:** *F. oxysporum*, *R. solani*, *S. rolfsii*, *M. pseudophaseolina*, Patógeno y Morfología.

Tesis de Maestría en ciencias en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Pedro Jesús Plancarte Galán

Director de Tesis: Mateo Vargas Hernández

### 3.2 Abstract

The correct diagnosis of diseases is the main factor for an adequate management or control. The objective was to verify the pathogenicity of 4 fungal pathogens in tomato. Strains of *Fusarium oxysporum* (KJ652223.1), *Rhizoctonia solani* (KX592586.1), *Sclerotium rolfsii* (KX757771.1) and *Macrophomina pseudophaseolina* (KX757770.1), were obtained from the Phytopathology laboratory of the Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, identified and confirmed using PCR, sequencing of DNA and the BLAST algorithm NCBI (database MycoBank, International Mycological Association). Fungi were cultivated on potato dextrose Agar (PDA) for the increase of its population, the concentration of Colony Forming Units (CFU) was determined using a Neubauer camera. To check the pathogenicity were inoculated 55 plants, 5 plants or replications for each fungus and their possible combinations, by inoculating  $2 \times 10^6$  CFU for each plant. The pathogenicity of fungi found through Koch's postulates, inoculated plants showed the characteristic symptoms of chlorosis, wilting and death, and the fungi isolated from infected tissue were the same as the strains inoculated. The fungi: *F. oxysporum*, *R. solani*, *S. rolfsii* and *M. pseudophaseolina* are pathogenic when inoculated in healthy red tomato plants.

**Keywords:** *F. oxysporum*, *R. solani*, *S. rolfsii*, *M. pseudophaseolina*, pathogen, morphology.

Master's in science in plant protection thesis, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Pedro Jesús Plancarte Galán

Thesis Director: Mateo Vargas Hernández

### 3.3 Introducción

El tomate rojo es una de las hortalizas más importantes en México en el consumo nacional, ya que para los mexicanos esta hortaliza no debe de faltar en la canasta básica, para la preparación de platillos típicos y salsas. Además, esta hortaliza es importante en el mercado internacional, ya que México es el principal exportador de tomates frescos, en 2013 se exportaron 1.5 millones de t. con un ingreso en miles de dólares de 1.8 millones al País (FAOSTAT, 2013).

Por otra parte, este cultivo tiene una gama de problemas fitosanitarios, que reducen drásticamente los rendimientos, uno de los principales problemas son las enfermedades causadas por patógenos edáficos, que pueden reducir los rendimientos hasta en un 80%.

Para aplicar medidas de manejo o control y evitar pérdidas, es indispensable la identificación apropiada de las enfermedades y de los agentes causales. Por ello, el diagnóstico es uno de los aspectos más importantes ya que una identificación errónea provocaría pérdidas económicas mayores. El diagnóstico correcto puede hacerse de dos formas: por observación directa del tejido infectado y cultivando los patógenos en medio sintético (Sosa, Perdomo, Brathwaite y Salazar, 1997), y a través de la identificación molecular.

Para determinar el agente causal de una enfermedad, no es suficiente haber aislado al organismo patógeno de los tejidos afectados y haberlo identificado, debe demostrarse que ese organismo está involucrado en dicha enfermedad. Para esto es obligatorio realizar los postulados de Koch, que permiten establecer la relación patógeno-enfermedad. Estos postulados 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 produzcan los síntomas de la enfermedad en las plantas inoculadas artificialmente, y que pueda ser nuevamente aislado el mismo organismo patógeno de los tejidos enfermos (Sosa *et al*, 1997).

### 3.4 Objetivos

Los objetivos de este estudio fueron:

- Comprobar la patogenicidad de *F. oxysporum*, *R. solani*, *S. rolfsii* y *M. pseudophaseolina* en plantas de tomate rojo.
- Verificar si los patógenos son más agresivos al inocularlos solos o combinados.

### 3.5 Hipótesis

- Las especies de hongos estudiados son patogénicos para el cultivo del tomate rojo.
- Al inocular la combinación de todos los hongos estudiados los síntomas y la muerte de las plantas se presentan más rápido.

### 3.6 Materiales y Métodos

#### 3.6.1 Obtención de las cepas

Las cepas de *Fusarium oxysporum* (KJ652223.1) (Díaz, Vargas, Leyva, Ayvar, Michel & Alvarado, 2014), *Rhizoctonia solani* (KX592586.1) (Ayvar, Díaz, Vargas, Mena, Alvarado, Vargas y Tejeda, 2016), *Sclerotium rolfsii* (KX757771.1) (Díaz, Sahagun, Vargas, Ayvar, Alvarado, Acosta, Villanueva & Pérez, 2016) y *Macrophomina pseudophaseolina* (KX757770.1) (Ayvar, Díaz, Flores, Mena, Alvarado & Vargas, 2016), fueron obtenidas del laboratorio de Fitopatología del Colegio Superior Agropecuario del estado de Guerrero, México, aisladas del municipio de Cocula, Guerrero. Identificadas y confirmadas por PCR y secuenciación con el algoritmo BLAST en la base de datos del NCBI (2017).

#### 3.6.2 Incubación

Cada hongo se sembró en 5 cajas Petri con PDA adicionado con ácido láctico y se incubaron a  $25 \pm 2^\circ$  C para pruebas posteriores.

### 3.6.3 Incremento del inóculo

Se utilizaron granos de avena con glumas y lemmas, las cuales se colocaron en un contenedor de dos litros, se añadió aproximadamente 500 mL. de avena y agua ajustando a un litro de capacidad. Se mezcló para liberar las burbujas de aire y humedecer totalmente los granos de avena con glumas y lemmas. Se colocó a 5° C durante 24 h. para lixiviar los compuestos fenólicos. Posteriormente se drenó el agua y de 5 a 10 min, se envolvió la avena con gasas y se exprimió hasta que no se pudo liberar más agua. La avena con glumas y lemmas ya drenada se colocó en matraces Erlenmeyer y frascos de vidrio los cuales se llenaron y se sellaron con un tapón de algodón y se esterilizaron en la autoclave durante 60 min, dos días consecutivos. Se inocularon con discos de PDA con micelio, a razón de 15 discos en cada frasco con avena. El material inoculado se agitó para obtener una buena distribución del inóculo y se incubó por 15 días (Leslie y Summerell, 2006; Bateman, 2005).

### 3.6.4 Conteo de las Unidades Formadoras de Colonia (UFC)

Se pesó un gramo de granos de avena con glumas y lemmas previamente inoculado e incubado de cada patógeno, se depositaron en un vaso de precipitado, se agregaron 8 mL de agua destilada estéril y 2 mL de hipoclorito de sodio y se agitó y homogenizó la mezcla, se tomó una alícuota de 1 mL, y se realizaron 3 diluciones en tubos de ensayo con 9 mL de agua esterilizada, de la última dilución se tomó 1mL de la mezcla para realizar el conteo en la cámara de Neubauer. Se realizaron tres repeticiones, se obtuvieron valores promedio de 3.5, 3, 4.1 y 3.2  $\times 10^6$  UFC de *M. pseudophaseolina*, *R. solani*, *Fusarium* y *S. rolfsii*, respectivamente. Para calcular la concentración de inóculo en la avena infestada se utilizó la siguiente fórmula (Benítez, 2002 y Izurieta, 2011): **UFC<sub>T</sub> = (UFC<sub>N</sub>) (10,000) (100)** donde: UFC<sub>T</sub> = Total de Unidades Formadoras de Colonias, UFC<sub>N</sub> = Unidades Formadoras de Colonias contadas en la cámara de Neubauer, 10,000 = Constante y 100 = Factor utilizado para la dilución 2.

### 3.6.5 Pruebas de patogenicidad

Se utilizaron plantas sanas de tomate de un mes de edad, las cuales se trasplantaron en vasos con capacidad de un litro con sustrato previamente esterilizado y seis gramos de inóculo ( $21 \times 10^6$ ,  $18 \times 10^6$ ,  $24.6 \times 10^6$  y  $19.2 \times 10^6$  UFC de *M. pseudophaseolina*, *R. solani*, *Fusarium* y *S. rolfsii* respectivamente, a temperatura ambiente  $20 \pm 2^\circ$  C. La inoculación se realizó de la siguiente forma: 5 plantas inoculadas con: 1) *Fusarium*, 2) *Sclerotium*, 3) *Macrophomina*, 4) *Rhizoctonia*, 5) *Fusarium* + *Rhizoctonia*, 6) *Fusarium* + *Sclerotium*, 7) *Fusarium* + *Macrophomina*, 8) *Rhizoctonia* + *Sclerotium*, 9) *Rhizoctonia* + *Macrophomina*, 10) *Sclerotium* + *Macrophomina*, 11) combinación de todos los hongos.

Una vez que las plantas inoculadas presentaron síntomas y que una planta mostró marchitez severa, se extrajo la raíz, se prepararon cámaras húmedas y se comprobó la presencia de los fitopatógenos para finalizar el protocolo de los postulados de Koch (Agrios, 2005).

### 3.7 Resultados y Discusión

Existió un sinergismo en la patogenicidad en las plantas que se inocularon con la combinación de todos los hongos, ya que presentaron más rápido los síntomas y su muerte en un aproximado de 20 a 25 días (Figura 3 A); seguido de las plantas donde solo se inoculó a *Fusarium*, las cuales presentaron los primeros síntomas a los 5 días, y posteriormente su muerte en aproximadamente 25 a 30 días; las demás plantas inoculadas murieron alrededor de 30 días, a excepción de las plántulas inoculadas con *Macrophomina* que presentaron los mayores síntomas hasta los 30 días y la muerte a partir de los 50 días después de la inoculación (ddi) (Figura 2). Fernández, Guerrero, Rueda y Acosta (2013), al inocular *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* en plantas de tomate obtuvieron un 100% de incidencia a los 30 días después de la inoculación, la misma cantidad de días que en este ensayo.

Apodaca, Zavaleta, Osada y García, (2001) al comparar distintas temperaturas en la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* obtuvieron que a 18° C los síntomas aparecen a los 5 días después de la inoculación, resultados similares a los de este bioensayo. Dal bello (1987) reportó que *Sclerotium* y *Rhizoctonia* presentaron los primeros síntomas a los 7 y 20 ddi respectivamente en tomate. Por otra parte se puede notar que *Macrophomina* tiene una mayor patogenicidad al inocularlo solo que al inocularlo en combinación (Figura 3), datos que concuerdan con los reportados por Pedroza, Castillo y Samaniego (2000), donde demuestran que existe una reducción de la patogenicidad, ya que al inocular solo a *Macrophomina* obtuvieron un 68% de muerte mientras que en las combinaciones: *Rhizoctonia* + *Macrophomina*, *Fusarium* + *Macrophomina* y *Rhizoctonia* + *Fusarium* + *Macrophomina* obtuvieron un 59, 56 y 50% respectivamente.



Figura 2. Izq.) Planta a los 50 días después de ser inoculada con *Macrophomina*.  
Der.) Planta sana.

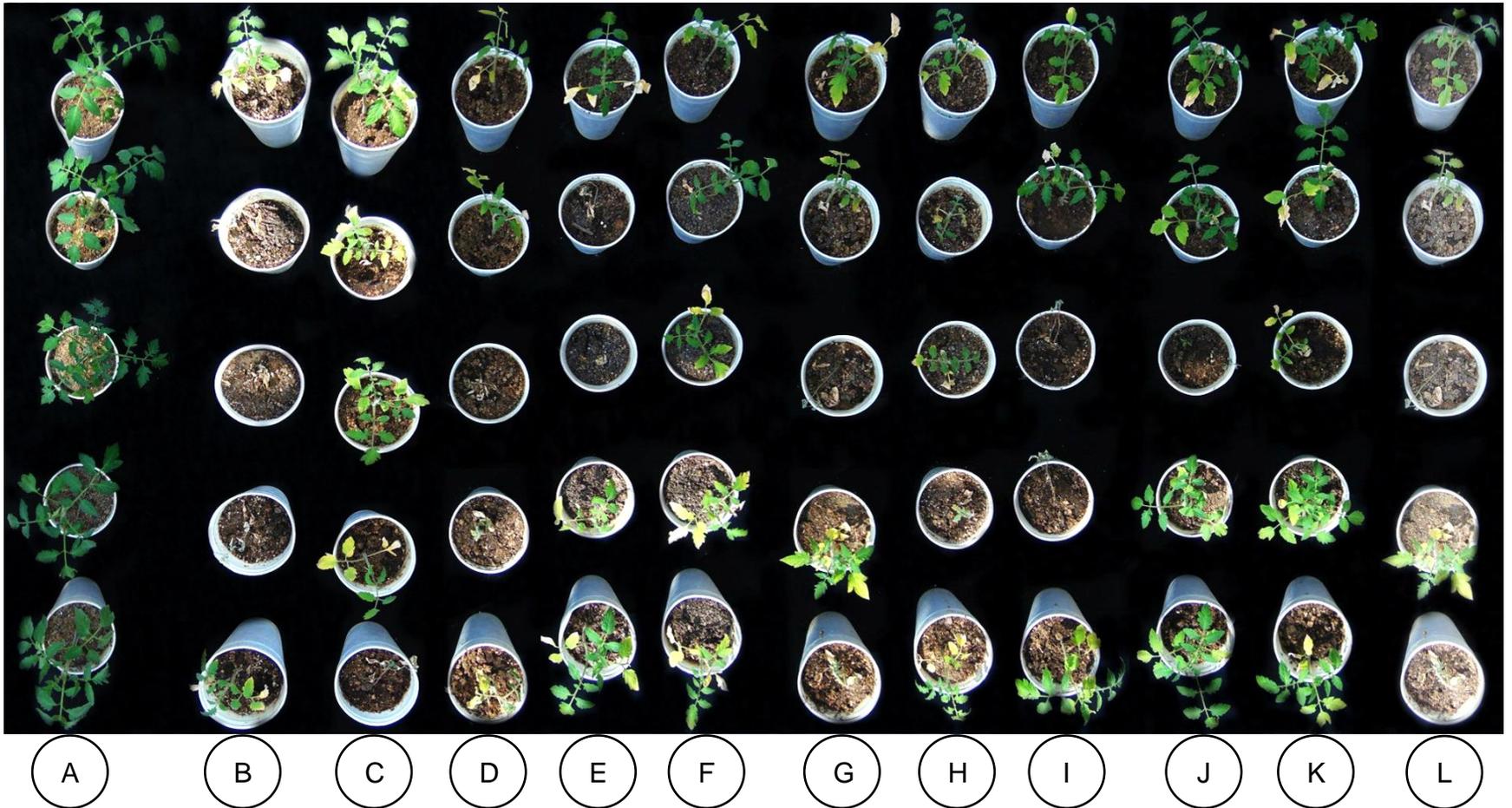


Figura 3. A) Plantas sanas, plantas inoculadas con: B) la combinación de todos los hongos, C) *Macrophomina*, D) *Fusarium*, E) *Rhizoctonia*, F) *Sclerotium*, G) *Fusarium*+*Rhizoctonia*, H) *Fusarium*+*Sclerotium*, I) *Fusarium*+*Macrophomina*, J) *Rhizoctonia*+*Sclerotium*, K) *Rhizoctonia*+*Macrophomina* y L) *Sclerotium*+*Macrophomina*

### 3.8 Conclusiones.

Los resultados de este bioensayo indican que:

- *F. oxysporum*, *R. solani*, *S. rolfsii* y *M. pseudophaseolina*, son patogénicos al inocularse en plantas de *Solanum lycopersicum*.
- La patogenicidad más severa se mostró en la interacción de todos los patógenos.
- *F. oxysporum* mostró mayor patogenicidad que los demás hongos cuando se inocula solo.
- La patogenicidad de los hongos probados en este bioensayo depende del tipo de asociación de patógenos y en campo de las condiciones ambientales en que se desarrolle el cultivo, dificultando la posibilidad de obtener un comportamiento estándar.

### 3.9 Literatura citada

- Agrios, G. N. (2005). Plant pathology, (5<sup>a</sup> ed.) Departamento de Patología Vegetal. Universidad de Florida: ELSEVIER.
- Apodaca, S. M. A., Zavaleta, M. E., Osada, K. S., y García, E. R. (2001). Comparación de técnicas para evaluar *in vitro* la patogenicidad de *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* y efecto de la temperatura. Revista Mexicana de Fitopatología, 19(2): 197-202.
- Ayvar, S. S., Diaz, N. J. F., Flores, Y. J. A., Mena, B. A., Alvarado, G. O. G. and Vargas, H. M. (2016). *Macrophomina pseudophaseolina* strain CSAEGro-chADMf 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; and internal transcribed spacer 1, 5.8S ribosomal RNA gene, and internal transcribed spacer 2, complete sequence. Recuperado de la red: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KX757770.1>. Fecha de consulta 30/08/2017.
- Ayvar, S. S., Diaz, N. J. F., Vargas, H. M., Mena, B. A., Alvarado, G. O. G., Vargas, N. R. and Tejeda, R. M. A. (2016). *Rhizoctonia solani* strain AYSDIN 18S ribosomal RNA gene, partial sequence; internal transcribed spacer 1 and 5.8S ribosomal RNA gene, complete sequence; and internal transcribed spacer 2, partial sequence. Recuperado de la red: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KX592586.1>. Fecha de consulta 30/08/2017.
- Bateman, L. G. (2005). The contribution of ground-level inoculum of *Fusarium culmorum* to ear blight of winter wheat. Plant Pathology 54(3): 299-307.
- Benitez, N. (2002). Manual de Laboratorio de Microbiología. Departamento de biología. Universidad del Valle. Cali. Colombia.
- Dal Bello, G. M. (1987). Hongos fitopatógenos en suelos de la región hortícola platense: estudios cualitativos y de patogenicidad. Ciencia del suelo 5(2).
- Díaz, N. J. F., Sahagun, C. J., Vargas, H. M., Ayvar, S. S., Alvarado, G. O. G., Acosta, R. M., Villanueva, V. C. and Perez, G. M. (2016). *Athelia rolfsii* strain CSAEGro-CaDIA internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence. Recuperado de la red: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KX757771.1>. Fecha de consulta 30/08/2017.
- Díaz, N. J. F., Vargas H. M., Leyva M. S. G., Ayvar S. S., Michel A. A. C. and Alvarado G. O. G. (2014). *Fusarium* sp. Capip4 internal transcribed spacer 1, partial sequence; 5.8S ribosomal RNA gene and internal transcribed spacer 2, complete sequence; and 28S ribosomal RNA gene, partial sequence. Recuperado de la red: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/KJ652223.1>. Fecha de consulta 30/08/2017.

- Fernández, H. E., Guerrero, R. J. C., Rueda, P. E. O., y Acosta, R. M. (2013). PATÓGENOS Y SÍNTOMAS ASOCIADOS A LA MARCHITEZ DEL TOMATE (*SOLANUM LYCOPERSICUM* L.) EN TEXCOCO MÉXICO. *Biotecnia* 15(2).
- Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics. (2013). Datos de comercio, Cultivos y productos de Ganadería. Exportaciones. Recuperado de la red: <http://www.fao.org/faostat/es/#data/TP>. Fecha de consulta: 30/08/2017.
- Izurieta, C. N. (2011). Recuento bacteriano. Laboratorio de bacteriología y micología. Recuperado de la red: <https://es.slideshare.net/nataliaizurieta/laboratorio-no-4-recuento-bacteriano-7723447>. Fecha de consulta: 07/09/2017.
- Leslie, J. F., & Summerell, B. A. (2006). *The Fusarium Laboratory Manual*. Kansas Agricultural Experiment Station, Manhattan. 388 p.
- National Center for Biotechnology Information. (2017). Search database. Nucleotide. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/?term=>.
- Pedroza, S. A., Castillo, T. H. E., Samaniego, G. J. A. (2000). Evaluación patogénica de diferentes hongos asociados a la pudrición de la raíz en dos variedades de frijol y distintos contenidos de humedad edáfica. *Revista Chapingo Serie Zonas Aridas*.
- Sosa, M. C., Perdomo, R. F., Brathwaite, C. W. D., y Salazar, C. J. J. (1997). TÉCNICAS PARA EL DIAGNÓSTICO DE LAS ENFERMEDADES DE LAS PLANTAS. Diagnóstico Fitosanitario II. México: IICA.

## 4 CAPÍTULO IV. CONTROL BIOLÓGICO *IN VITRO* DE HONGOS PATOGENOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ DEL TOMATE ROJO.

### 4.1 Resumen

Debido a que el control biológico se ha vuelto de gran importancia hoy en día para dejar atrás muchos de los fungicidas químicos que afectan al medio ambiente, se generó la realización de este experimento con los objetivos de: Evaluar la antibiosis y micoparasitismo de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Macrophomina*; y comparar el efecto antagónico de cepas nativas de *Trichoderma* vs cepas comerciales. La evaluación de los metabolitos difusibles se realizó mediante la prueba del papel celofán descrita por Dennis & Webster (1971), el micoparasitismo se evaluó mediante la técnica propuesta por Dhingra & Sinclair (1995) y el antagonismo mediante la escala de Bell, Wells & Markham (1982). La cepa *Trichoderma virens* fue la que produjo los metabolitos más eficaces logrando un 87.6% de inhibición sobre las cepas patógenas. Para el caso del micoparasitismo, la cepa nativa *T. asperellum* Santa Teresa fue la cepa que logró un mayor parasitismo (37.9%) sobre las cepas patógenas; para el caso de la escala de antagonismo, las cepas comerciales *T. virens* y *harzianum* lograron parasitar por completo todas las cepas patógenas. *T. virens* produce los metabolitos difusibles más eficaces para el control de los 4 patógenos, para el caso del parasitismo la mejor cepa fue *T. asperellum*, y las cepas nativas fueron más eficaces que la cepa *T. reesei*.

**Palabras clave:** *Trichoderma harzianum*, *T. virens*, *T. asperellum*, antagonismo y parasitismo.

Tesis de Maestría en ciencias en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Pedro Jesús Plancarte Galán

Director de Tesis: Mateo Vargas Hernández

## 4.2 Abstract

Due to the fact that biological control has become of great importance today in order to leave behind many of the chemical fungicides that affect the environment, the realization of this experiment was generated with the objectives: To evaluate the antibiosis and mycoparasitism of *Trichoderma* spp. on *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* and *Macrophomina*; and to compare the antagonistic effect of native strains of *Trichoderma* vs commercial strains. The evaluation of the diffusible metabolites was performed using the cellophane test described by Dennis & Webster (1971), myoparasitism was evaluated by the technique proposed by Dhingra & Sinclair (1995) and the antagonism by the Bell, Wells & Markham (1982). The strain *Trichoderma virens* was the one that produced the most effective metabolites achieving an 87.6% inhibition on the pathogenic strains. In the case of mycoparasitism, the native strain *T. asperellum* Santa Teresa was the most parasitic (37.9%) on the pathogenic strains. In the case of the scale of antagonism, commercial strains *T. virens* and *harzianum* managed to parasitize completely all the pathogenic strains. *T. virens* produced the most effective diffusible metabolites for the control of the 4 pathogens, while for the parasitism the best strain was *T. asperellum*, and the native strains were more effective than the *T. reesei* strain.

**Keywords:** *Trichoderma harzianum*, *T. virens*, *T. asperelum*, antagonism and parasitism.

Master's in science in plant protection thesis, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Pedro Jesús Plancarte Galán

Thesis Director: Mateo Vargas Hernández

### 4.3 Introducción

El control biológico es la supresión de las poblaciones plaga por organismos vivos. Estos organismos pueden proporcionar una protección importante contra las especies invasoras y proteger nuestro medio ambiente, reduciendo la necesidad de plaguicidas (Heimpel & Mills, 2017).

El uso del control biológico es probablemente tan antiguo como la historia de la agricultura. Las pinturas rupestres chinas muestran claramente que los patos se utilizaban para consumir plagas en la base de las plantas en los arrozales, una técnica todavía en uso en China hoy en día. Sin embargo, el primer caso bien documentado de control biológico ocurrió en 1762, cuando el ave Mynah (*Gracula religiosa*) fue traída de la India a Mauricio para consumir langostas. En la década de 1770, se desarrolló en Myanmar (Birmania) la práctica de creación de pistas de bambú entre los árboles de cítricos para permitir a las hormigas moverse entre los árboles más libremente para el control de orugas (Emden & Service, 2004).

Hoy en día, dentro de la gran diversidad biótica nativa del suelo se encuentra un grupo de microorganismos que son benéficos para la agricultura, como bacterias, micorrizas y algunas especies de hongos. Éstos permiten en parte, aumentar el crecimiento y desarrollo de las plantas, y, por otro lado, protegerlas del ataque de organismos del suelo que causan enfermedades. Los hongos benéficos actúan como biorreguladores de patógenos. Este efecto es aprovechado por el hombre para la regulación de estos organismos no deseados cuyo hábitat puede ser el suelo, las raíces o la parte aérea de las plantas. Los microorganismos antagonistas contribuyen a atenuar los daños causados por las enfermedades en los agroecosistemas donde existan condiciones para su crecimiento, desarrollo y conservación. Para lograr esto, los microorganismos benéficos presentan diferentes modos de acción, que les permite ejercer ese efecto biorregulador de patógenos, aspecto que sumado a la capacidad de multiplicarse abundantemente les confiere una característica importante para ser seleccionados como agentes de control biológico. Respecto a los mecanismos de acción que intervienen en las interacciones entre los antagonistas y los patógenos, están la antibiosis, la

competencia por espacio y nutrientes, las interacciones directas con el patógeno (micoparasitismo y lisis enzimática) y la inducción de resistencia en las plantas (Howel, 2003).

Dentro del grupo de organismos antagonistas de patógenos, se destaca la utilización de bacterias como *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Pasteuria* y *Streptomyces*. Las especies de hongos más utilizadas para combatir enfermedades de fitopatógenos son: *Trichoderma*, *Paecilomyces*, *Gliocladium* y *Verticillium*. Las especies pertenecientes al género *Trichoderma* se presentan de forma natural en la mayoría de los suelos de uso agrícola, teniendo una gran capacidad de adaptación a diferentes ambientes, como condiciones de luz, temperatura, pH y humedad, además tienen una alta capacidad reproductiva, habilidad para colonizar raíces, acción como inductor de resistencia sistémica en la planta, capacidad de afectar una amplia gama de hongos patógenos, además, no son tóxicos para los humanos, animales y plantas, y no contaminan el ambiente. Pueden ser aplicados desde la etapa de semillero, al trasplante y en la plantación definitiva. Todas estas características le confieren a *Trichoderma* spp. la capacidad de ser utilizado como agente de control biológico contra hongos patógenos en la agricultura (Castro y Rivillas, 2012).

#### **4.4 Objetivos**

Por las características deseables que tiene *Trichoderma* spp. como agente de control biológico se realizó este bioensayo con los objetivos de:

- Evaluar la antibiosis de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Macrophomina*.
- Determinar el micoparasitismo y competencia de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Macrophomina*.
- Comparar el efecto antagónico de las cepas de *Trichoderma* nativas vs las cepas comerciales.

## 4.5 Hipótesis

- Las cepas de *Trichoderma* producen metabolitos con efecto antagónico sobre *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Macrophomina*.
- Las cepas de *Trichoderma* tienen efecto micoparasítico y de competencia contra *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y *Macrophomina*.
- Las cepas nativas de *Trichoderma* son mejores antagonistas que las cepas comerciales.

## 4.6 Materiales y Métodos

La presente investigación se realizó en el laboratorio de Posgrado en Protección Vegetal, del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo.

### 4.6.1 Obtención de las cepas

Las cepas de *Trichoderma* utilizadas se muestran en el cuadro 1, las cepas nativas Cocula y Santa Teresa fueron proporcionadas de la colección del laboratorio de fitopatología del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, mientras que las cepas patógenas fueron las descritas en el capítulo III.

Cuadro 1. Cepas de *Trichoderma* spp utilizadas en los ensayos

Cepa/Trat.	Simbología*	Nombre comercial	Nombre científico
T-22	T-22	PHC® T-22®	<i>Trichoderma harzianum</i>
RootMate	Root	PHC® ROOTMATE®	<i>Trichoderma virens</i>
<i>fasiculatum</i>	Fas	FITHAN®	<i>Trichoderma fasiculatum</i>
<i>reesei</i>	Ress	BACTIVA®	<i>Trichoderma reesei</i>
Santa Teresa	St		<i>Trichoderma asperellum</i>
Cocula	Co		<i>Trichoderma asperellum</i>

\*Forma como se denominará de ahora en adelante en el texto a los tratamientos

### 4.6.2 Prueba de Metabolitos difusibles

Se llevó a cabo utilizando el método del celofán (Dennis & Webster, 1971), que se describe a continuación: papel celofán estéril cortado a la medida de la caja Petri (8 cm de diámetro) se colocó en condiciones asépticas sobre el medio Papa

Dextrosa Agar (PDA); inmediatamente se inoculó cada caja en la parte central sobre el papel celofán con discos de 1 cm de diámetro con uno de los diferentes aislados de *Trichoderma* spp. de 5 días de edad, cultivados en PDA. Después de la inoculación, las cajas se incubaron a 25 °C, 12 horas luz/oscuridad por 72 h; pasado este tiempo, el papel celofán con el crecimiento del hongo antagonista se retiró cuidadosamente para evitar que se contaminara el medio de PDA con los conidios de *Trichoderma*, inmediatamente se inoculó nuevamente en el centro de la misma caja Petri, con un disco de 1 cm de los hongos patógenos. El cultivo se incubó a 25 °C, y el diámetro de la colonia se midió cada 24 horas hasta que los testigos cubrieron totalmente la caja Petri.

### **Variable en estudio**

El porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio de los patógenos, se calculó con la fórmula propuesta por Patil, Waghmo, Gaikwad, Gajbhiye, Gunjal, Nawani and Kapadnis, (2014): % inhibición=  $\frac{(D1-D2)}{D1} \times 100$  en donde, D1 = Diámetro de la colonia del patógeno creciendo sobre el PDA y D2 = Diámetro de la colonia de patógeno creciendo sobre el PDA con los metabolitos que dejó *Trichoderma* al desarrollarse sobre el papel celofán.

### **Diseño Experimental y Tratamientos**

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar (DBCA) con 6 tratamientos (Cuadro 1) y cuatro repeticiones, lo cual dio origen a 24 unidades experimentales las cuales fueron cajas Petri con un diámetro de 8 cm y altura de 1 cm.

### **Análisis estadístico**

Se realizaron análisis de varianza individuales para cada hongo, usando un modelo lineal general correspondiente a un DBCA; análisis combinado a través de los cuatro hongos patógenos considerando un modelo correspondiente a un diseño en parcelas divididas, donde las parcelas grandes fueron los hongos y las parcelas chicas fueron las 6 cepas de *Trichoderma*. Se realizaron también pruebas de comparaciones múltiples de medias usando el método de la diferencia significativa honesta de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), así como tres pruebas de

contrastes que fueron: i) El promedio de Santa Teresa + Cocula (cepas nativas) versus las cepas comerciales; ii) Santa Teresa versus las cepas comerciales y iii) Cocula versus las cepas comerciales. Todos los análisis se realizaron usando el software estadístico SAS v9.4 (2017).

#### **4.6.3 Prueba de Micoparasitismo**

Para comprobar el efecto micoparasítico de *Trichoderma* spp sobre los patógenos se utilizó la técnica de cultivos duales (Dhingra & Sinclair, 1995; Rahaman, Begum & Alam, 2009).

Se prepararon cajas Petri de 8 cm de diámetro con PDA, en las cuales se puso un disco de 1 cm con cada patógeno activo, colocándose a 2 cm de la periferia; de igual forma se colocó un disco de PDA más *Trichoderma* a 2 cm de la periferia justo enfrente del disco con el patógeno. Se incubaron a 25 °C. y se midió el crecimiento radial en cm de ambas colonias cada 24 h.

#### **Variable de estudio**

Las lecturas de crecimiento radial fueron transformadas en porcentajes de inhibición usando la formula desarrollada por Skidmore & Dickinson (1976):  $P.I. = ((R1 - R2)/R1) \times 100$  Donde, R2 = Crecimiento radial del patógeno en confrontación con *Trichoderma*, y R1 = Crecimiento radial del patógeno en el tratamiento control.

Las cepas se caracterizaron de acuerdo a la clasificación de antagonismo de Bell, Wells & Markham (1982), donde 1 = *Trichoderma* crece completamente sobre el patógeno y cubre por completo la superficie del medio, 2 = *Trichoderma* crece sobre el patógeno y las dos terceras partes de la superficie del medio, 3 = *Trichoderma* y el patógeno colonizan cada uno aproximadamente la mitad de la superficie y ningún organismo parece dominar al otro, 4 = El patógeno coloniza las dos terceras partes de la superficie del medio y parece resistir a la invasión de *Trichoderma* y 5 = El patógeno crece sobre *Trichoderma* y ocupa la superficie total del medio.

## **Diseño experimental, tratamientos y análisis estadístico**

Se utilizó un diseño de bloques completos al azar con 6 tratamientos (Cuadro 1) y cuatro repeticiones, lo cual dio origen a 24 unidades experimentales, las cuales fueron cajas Petri con un diámetro de 8 cm y altura de 1 cm. El análisis estadístico se realizó mediante las pruebas estadísticas mencionadas para la prueba de metabolitos difusibles.

### **4.7 Resultados y Discusión**

#### **4.7.1 Metabolitos difusibles**

##### **Análisis para cada patógeno**

###### *Fusarium.*

Existió diferencia altamente significativa ( $P < 0.0001$ ) entre los tratamientos aplicados a *Fusarium*, siendo *Trichoderma virens* quien logró inhibir su desarrollo en un 83.1% seguido de la cepa nativa Santa Teresa con un 71.1% (Cuadro 2), mientras que el tratamiento *Trichoderma fasciculatum* fue el que inhibió en menor cantidad con un 57.4%, sin embargo son porcentajes más altos que los presentados por Michel, Otero, Rebolledo, Lezama y Ochoa (2005), donde las quitinasas y glucanasas producidas por *T. harzianum* inhibieron un 38% en promedio.

En los contrastes realizados no se observaron diferencias significativas lo que indica que las cepas nativas con un promedio de inhibición de 84.2% tienen igual eficacia que las cepas comerciales (79.96%) para el control de *Fusarium*.

###### *Macrophomina.*

Existió diferencia altamente significativa ( $P < 0.0001$ ) en efecto de la antibiosis de *Trichoderma* spp. contra *Macrophomina*, siendo *T. harzianum* y *T. virens* las cepas que inhibieron su desarrollo en un 100% (Cuadro 2) seguido de Santa Teresa y *T. reesei* con un 98.6%, *T. fasciculatum* con 97.6% y por último Cocula

con un 97.2%, esta inhibición fue más alta que la reportada por Flores (2017), donde el mayor porcentaje que obtuvo fue de 47.3% de la cepa *T. reesei*, y similares a los reportados por Aponte, Salazar, Alcano, Sanabria, Guzmán y Gámez (2012), donde *T. harzianum*, *T. crassum* y *T. longibrachiatum* disminuyeron en 97.08, 96.03 y 83.54%, respectivamente el crecimiento de *M. phaseolina*. Se observó que existió diferencia altamente significativa en los tres contrastes realizados, ( $P < 0.0001$ ) entre cepas nativas y comerciales, ( $P = 0.0152$ ) entre Santa Teresa y cepas comerciales; y ( $P < 0.0001$ ) entre Cocula y cepas comerciales (Cuadro 2).

#### *Rhizoctonia*.

No existieron diferencias significativas de los efectos antagónicos entre *Trichoderma* spp. pero las cepas nativas Cocula y Santa Teresa fueron las que tuvieron un mayor grado de inhibición con un 75.7 y 71.1%, respectivamente (Cuadro 2), similares al de las especies *T. asperillum* (74.4%), *T. harzianum* (67.8%) y *T. gamsii* con un 75.62% (Asad, Ali, Hammed, Khan, Ahmad, Bilal, Shahzad, & Tabassum, 2014; Annes, Tronsmo, Edel, Hjeljord, Heraud & Steinberg, 2010). Mientras que *T. fasciculatum*, *T. harzianum*, *T. virens* y *T. reesei* con un 70.4, 69.7, 68.7 y 64.5%, respectivamente (Figura 4). En los contrastes realizados se observó diferencia significativa ( $P = 0.0332$ ) entre cepas nativas y comerciales, indicando que las cepas nativas con 73.4% de inhibición fueron mejores que las cepas comerciales (68.32%), en el contraste Santa Teresa contra cepas comerciales no hubo diferencia significativa, pero si en el contraste entre Cocula y cepas comerciales ( $P = 0.0190$ ), lo que indica que solo la cepa Cocula con un 75.7% de inhibición fue mejor que las cepas comerciales.

#### *Sclerotium*

Existió diferencia significativa ( $P = 0.0144$ ), notándose que los efectos de los tratamientos Cocula, *T. virens*, Santa Teresa, *T. harzianum* y *T. fasciculatum* fueron estadísticamente no diferentes entre sí, variando de 95 a 98% de inhibición (Cuadro 2), pero diferentes con respecto a *T. reesei* el cual solo inhibió a *Sclerotium* en un 54.6%. Los mayores porcentajes de inhibición fueron similares

a los reportados por Fuentes (2016) donde *T. virens* y *T. asperellum* inhibieron en un 97.7 y 95.5% respectivamente.

En los contrastes no existieron diferencias significativas ( $P = 0.0831$ ), lo que indica que el efecto antagonico de las cepas comerciales y las nativas fueron estadísticamente no diferentes.

### **Análisis combinado a través de los Patógenos y Antagonistas**

Existió diferencia altamente significativa ( $P < 0.0001$ ), entre los hongos patógenos, siendo *Fusarium* el hongo más tolerante al efecto de los metabolitos difusibles de *Trichoderma* spp., logrando un promedio de desarrollo *in vitro* de 33.5%, en un análisis combinado Bojórquez (2017) encontró que *Fusarium* aislado de tomate fue la cepa que resistió más a la aplicación de metabolitos secundarios de origen vegetal; mientras que *Macrophomina* fue el patógeno que solo logró tener una tolerancia de 1.3%; por otra parte, al analizar el efecto de los metabolitos de *Trichoderma* spp. sobre los cuatro patógenos, se observó que existieron diferencias altamente significativas ( $P < 0.0001$ ), donde hubo una variabilidad de inhibición que fue de 70.8% de *T. reesei*, a 87.6% de *T. virens*; al realizar la prueba de Tukey se observó que no hubo diferencias entre las cepas *T. virens*, Santa Teresa, Cocula, *T. harzianum* y *T. fasciculatum*, pero si con *T. reesei* (Cuadro 2).

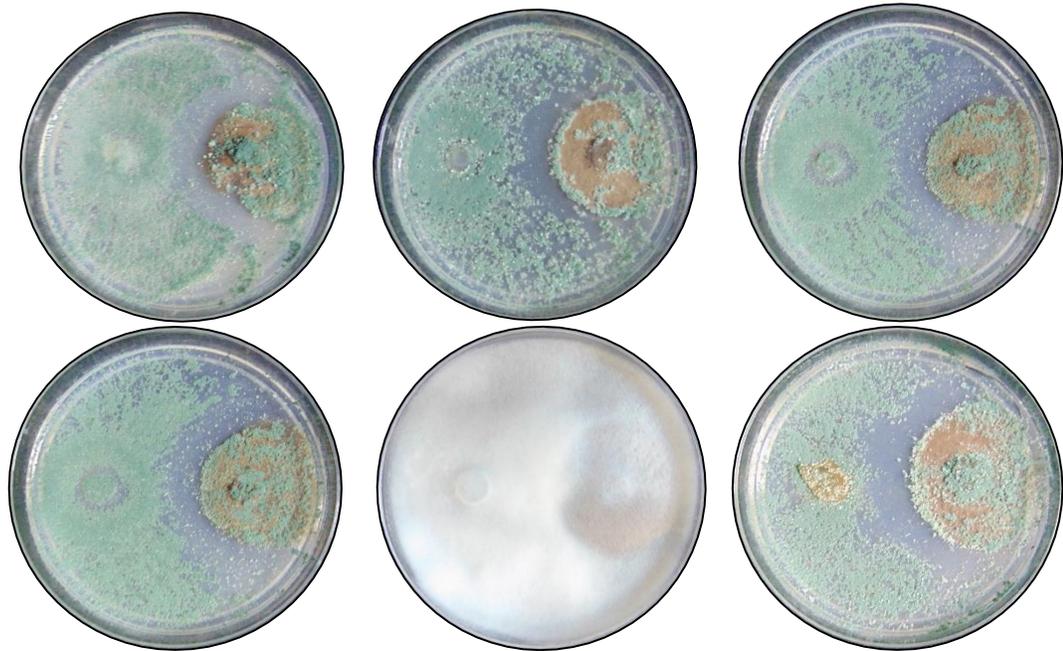


Figura 4. Micoparasitismo de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia*.

#### 4.7.2 Micoparasitismo

##### Análisis para cada patógeno

###### *Fusarium*

No existieron diferencias significativas entre el parasitismo que ejercieron las cepas de *Trichoderma*, la cepa *fasiculatum* logró inhibir en un 26%, siendo el mejor control obtenido, y que está por debajo del control ejercido por *Trichoderma* sobre cepas de *fusarium* aisladas de tomate reportado por Vargas y Gilchrist (2015); por otra parte, en los contrastes realizados de igual manera no existieron diferencias, lo que indica que las cepas nativas y comerciales ejercieron el mismo control antagonista sobre *Fusarium*; Sin embargo el antagonismo se clasificó como 3 (Cuadro 2) en la escala de Bell *et al.* (1982) indicando que *Trichoderma* y el patógeno colonizan cada uno aproximadamente la mitad de la superficie y ningún organismo parece dominar al otro.

###### *Macrophomina*

De igual manera no existieron diferencias en el antagonismo provocado por las distintas cepas de *Trichoderma*, pero la cepa nativa Santa Teresa fue la que ejerció un mejor control sobre *Macrophomina* logrando inhibir su desarrollo en un 48.4 %, resultado similar al reportado por Flores (2017), donde esta misma cepa logró inhibir un 55.5% a *Macrophomina*; además Singh, Ranaware & Nimbkar (2008) reportaron que *T. harzianum* de igual forma superó el antagonismo realizado por esta misma especie sobre *Macrophomina* en un 16%.

Para el caso de los contrastes entre cepas nativas y comerciales de igual forma no existieron diferencias estadísticas. Por otra parte, el antagonismo se clasificó en la escala 1, donde *Trichoderma* coloniza todo el medio y parasita por completo al patógeno (Figura 5).

#### *Rhizoctonia*



Figura 5. A) Tratamiento control de *Macrophomina*, y Derecha) el efecto antagónico de *Trichoderma* spp. sobre *Macrophomina*

Estadísticamente no existieron diferencias entre tratamientos, pero la cepa PHC® T-22® fue la que logró tener un mayor antagonismo con un 37% (Cuadro 2), dato similar al obtenido por Sallam, Abo-Elyours & Hassam (2008) donde *T. harzianum* logró inhibir a *Rhizoctonia* en un 42%; en el caso de los contrastes de igual forma no existió diferencia entre cepas nativas y comerciales; pero las cepas lograron parasitar por completo a *Rhizoctonia* caracterizando el antagonismo en la clase

1, mientras que Fuentes (2016) reportó que *T. asperellum* la cepa que obtuvo mayor porcentaje de inhibición sobre *Rhizoctonia* la clasificó en la escala 2 de antagonismo que aunque obtuvo mayor porcentaje de inhibición que *T. harzianum* de este ensayo no logró parasitar por completo al patógeno.

### *Sclerotium*

Existieron diferencias altamente significativas ( $P < 0.0001$ ) (Cuadro 2) entre el efecto antagonista causado por las cepas de *Trichoderma*, siendo la cepa nativa Santa Teresa la que logró tener mayor porcentaje de inhibición del desarrollo de este patógeno, seguido de la cepa comercial PHC<sup>®</sup> T-22<sup>®</sup> y de la cepa nativa Cocula con un 47.6, 46.4 y 46% respectivamente, datos similares a los de Fuentes (2016) donde *T. asperellum* inhibió a *Sclerotium* en un 46 y 49%. Astorga, Meneses, Zúñiga, Brenes y Rivera (2014) reportan un porcentaje de inhibición de 40.21% de *Trichoderma* sobre *Sclerotium*, datos similares a los de este ensayo. En el contraste cepas nativas contra comerciales también existieron diferencias altamente significativas ( $P < 0.0001$ ), para el caso de la cepa Santa Teresa y Cocula contra las cepas comerciales, por separado también existieron diferencias altamente significativas ( $P = 0.0001$  y  $P = 0.0015$ ) respectivamente lo que indica que las cepas nativas con 46.8% de inhibición en promedio son mejores que las comerciales (40.8%). El antagonismo se clasificó en la escala 1 para las cepas PHC<sup>®</sup> RootMate<sup>®</sup> y PHC<sup>®</sup> T-22<sup>®</sup>, dato similar al reportado por Astorga *et al*, (2014). El resto de las cepas se clasificaron en la escala 3.

### **Análisis combinado a través de los Patógenos y Antagonistas**

De igual forma que en la prueba de metabolitos difusibles existieron diferencias altamente significativas ( $P < 0.0001$ ), siendo *Fusarium* la cepa que toleró más el enfrentamiento contra los antagonistas, los cuales lograron inhibir la cepa patógena en un 17%, y resistió a no ser dominada o parasitada por ninguna de las cepas de *Trichoderma*, mientras que *Macrophomina* fue la cepa sobre la cual los antagonistas ejercieron un mayor efecto parasítico con un 42.9% (Cuadro 2).

La cepa nativa Santa Teresa fue la que ejerció mayor efecto parasítico sobre las cepas patógenas, seguida de Cocula y PHC® T-22® con un 37.9, 35.7 y 34.2 respectivamente y la cepa *T. reesei* fue la que ejerció un menor parasitismo.

#### **4.8 Conclusiones**

De acuerdo con los resultados obtenidos se llegaron a las siguientes conclusiones:

- La especie *Trichoderma virens* produjo los metabolitos difusibles más eficaces para el control de *Fusarium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium*.
- *Trichoderma asperellum* fue el mejor micoparásito antagonista para el control de *Fusarium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium*.
- Las cepas nativas fueron más eficaces para el control de *Fusarium*, *Macrophomina*, *Rhizoctonia* y *Sclerotium*, que *T. reesei*.
- *T. asperellum* Santa Teresa fue más eficaz que la cepa *T. asperellum* Cocula.

Cuadro 2. Efecto *in vitro* de los compuestos difusibles y micoparasitismo de *Trichoderma* sobre hongos patógenos

Patógenos	<i>Fusarium</i>			<i>Macrophomina</i>			<i>Rhizoctonia</i>			<i>Esclerotium</i>		
	PIMD <sup>a</sup>	PIP	CA	PIMD	PIP	CA	PIMD	PIP	CA	PIMD	PIP	CA
<i>T. virens</i>	83.1 A	11.95 A	3	100 A	37.5 A	1	68.7 A	32.3 A	2	98.6 A	40.9 BC	2
<i>T. harzianum</i>	59.2 C	15.2 A	3	100 A	38.4 A	1	69.7 A	37.0 A	2	96.5 A	46.4 A	2
<i>T. fasciculatum</i>	57.4 C	26.1 A	3	97.6 C	36.7 A	1	70.4 A	31.8 A	2	95.5 A	38.9 C	3
<i>T. reesei</i>	65.5 BC	13.6 A	3	98.6 B	45.8 A	1	64.5 A	30.8 A	2	54.6 B	37.3 C	3
<i>T. asperellum St</i>	71.1 B	19.0 A	3	98.6 B	48.4 A	1	71.1 A	36.5 A	2	98.6 A	47.6 A	3
<i>Tasperellum Co</i>	62.7 BC	15.2 A	3	97.2 C	45.0 A	1	75.7 A	36.0 A	2	98.6 A	46.0 AB	3
Prob.	<0.0001	0.1297		<0.0001	0.4787		0.2597	0.2477		0.0144	0.0001	
C.V.	6.2	54.5		0.29	38.03		7.2	10.9		16.9	5.53	
Prob. Nativas vs comerciales	0.7294	0.7267		<0.0001	0.3204		0.0332	0.062		0.0831	<0.0001	
Prob. St vs comerciales	0.0517	0.5688		0.0152	0.3415		0.3314	0.1132		0.171	0.0001	
Prob. Co vs comerciales	0.1379	0.9871		<0.0001	0.5512		0.019	0.1699		0.171	0.0015	
*	PIMD	PIP	¥	PIMD	PIP	∞				PIMD	PIP	
<i>T. virens</i>	87.6 A	33.3 A	<i>Fusarium</i>	66.5 C	17.0 B	Prob. Nativas vs comerciales				0.022	0.038	
<i>T. harzianum</i>	81.3 A	34.2 A	<i>Sclerotium</i>	90.4 B	42.0 A	Prob. St vs comerciales				0.039	0.044	
<i>T. fasciculatum</i>	80.1 A	33.6 A	<i>Rhizoctonia</i>	70.0 C	34.0 A	Prob. Co vs comerciales				0.129	0.214	
<i>T. reesei</i>	70.8 B	32.1 A	<i>Macrophomina</i>	98.7 A	42.9 A							
<i>T. asperellum St</i>	84.9 A	37.9 A										
<i>T. asperellum Co</i>	83.6 A	35.7 A										

<sup>a</sup>Medias dentro de columnas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey,  $\alpha=0.05$ ).

\*Análisis combinado por antagonistas, ¥Análisis combinado por patógeno, ∞Contrastes en análisis combinado, para antagonistas nativos vs comerciales.

PIMD: Porcentaje de inhibición de los metabolitos difusibles, PIP: Porcentaje de Inhibición del Parasitismo y CA: Clasificación Antagónica.

#### 4.9 Literatura citada

- Anees, M., Tronsmo, A., Edel-Hermann, V., Hjeljord, L. G., Heraud, C. & Steinberg, C. (2010). Characterization of field isolates of *Trichoderma* antagonistic against *Rhizoctonia solani*. *Fungal Biology* 114(9): 691-701.
- Aponte, Y. G., Salazar, A. L., Alcano, de J. M., Sanabria, H. N., Guzmán, J. J. y Gámez J. A. 2012. Evaluación en condiciones *in vitro* de la masa micelial de hongos fitopatógenos mediante el uso de filtrados de aislamientos de *Trichoderma* spp. *Agronomía Tropical*. 62(1-4): 17-24.
- Asad, A. S., Ali, A. N., Hameed, S. A. A., Khan, R., Ahmad, Bilal, M., Shahzad, M. & Tabassum, A. (2014). Biocontrol efficacy of different isolates of *Trichoderma* against soil borne pathogen *Rhizoctonia solani*. *Polish Journal of Microbiology* 63(1): 95-103.
- Astorga, Q. K., Meneses, M. K., Zúñiga, V. C., Brenes, M. J. y Rivera, M. W. (2014). Evaluación del antagonismo de *Trichoderma* sp. y *Bacillus subtilis* contra tres patógenos del ajo. *Tecnología en marcha* 27(2): 82-91.
- Bell, D. K., Wells, H. D. & Markham, C. R. (1982) *In vitro* antagonism of *Trichoderma* species against six fungal planta pathogens. *Phytopathology* 72(4): 379-382.
- Castro, T. A. M., y Rivillas, O. C. A. (2012). *Trichoderma* spp. Modos de acción, eficacia y usos en el cultivo de café. Cenicafé, Colombia: Espacio Gráfico Comunicaciones S.A.
- Dennis, C. & Webster, J. (1971). Antagonism properties of species-groups of *Trichoderma* I, production of non-volatile antibiotics. *Transaction of the British Mycological Society* 57 (1): 25-39.
- Dhingra, D. O., & Sinclair, B. (1995). *Basic Plant Pathology Methods*. (2ª ed). USA: CRC Press. 435 p.
- Emden, H., & Service, M. (2004). Control biológico. En *Control de Plagas y Vectores* (págs. 147-176). Cambridge: Cambridge University Press. doi: 10.1017 / CBO9780511616334.008.
- Flores, Y. J. A. (2017). Etiología y control integrado de *Macrophomina pseudophaseolina* en Chile. Tesis de licenciatura. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, México.
- Fuentes, A. D. (2016). Diagnostico y manejo de la pudrición radicular del frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris* L.) Tesis de maestría en ciencias en Protección Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México, México.
- Heimpel, G., & Mills, N. (2017). *Biological Control: Ecology and Applications*. Cambridge: Cambridge University Press. doi: 10.1017 / 9781139029117.
- Howel, C. R. (2003). Mechanisms employed by *Trichoderma* species in the biological control of plant diseases: The history and evolution of current concepts. *Plant Disease* 8 (7): 4-10.

- Michel, A. A. C., Otero, S. M. A., Rebolledo, D. O., Lezama, G. R. y Ochoa, M. M. E. (2005). PRODUCCIÓN Y EFECTO ANTAGÓNICO DE QUITINASAS Y GLUCANASAS POR *Trichoderma* spp, EN LA INHIBICIÓN DE *Fusarium subglutinans* y *Fusarium oxysporum* IN VITRO. Revista Chapingo Serie Horticultura 11(2): 273-278.
- Patil, N. N., Waghamo de M. S., Gaikwad, P. S., Gajbhiye, M. H., Gunjal, A. B., Nawani, N. and Kapadnis, B. P. (2014). Potential of *Microbispora* sp. V2 as biocontrol agent against *Sclerotium rolfsii*, the causative agent of southern blight of *Zea mays* L. (Baby corn) in vitro studies. Indian Journal of Experimental Biology 52(1): 11471151.
- Rahman, A. M., Begum, F. M. & Alam, F. M. (2009). Screening of *Trichoderma* isolates as a biological control agent against *Ceratocystis paradoxa* causing pineapple disease of sugarcane. Mycobiology 37(4): 277-285.
- Sallam, A. N. M., Abo-Elyours, K. A. M. & Hassan, M. A. E. (2008). Evaluation of *Trichoderma* species as biocontrol agents for damping-off and wilt diseases of *Phaseolus vulgaris* L. and efficacy of suggested formula. Egyptian journal of Phytopathology 36(1-2): 81-93.
- Singh, V., Ranaware, M. A. and Nimbkar, N. 2008. Bio efficacy of antagonists against root-rot fungus *Macrophomina phaseolina* of safflower. 7th International Safflower Conference Wagga Wagga Australia.
- Statistics Analysis System. (2017). SAS/STAT User's guide. 19.4. SAS Institute Inc., Cary, NC, USA.
- Skidmore, A. M. & Dickinson, C. H. (1976). Colony interactions and hyphal interference between *Septoria nodorum* and phylloplane fungi. Transactions of the British Mycological Society 66(1): 57-64.
- Vargas, H. H. A. y Gilchrist, R. E. (2015). Producción de enzimas hidrolíticas y actividad antagónica de *Trichoderma asperellum* sobre dos cepas de *Fusarium* aisladas de cultivos de tomate (*Solanum lycopersicum*). Revista Mexicana de Micología 42(1): 9-16.

## 5 CAPÍTULO V. CONTROL QUÍMICO *in vitro* DE HONGOS PATOGENOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ DEL TOMATE ROJO.

### 5.1 Resumen

Para poder realizar un manejo integral de plagas, es necesario tomar en cuenta el control químico, ya que es efectivo para prevenir enfermedades que causan graves daños y pérdidas a los cultivos, en el caso del tomate rojo, cuando el ambiente es propicio para la aparición de enfermedades causadas por patógenos edáficos, se pueden generar pérdidas de hasta el 80%. Para resolver esta problemática se realizó este estudio con los objetivos de: evaluar el efecto fungicida y fungistático *in vitro* de diferentes productos químicos sobre *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina*. Se utilizó la metodología del medio de cultivo envenenado de Dhingra & Sinclair (1985); Se evaluaron 8 productos químicos, se realizó un análisis estadístico individual para cada patógeno y un combinado a través de todos los patógenos; El patógeno *Sclerotium* toleró más los efectos inhibidores de los fungicidas; por otra parte los productos Sportak 45 CE, Switch® 62.5 WG y Rovral® 50 PH, ejercieron un efecto fungicida al inhibir el desarrollo de los patógenos en un 100%, mientras que Headline®, Pentaclor 600 F, Cercobin-m, Previcur® Energy y Ridomil® Gold 480 SL ejercieron un efecto fungistático al inhibir 99.8, 95, 74, 67.4 y 61.7%, respectivamente a las cepas patógenas.

**Palabras clave:** Modos de acción, inhibición, mecanismo de acción, productos químicos y Patógenos

Tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Pedro Jesús Plancarte Galán

Director de Tesis: Mateo Vargas Hernández

## 5.2 Abstract

In order to be able to carry out an integral pest management, it is necessary to take into account the chemical control, since it is effective to prevent diseases that cause serious damages and losses to the crops; in tomato, when the environment is conducive to the appearance of diseases caused by edaphic pathogens, can generate losses of up to 80%, due to this problem the realization of this study with the objectives of: evaluating the fungicidal and fungistatic effect in vitro of different chemicals against *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* and *Macrophomina*. It was done through the Dhingra & Sinclair (1985) poisoned culture medium methodology; Eight chemical products were evaluated, the statistical analysis was performed individually for each pathogen and combined across all pathogens; The pathogen *Sclerotium* tolerated the inhibitory effects of fungicides; on the other hand, the Sportak 45 CE, Switch® 62.5 WG and Rovral® 50 PH products exerted a fungicidal effect by inhibiting the development of pathogens by 100%, whereas Headline®, Pentaclor 600 F , Cercobin-m, Previcur® Energy and Ridomil® Gold 480 SL exerted a fungistatic effect by inhibiting 99.8, 95, 74, 67.4 and 61.7%, respectively, to the pathogenic strains.

**Keywords:** Modes of action, inhibition, mechanism of action, chemicals and pathogens

Master's Science thesis in Plant Protection, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Pedro Jesús Plancarte Galán

Thesis Director: Mateo Vargas Hernández

### 5.3 Introducción

Se entiende por plaguicida a cualquier sustancia o mezcla de sustancias que se destina a controlar cualquier plaga, incluidos los vectores que transmiten las enfermedades humanas y de animales, las especies no deseadas que causen perjuicio o que interfieran con la producción agropecuaria y forestal (Cofepris, 2017).

Se conoce que el uso de los fungicidas químicos se inició con la aplicación del cobre como fungicida en el año 1807, en donde Provest utilizó sulfato de cobre ( $\text{CuSO}_4$ ) para el tratamiento de semillas de trigo contra el carbón parcial (De la I. de Bauer, 1984). A principios del siglo XX se empleaba el ioduro potásico; entre la década de los 40 y principios de los 50 surgieron los tratamientos tópicos con acción fundamentalmente exfoliante y queratolítica y un débil poder antifúngico. En 1960 se desarrollaron los fungicidas: tolnaftato, haloprogina, griseofulvina, imidazoles, inhibidores de la síntesis de pirimidinas, polienos y triazoles (Piel latinoamericana, 2011); Posteriormente hasta el día de hoy se han generado una gran gama de fungicidas de diferentes familias químicas.

Las enfermedades de las plantas son manejadas mejor al integrar una serie de prácticas de control como lo son: la rotación de cultivos, selección de cultivares tolerantes o resistentes, época de siembra, nivel de fertilización, modificación del micro-clima, sanidad y aplicación de fungicidas. Estos últimos son un componente vital para el manejo de una enfermedad ya que controlan satisfactoriamente las enfermedades, las prácticas culturales a menudo no proporcionan un control adecuado, los cultivares resistentes no están disponibles en todos lados y algunos cultivos de un gran valor, presentan una muy baja tolerancia a la presencia de enfermedades. La mayoría de los fungicidas, para que sean efectivos, requieren ser aplicados preventivamente o a la primera señal de síntomas (Santamaria y Ureta, 2014).

## 5.4 Objetivos

Para poder realizar un manejo de los hongos causantes de la pudrición de raíz del tomate rojo en campo, es necesario realizar ensayos previos *in vitro*, por ello la realización de este estudio, con los objetivos de:

- Evaluar el efecto Fungicida *in vitro* de diferentes productos químicos sobre *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina*.
- Evaluar el efecto Fungistático *in vitro* de diferentes productos químicos sobre *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina*.

## 5.5 Hipótesis

- Los productos químicos propuestos ejercen un efecto fungicida contra los hongos patógenos.
- Los productos químicos utilizados ejercen un efecto fungistático contra los hongos patógenos.

## 5.6 Materiales y Métodos

### 5.6.1 Tratamientos en estudio

Se probó el efecto de 8 fungicidas químicos (Cuadro 3) más un control, contra los cuatro patógenos.

Cuadro 3. Tratamientos y dosis utilizadas en el ensayo *in vitro*.

No	Producto	Dosis ha <sup>-1</sup> *	Dosis en 20 mL	Simbología
1	Pentaclor 600 F (quintozeno)	13 L**	0.26 mL	PE
2	Cercobin-m. (tiofanato metílico)	0.875 kg	0.0175 g	CE
3	Ridomil® Gold 480 SL (Metalaxil-M)	0.4 L	0.008 mL	RI
4	Previcur® Energy (fosetil 31% + propamocarb 53%)	2 L	0.04 mL	PR
5	Rovral® 50 PH (iprodiona)	3 kg	0.06 g	RO
6	Headline® (piraclostrobin)	1 L	0.02 mL	HL
7	Switch® 62.5 WG (250 fludioxonil + 375 ciprodinil)	0.9 kg	0.018 g	SW
8	Sportak 45 CE (procloraz)	1.25 L	0.025 mL	SP

\*Dosis media, recomendada por el fabricante

\*\*Se calculó la dosis considerando un gasto de 1,000 L de agua ha<sup>-1</sup>

### **5.6.2 Diseño y Unidad experimental**

Se realizó bajo un diseño de bloques completos al azar (DBCA), 8 tratamientos, 4 hongos y 4 repeticiones formaron 128 unidades experimentales.

### **5.6.3 Técnica del medio del cultivo envenenado**

Se midieron los fungicidas, tomando en cuenta las dosis recomendadas por el fabricante (Cuadro 3). Se abrió la caja Petri, junto a la flama del mechero; se depositó en el interior la dosis del fungicida y enseguida, 20 mL de PDA; se agitó suavemente la caja hasta que el fungicida se disolvió completamente en el medio; se dejó enfriar y solidificar a temperatura ambiente; posteriormente se colocó un disco de PDA con el inóculo del hongo en el centro de la caja (Dhingra & Sinclair, 1985).

### **5.6.4 Variables en estudio**

El porcentaje de inhibición del crecimiento del micelio de los patógenos, se calculó con la fórmula propuesta por Patil *et al.* (2014): % *inhibición* =  $[(D1 - D2)/D1] \times 100$  en donde, D1 = Diámetro de la colonia del patógeno creciendo sobre el PDA y D2 = Diámetro de la colonia de patógeno creciendo sobre el PDA envenenado.

### **5.6.5 Análisis estadístico**

Se realizaron análisis de varianza individuales para cada hongo, usando un modelo lineal general correspondiente a un DBCA; análisis combinado a través de los cuatro hongos patógenos considerando un modelo correspondiente a un diseño en parcelas divididas, donde las parcelas grandes fueron los hongos y las parcelas chicas fueron los 8 fungicidas. Se realizaron también pruebas de comparaciones múltiples de medias usando el método de la diferencia

significativa honesta de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Todos los análisis se realizaron usando el software estadístico SAS v9.4 (2017).

## **5.7 Resultados y Discusión**

### **5.7.1 Análisis para cada patógeno**

#### ***Fusarium***

Existió diferencia altamente significativa ( $P<0.0001$ ) en el efecto inhibitor causado por los fungicidas a *Fusarium*; los productos Switch® 62.5 WG , Rovral® 50 PH , Previcur® Energy y Sportak 45 CE, ejercieron un 100% de inhibición, siendo los ingredientes activos de éstos últimos los cuales fueron reportados por Herrera, Bacab, Cristóbal, Tun y Ruíz (2011) que inhibieron al 100% a *Fusarium solani*; Los tratamientos Headline®, Cercobin-m, Pentaclor 600 F y Ridomil® gold 480 SL, con un 99.3, 95, 80 y 56% respectivamente (Cuadro 4); Yossen y Conles (2014) al evaluar 0.80 partes por millón (ppm) de Tiofanato metílico sobre *Fusarium oxysporum* encontró un 95% de inhibición, porcentaje igual al de este ensayo.

#### ***Macrophomina***

Existió diferencia altamente significativa ( $P<0.0001$ ) (Cuadro 4) entre el efecto inhibitor provocado por los distintos fungicidas, siendo Sportak 45 CE, Switch® 62.5 WG, Headline®, Cercobin-m, Pentaclor 600 F , Previcur® Energy y Rovral® 50 PH los que inhibieron el desarrollo de *Macrophomina* en un 100% y Ridomil® gold 480 SL en un 80%. En un ensayo similar Flores (2017) reportó que los productos Sportak 45 CE, Headline®, Pentaclor 600 F, Switch® 62.5 WG, Rovral® 50 PH y Cercobin-m al igual que en este experimento inhibieron a *Macrophomina* en un 100%.

#### ***Rhizoctonia***

De igual forma existió diferencia altamente significativa ( $P<0.0001$ ) entre tratamientos, siendo Sportak 45 CE, Pentaclor 600 F , Headline®, Rovral® 50 PH y Switch® 62.5 WG quienes inhibieron en un 100% (Cuadro 4) el desarrollo

del hongo patógeno, seguido de Cercobin-m con un 94%, los peores tratamientos fueron Ridomil® gold 480 SL y Previcur® Energy, los cuales inhibieron en un 57.8 y 57.1% respectivamente; Mendoza (1990), señala que el ingrediente activo quintozeno se ha utilizado como un fungicida comercial contra patógenos de plantas transmitidos a través del suelo como *R. solani*. Generalmente se acepta que la fungitoxicidad de este compuesto es debida a la peroxidación de lípidos en las membranas, lo que comprueba en este estudio su buen control.

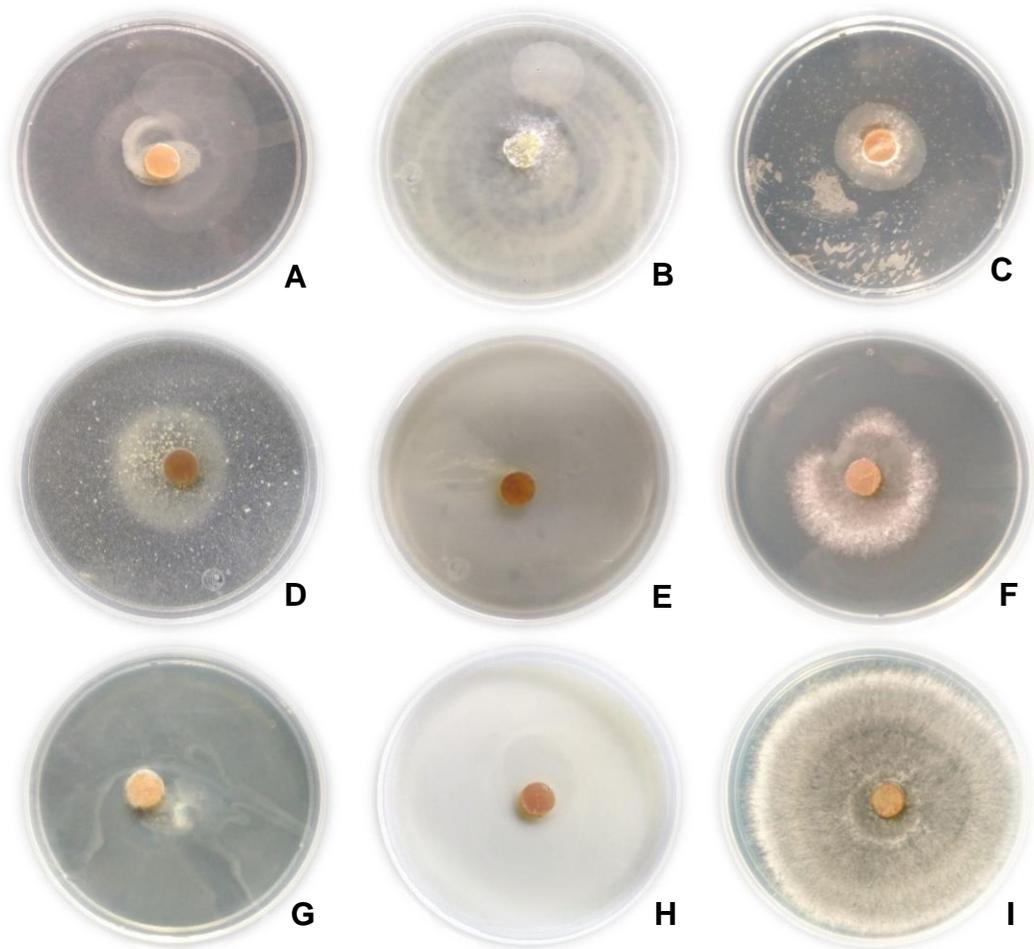


Figura 6. **A)** Sportak 45 CE, **B)** Cercobin-m, **C)** Ridomil® gold 480 SL, **D)** Switch® 62.5 WG, **E)** Rovral® 50 PH, **F)** Previcur® Energy, **G)** Headline®, **H)** Pentaclor 600 F e **I)** Control.

## ***Sclerotium***

Existió diferencia altamente significativa ( $P < 0.0001$ ) entre los fungicidas aplicados para *Sclerotium*, siendo Sportak 45 CE, Pentaclor 600 F , Headline®, Rovral ® 50 PH y Switch® 62.5 WG los tratamientos que inhibieron al hongo patógeno en un 100%, seguido de Ridomil® gold 480 SL, Previcur® Energy y Cercobin-m con 52.9, 12.9 y 7.1% respectivamente; Alcalá, Vargas y Pire, (2005) al evaluar el efecto de iprodiona sobre *Sclerotium rolfsii* logró tener un 79% de inhibición, porcentaje por debajo al de este estudio.

### **5.7.2 Análisis combinado**

Existieron diferencias altamente significativas ( $P < 0.0001$ ) en el análisis combinado entre tratamiento y hongos, siendo *Sclerotium rolfsii* el patógeno que toleró en mayor porcentaje el efecto inhibitor de los diferentes fungicidas químicos en un 29%, seguido de *Rhizoctonia*, *Fusarium* y *Macrophomina* con un 11.4, 8.7 y 2.5% respectivamente.

Existió diferencia altamente significativa ( $P < 0.0001$ ) entre tratamientos (Cuadro 4), siendo Sportak 45 CE, Switch® 62.5 WG y Rovral ® 50 PH los productos que inhibieron en su totalidad a los cuatro patógenos, seguidos de Headline®, Pentaclor 600 F y Cercobin-m con 99.8, 95 y 74% respectivamente, al final, los fungicidas Previcur® Energy y Ridomil® gold 480 SL que a pesar que están recomendados para Oomycetes, lograron inhibir a los patógenos en un 67 y 61% respectivamente, esto debido que el Metalaxil-m del Ridomil® gold 480 SL, perteneciente al grupo de las phenil amides afectan la síntesis de los ácidos nucleicos específicamente la inhibición de RNA polimerasa I, posiblemente en estos hongos afecte la síntesis del DNA polimerasa I y el Propamocarb del Previcur® Energy inhibe la síntesis de las membranas y lípidos, afectando el desarrollo de los hongos patógenos, mientras que el fosetil-al se desconoce su modo de acción (FRAC, 2017).

Cuadro 4. Efecto in vitro de fungicidas químicos sobre hongos patógenos.

Tratamientos	Patógenos	<i>Fusarium</i>	<i>Macrophomina</i>	<i>Rhizoctonia</i>	<i>Esclerotium</i>
		PI*	PI	PI	PI
Pentaclor 600 F		80.0 C <sup>®</sup>	100 A	100 A	98.6 A
Cercobin-m		95.0 B	100 A	93.9 B	7.13 C
Ridomil <sup>®</sup> gold 480 SL <sup>®</sup>		56.4 D	80.0 B	57.8 C	52.9 B
Previcur <sup>®</sup> Energy <sup>®</sup>		100 A	100 A	57.1 C	12.9 C
Rovral <sup>®</sup> 50 PH		100 A	100 A	100 A	100 A
Headline <sup>®</sup>		99.3 A	100 A	100 A	100 A
Switch <sup>®</sup> 62.5 WG		100 A	100 A	100 A	100 A
Sportak 45 CE		100 A	100 A	100 A	100 A
<i>Prob</i>		<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001
<i>C.V.</i>		1.5	0.4	1.02	4.8
		PI‡			PI
Pentaclor 600 F		95.0 B	<i>Fusarium</i>		91.3 B
Cercobin-m		74.0 C	<i>Macrophomina</i>		97.5 A
Ridomil <sup>®</sup> gold 480 SL		61.7 E	<i>Rhizoctonia</i>		88.6 C
Previcur <sup>®</sup> Energy		67.5 D	<i>Sclerotium</i>		71.6 D
Rovral <sup>®</sup> 50 PH		100 A			
Headline <sup>®</sup>		99.8 A			
Switch <sup>®</sup> 62.5 WG		100 A			
Sportak 45 CE		100 A			
<i>Prob</i>		<0.0001			<0.0001
<i>C.V.</i>		2.2			2.2

<sup>®</sup>Medias dentro de columnas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey,  $\alpha=0.05$ ).

\*Porcentaje de inhibición

‡Porcentaje de inhibición en el análisis combinado

## 5.8 Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos se llegó a las siguientes conclusiones:

- Los fungicidas químicos Sportak 45 CE, Switch<sup>®</sup> 62.5 WG y Rovral <sup>®</sup> 50 PH , ejercen un efecto Fungicida sobre los cuatro hongos patógenos.

- Los fungicidas Headline® y Pentaclor 600 F ejercen un efecto fungistático sobre los hongos patógenos, pero ejercen una inhibición por arriba del 90%.
- Cercobin-m, Previcur® Energy y Ridomil® gold 480 SL ejercen un efecto fungistático sobre las cepas patógenas, pero tiene porcentajes de inhibición por debajo del 75%.

## 5.9 Literatura citada

- Alcalá, M. D., Vargas, N. y Pire, A. (2005). Efecto de extractos vegetales y fungicidas sintéticos sobre el crecimiento micelial *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* y *Thielaviopsis basicola*. Rev. Fac. Agron (Luz) 22(4): 315-323.
- Comisión Federal para la Protección contra Riesgos Sanitarios. (2017). REGISTRO SANITARIO DE PLAGUICIDAS Y NUTRIENTES VEGETALES. Recuperado de la red: <http://www.cofepris.gob.mx/AS/Paginas/Registros%20Sanitarios/Registro%20Sanitario%20de%20Plaguicidas%20y%20Nutrientes%20Vegetales/RegistroSanitarioPlaguicidasYNutrientes.aspx>. Fecha de consulta: 01/10/2017.
- De la I. de Bauer, M. (1984). FITOPATOLOGÍA. Universidad Autónoma Chapingo, 337 y 338 pp.
- Dhingra, O. D. and J. B. Sinclair. (1985). Basic Plant Pathology Methods. CRC Florida, USA: Press Inc.
- Flores, Y. J. A. (2017). ETIOLOGÍA Y CONTROL INTEGRADO DE *Macrophomina pseudophaseolina* EN CHILE. Tesis de licenciatura. Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, México.
- Fungicide Resistance Action Committee. (2017). FRAC Code List ©\*2017: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). Recuperado de la red: <http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2017-final.pdf>.
- Herrera, P.E., Bacab, P. I. M., Cristóbal, A. J., Tun, S. J. M. y Ruíz, S. E. (2011). PATOGENICIDAD DE *Fusarium solani* (MART.) SACC. Y *Alternaria alternata* (FRIES) KESSLER EN *Thevetia peruviana* (PERS.) K. SCHUM. Y SU CONTROL *in vitro*. Fitosanidad. 15(4): 231-236.
- Mendoza, Z. C. (1990). Fungicidas sistémicos y su modo de acción. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. 91 p.
- Patil, N. N., Waghmo de M. S., Gaikwad, P. S., Gajbhiye, M. H., Gunjal, A. B., Nawani, N. and Kapadnis, B. P. (2014). Potential of *Microbispora* sp. V2 as biocontrol agent against *Sclerotium rolfsii*, the causative agent of southern blight of *Zea mays* L. (Baby corn) in vitro studies. Indian Journal of Experimental Biology 52(1): 11471151.
- Piel Latinoamerica. (2011). CAPITULO 78: Tratamiento de las micosis cutáneas. Recuperado de la red: <http://piel-l.org/libreria/item/931>. Fecha de consulta: 01/10/2017.
- Santamaria, S. y Ureta, R. J. C. (2014). ¿Qué son los Fungicidas? Recuperado de la red: <https://www.apsnet.org/edcenter/intropp/topics/Pages/fungicidasSpanish.aspx>. Fecha de consulta: 01/10/2017.

Statistics Analysis System. (2017). SAS/STAT User's guide. SAS v9.4 Institute Inc., Cary, NC, USA.

Yossen, V. E., y Conles, M. Y. (2014). Eficacia de fungicidas *in vitro* para el control de *Fusarium oxysporum* y *F. proliferatum*, agentes causales de marchitamiento en el cultivo de orégano en la Argentina. Rev. Ind. Agríc. Tucumán 91(1): 19-25. versión On-line ISSN 1851-3018.

## 6 CAPÍTULO VI. CONTROL INTEGRADO DE PATÓGENOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ DEL TOMATE ROJO EN INVERNADERO Y CAMPO

### 6.1 Resumen

Ya que la investigación realizada *in vitro* no es de total confianza para poder realizar una recomendación, es necesario complementarla con ensayos *in vivo*, por ello la realización de este estudio, con los objetivos de: Comparar la tolerancia del híbrido DRD-8551 y la variedad Rio Grande a la pudrición de raíz causada por *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina*; y Comparar la eficiencia de manejos químicos, biológicos y químicos-biológicos sobre la incidencia y severidad de la pudrición de raíz del tomate, en condiciones de invernadero y campo; En el ensayo en invernadero se utilizaron plántulas de los genotipos Rio Grande y DRD-8551 de un mes de edad, 8 tratamientos con tres repeticiones, se inocularon con los patógenos, se realizaron 3 evaluaciones de incidencia y una de severidad en raíz; en el caso de campo se utilizaron 7 tratamientos y se hicieron 2 evaluaciones de incidencia; En los resultados del ensayo en invernadero se observó que el tratamiento 6 químico, fue el mejor, al generar menor incidencia (3.3%), y menor daño causado en las raíces (29.2% de severidad), seguido de los tratamientos biológicos y al final los químicos-biológicos, el genotipo DRD-8551 toleró más la infección por los patógenos en la incidencia y la severidad (17.5 y 35.7%), que el Rio Grande (33.8 y 45.2%), respectivamente, resultados similares a los obtenidos en campo, donde nuevamente el tratamiento 6, químico y el genotipo DRD-8551 fueron mejores.

**Palabras clave:** Genotipos, DRD-8551, Rio Grande, Manejo químico y Manejo biológico.

Tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal, Universidad Autónoma Chapingo

Autor: Pedro Jesús Plancarte Galán

Director de Tesis: Mateo Vargas Hernández

## 6.2 Abstract

Because the research done *in vitro*, it is not enough for doing a recommendation, it is necessary to complement it with *in vivo* tests, for that reason the realization of this study, with the objectives of: Comparing the tolerance of the hybrid DRD - 8551 and the variety Rio Grande to root rot by *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* and *Macrophomina*; and Compare the efficiency of chemical, biological and chemical-biological management on the incidence and severity of tomato root rot, under greenhouse and field conditions; The greenhouse trial used seedlings of the Rio Grande and DRD-8551 genotypes at one month of age, 8 treatments with three replications, inoculated with the pathogens, 3 incidence evaluations and one of root severity were performed; In the case of field, 7 treatments were used and 2 incidence evaluations were done; In the results of the greenhouse trial, it was observed that the chemical treatment was the best, generating a lower incidence (3.3%), and less damage to the roots (29.2% severity), followed by the biological treatments and in the chemical-biological, the genotype DRD-8551 tolerated more infection by pathogens in the incidence and severity (17.5 and 35.7%), than the Rio Grande (33.8 and 45.2%), respectively, results similar to those obtained in the field, where again treatment 6, chemical and genotype DRD-8551 were better.

**Keywords:** Genotypes, DRD-8551, Rio Grande, Chemical and Biological.

Master's Science thesis in plant protection, Universidad Autónoma Chapingo

Author: Pedro Jesús Plancarte Galán

Thesis Director: Mateo Vargas Hernández

### 6.3 Introducción

El Manejo Integral de Plagas es un enfoque sostenible al combinar herramientas biológicas, culturales, físicas y químicas de una manera que minimiza los riesgos económicos, de salud y ambientales (Food Quality Protection Act [FQPA], 1998).

Se define al control integrado como: La utilización de todas las técnicas adecuadas para reducir y mantener las poblaciones de plagas a niveles inferiores a los que causan daño económico en la agricultura y silvicultura, o reunir dos o más métodos de control en un sistema armonizado diseñado para mantener las plagas en niveles inferiores a los que causan daño, un sistema que debe descansar sobre principios y enfoques ecológicos firmes (Bottrell, 1979).

Para que lo anterior se cumpla es necesario que los métodos de control sean efectivos contra las plagas, que sean compatibles con otros métodos de control, por ejemplo, el control biológico es compatible una amplia diversidad de plantas, pero, en muchos casos no es compatible con los agroquímicos; el impacto ambiental debe ser nulo o bajo, sus efectos deben ser duraderos en el medio y que contribuyan a modificarlo, para que sea favorable a las plantas y menos apropiado para las plagas; en la economía, desde el punto de vista costos/beneficios, que tenga aceptación por los productores y, en general, por la sociedad (SAGARPA, 2016).

Las enfermedades causadas por patógenos del suelo, constituyen un problema relevante y dañino en la industria hortícola a escala mundial. Muchos de estos organismos persisten en el suelo por varias temporadas de cultivo, ya que son capaces de producir estructuras reproductivas o de supervivencia que esperan las condiciones ideales para volver a infectar las plantas. Estos patógenos actúan principalmente atacando la raíz e ingresan al sistema vascular, por lo que se llega a producir clorosis, marchitez y pobre desarrollo radicular, entre otros síntomas. Para diferenciar el tipo de patógeno causante de la enfermedad es necesario realizar un buen diagnóstico; Entre las principales se encuentran *Fusarium*, *Verticillium*, *Sclerotium* y *Rhizoctonia* (Semini, 2017). Para el control de estos patógenos es necesario realizarlo de forma preventiva, ya que cuando aparecen

los síntomas, la enfermedad ya causó daños irreversibles, la muerte de las plantas y un decremento en el rendimiento.

#### **6.4 Objetivos**

Para poder complementar los resultados obtenidos en los ensayos *in vitro* fue necesario la realización de estos estudios, con los siguientes objetivos:

- Comparar la tolerancia del híbrido DRD-8551 y la variedad Rio Grande a la pudrición de raíz causada por *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina*.
- Comparar la eficiencia de manejos químicos, biológicos y químicos-biológicos sobre la incidencia y severidad de la pudrición de raíz del tomate, en condiciones de invernadero.
- Comparar la eficiencia de manejos químicos, biológicos y químicos-biológicos sobre la incidencia de la pudrición de raíz del tomate, en condiciones de campo.

#### **6.5 Hipótesis**

- El híbrido DRD-8551 tolera más la pudrición de raíz que la variedad Rio Grande.
- El manejo combinado es más eficaz para el control de *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina* en condiciones de invernadero.
- El manejo combinado es más eficaz para el control de *Fusarium*, *Sclerotium*, *Rhizoctonia* y *Macrophomina* en condiciones de campo.

## 6.6 Materiales y Métodos

### 6.6.1 Ensayo en invernadero

#### Ubicación

El ensayo se realizó en el invernadero del departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, en las coordenadas 19°49'34'' N y -98°88'54'' O.

#### Desinfestación del suelo, trasplante e inoculación

Se utilizó el producto Buckman Busan® 30 WB a dosis recomendada por el fabricante, se aplicó directamente al suelo y se dejó reposar durante 10 días para que hiciera efecto; Posteriormente se llenaron vasos de poliestireno con capacidad de un litro, se trasplantó y se inoculó seis gramos de inóculo ( $21 \times 10^6$ ,  $18 \times 10^6$ ,  $24.6 \times 10^6$  y  $19.2 \times 10^6$  UFC) de *M. pseudophaseolina*, *R. solani*, *Fusarium* y *S. rolfsii* respectivamente, el primero de julio del 2017.

#### Factores evaluados

Los factores evaluados fueron los genotipos: híbrido DRD-8551 y de la variedad Rio Grande; El segundo factor fueron los tipos de control, químicos, biológicos y químicos-biológicos, distribuidos en 6 tratamientos.

#### Tratamientos

Los tratamientos utilizados en este estudio se presentan en el cuadro 5.

Cuadro 5. Tratamientos y dosis utilizadas en el ensayo.

N°	Productos/Tratamientos	I.A.*	Dosis ha <sup>-1</sup>
1	Control patógenos	-	-
2	PHC RootMate®, Pentaclor 600 F, Cercobin-m, Rovral® 50 PH y Ridomil® gold 480 SL	<i>Trichoderma virens</i> , quintozeno, tiofanato metílico, iprodiona y metalaxil-m	226.8g, 13L, 875g, 3kg y 0.4L **

3	PHC® T-22®, Pentaclor 600 F, Cercobin-m, Rovral® 50 PH y Previcur® Energy	<i>T. harzianum</i> , quintozeno, tiofanato metilico, iprodiona y fosetil-al+propamocarb	226.8g, 13L, 875g, 3kg y 2L
4	PHC® T-22®, PHC RootMate® y Cocula	<i>T. harzianum</i> , <i>T. virens</i> y <i>T. asperellum</i>	226.8g, 226.8g y 8x10 <sup>6</sup>
5	PHC® T-22®, PHC RootMate® y Santa Teresa	<i>T. harzianum</i> , <i>T. virens</i> y <i>T. asperellum</i>	226.8g, 226.8g y 8x10 <sup>6</sup>
6	Headline®, SWITCH® 62.5 WG, Pentaclor 600 F y Ridomil® gold 480 SL	piraclostrobin, tiofanato metilico, fludioxonil+ciprodinil, quintozeno y metalaxil-m	1L, 875g, 900g, 13L y 0.4L
7	Rovral® 50 PH, Cercobin-m, Sportak 45 CE, Pentaclor 600 F y Previcur® Energy	iprodiona, metil tiofanato, procloraz, quintozeno y fosetil-al+propamocarb	3kg, 875g, 1.25L, 13L y 2L
8	Control absoluto	-	-

\*Ingrediente Activo, \*\*Se calculó la dosis considerando un gasto de 1,000 L de agua ha<sup>-1</sup>

## Diseño Experimental y Unidad Experimental

Se realizó bajo un diseño de parcelas divididas, con tres repeticiones, en las parcelas grandes se distribuyeron los genotipos, GR es el genotipo DRD-8551 y GS el genotipo Rio Grande, en las parcelas chicas se ubicaron los 8 tratamientos, la unidad experimental se formó por 5 plantas (Figura 7).

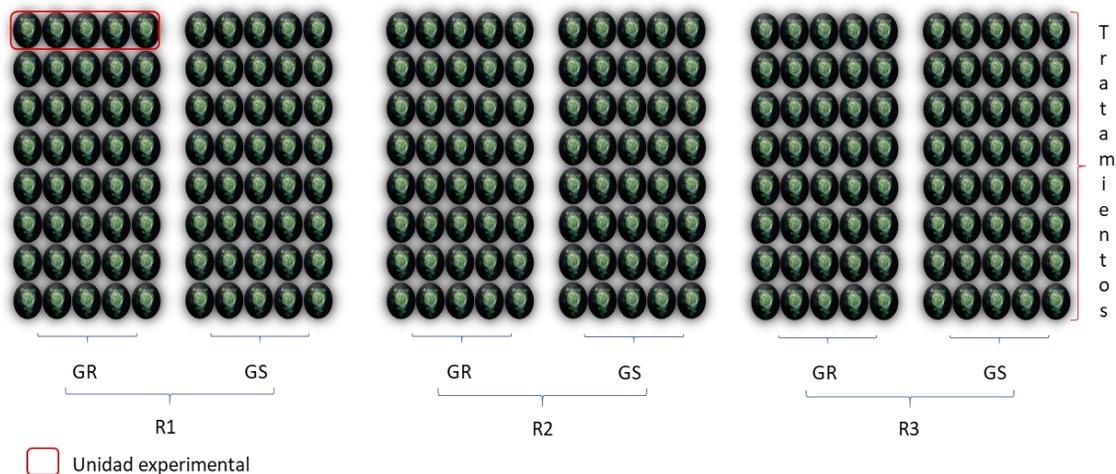


Figura 7. Diagrama de la distribución del experimento en invernadero.

## Variables de respuesta evaluadas

### *Porcentaje de incidencia*

Se observaron síntomas como clorosis de hojas, disminución del tamaño de la planta y marchitez de las plantas para el cálculo de la incidencia; se realizaron 3 evaluaciones, a los 12, 19 y 27 días después del trasplante, calculando el porcentaje con la fórmula de Van der Plank (1965):  $I = (PE/PT) \times (100)$  donde  $I$  = Índice de incidencia,  $PE$  = Número de plantas afectadas y  $PT$  = Número total de plantas.

### *Severidad*

Se extrajeron las plantas inoculadas a los 27 días después del trasplante, una vez que las plantas testigo presentaron marchitez severa, para la evaluación de la severidad del patógeno se observaron las raíces, tomando en consideración la escala hedónica o arbitraria (Cuadro 6) propuesta por Schoonhoven y Pastor (1987).

Cuadro 6. Escala arbitraria utilizada para el cálculo de la severidad.

Escala	Apariencia del daño
0	Sin síntomas (raíces sanas)
1	Decoloración ligera, sin lesiones necróticas o con 10% de los tejidos de la raíz cubiertos con lesiones.
2	Aproximadamente 25% de los tejidos de la raíz están cubiertos con lesiones, con decoloración fuerte, aunque los tejidos están firmes.
3	Aproximadamente 50% de los tejidos de la raíz están cubiertos con lesiones que se combinan con ablandamiento, pudrición y reducción considerable del sistema radical.
4	Aproximadamente 75% o más de los tejidos de la raíz están afectados por estados avanzados de pudrición, en combinación de una reducción severa del sistema radical (Figura 8).

Para el cálculo de porcentaje de severidad se utilizó la fórmula de Vander Plank (1963):  $S = (\sum i/N(VM)) \times 100$  donde  $S$  = Porcentaje de severidad,  $\sum i$  =

Sumatoria de valores observados, N = Número de plantas muestreadas y VM = Valor máximo de la escala.



Figura 8. Síntomas en raíces, de acuerdo a la escala de severidad.

### **Análisis estadístico**

A los datos obtenidos de la incidencia se les realizó un análisis de varianza individual y combinado para genotipos, muestreos y tratamientos; Para el caso de la severidad se le realizó un análisis combinado entre genotipos y tratamientos. Se realizaron también pruebas de comparaciones múltiples de medias usando el método de la diferencia significativa honesta de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), los análisis se realizaron usando el software estadístico SAS v9.4 (2017).

### **6.6.2 Ensayo en campo**

#### **Ubicación**

El ensayo se realizó en los Campos Experimentales del Colegio Superior Agropecuario de Estado de Guerrero, ubicado en las coordenadas 18°26'30.32'' N y -99°65'00.27'' O, en el estado de Guerrero, México.

#### **Tratamientos**

Fueron los mismos tratamientos que en el ensayo de invernadero, con la excepción de que no se tuvo el control absoluto (Cuadro 5).

## **Factores evaluados**

Se evaluaron los mismos factores que en el ensayo de invernadero.

## **Diseño y unidad experimental**

Se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas, con parcelas grandes arregladas como bloques completos al azar y parcelas chicas arregladas completamente al azar. Las parcelas grandes correspondieron a los genotipos y las parcelas chicas a los tipos de control o tratamientos; se utilizaron tres repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por 3 surcos a una distancia entre surcos de 1.6 m, cada surco constó de 6 plantas, las plantas espaciadas a 0.5 m, de tal modo que la unidad experimental fueron 18 plantas, la parcela útil fueron los tres surcos, se eliminó una planta de cada surco para eliminar el efecto de bordo.

## **Desarrollo del experimento**

**Preparación del terreno.** Se realizó una limpia previa, se barbechó, rastreó y surcó a una distancia de 1.5 m. **Transplante.** Se llevó a cabo el 26 de febrero del 2016, se aplicó COUNTER 5% (Terbufos) de manera preventiva contra posibles ataques de plagas del suelo y nematodos. **Fertilización edáfica.** La dosis que se utilizó fue 80-70-60 y las fuentes de fertilizantes fueron las siguientes: (i) Nitrógeno: sulfato de amonio (20.5% de N) y Urea (46%); (ii) Fósforo: fosfato diamónico (46 % de P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, 18% de N); y (iii) Potasio: sulfato de potasio (50% de K<sub>2</sub>O). Se realizaron dos aplicaciones; en la primera, se aplicó todo el fósforo y la mitad del nitrógeno, a los 12 días después del trasplante (ddt); en la segunda, se aplicó el resto del nitrógeno y el potasio a los 25 ddt, se cubrió con suelo para optimizar su aprovechamiento. **Aplicación de los tratamientos.** Se utilizaron los productos y tratamientos descritos en el cuadro 5. Estos productos se aplicaron

utilizando una mochila aspersora de 15 L, y con una calibración previa, se aplicaron 100 mL de la preparación de los tratamientos en drench al pie de cada una de las plantas al momento del trasplante.

### **Variable de respuesta evaluada**

Se observó marchitez severa de las plantas para el cálculo de la incidencia; se realizaron 2 evaluaciones, a los 27 y 41 días después del trasplante, calculando el porcentaje con la fórmula de Van der Plank (1965):  $I = (PE/PT) \times (100)$  donde I = Índice de incidencia, PE = Número de plantas afectadas y PT = Número total de plantas.

### **Análisis estadístico**

Se realizó un análisis de varianza combinado para genotipos y tratamientos. Se realizaron también pruebas de comparaciones múltiples de medias usando el método de la diferencia significativa honesta de Tukey ( $\alpha=0.05$ ), los análisis se realizaron usando el software estadístico SAS v9.4 (2017).

## **6.7 Resultados y Discusión**

### **6.7.1 Ensayo en invernadero**

#### **Incidencia**

##### *Análisis individual*

Para el caso del genotipo Rio Grande en el primer muestreo se puede notar diferencia significativa ( $P = 0.0216$ ), observándose un porcentaje de incidencia del 13.3% en el tratamiento 1 o control patógenos, mientras que en los tratamientos químicos y biológicos no se observó incidencia; En el segundo muestreo existió diferencia altamente significativa ( $P < 0.0001$ ), nuevamente el tratamiento 1 tuvo mayor porcentaje de incidencia (73.3%), seguido de los tratamientos 2 y 3 con un porcentaje de 40 y 33%, respectivamente, mientras que

el tratamiento 6 logró provocar que no existiera incidencia; En el tercer muestreo existió diferencia altamente significativa ( $P < 0.0001$ ), el tratamiento control patógenos tuvo el 100% de incidencia, seguido de los tratamientos 2 y 3, con un 80 y 73%, respectivamente y los tratamiento 6 y 7 fueron los mejores al solo tener un 13.3 y 20% de incidencia (Figura 9).

El genotipo DRD-8551 en la primera fecha de muestreo no mostró diferencias estadísticas, no se presentó incidencia ni en el control patógenos, esto puede deberse a que el genotipo presenta resistencia a *Fusarium*, en la segunda fecha de muestreo, existieron diferencias altamente significativas ( $P < 0.0001$ ), existiendo un 60% de incidencia en el tratamiento control patógenos, seguido del tratamiento 2 con un 20%, mientras que los tratamientos 3, 4, 5 y 6 no mostraron incidencia; Para la tercera fecha de muestreo nuevamente existió diferencia altamente significativa ( $P < 0.0001$ ), presentando un 100% de incidencia en el tratamiento control patógenos, seguido del tratamiento 2 con 46.6 %, mientras que en los tratamientos 4 y 6 no se mostró incidencia a los 27 ddt (Figura 9), datos que son similares a los de Romero, Castro y Rancho (2012) donde la aplicación de Pyraclostrobin + Metil tiofanato a los 17 días después de la

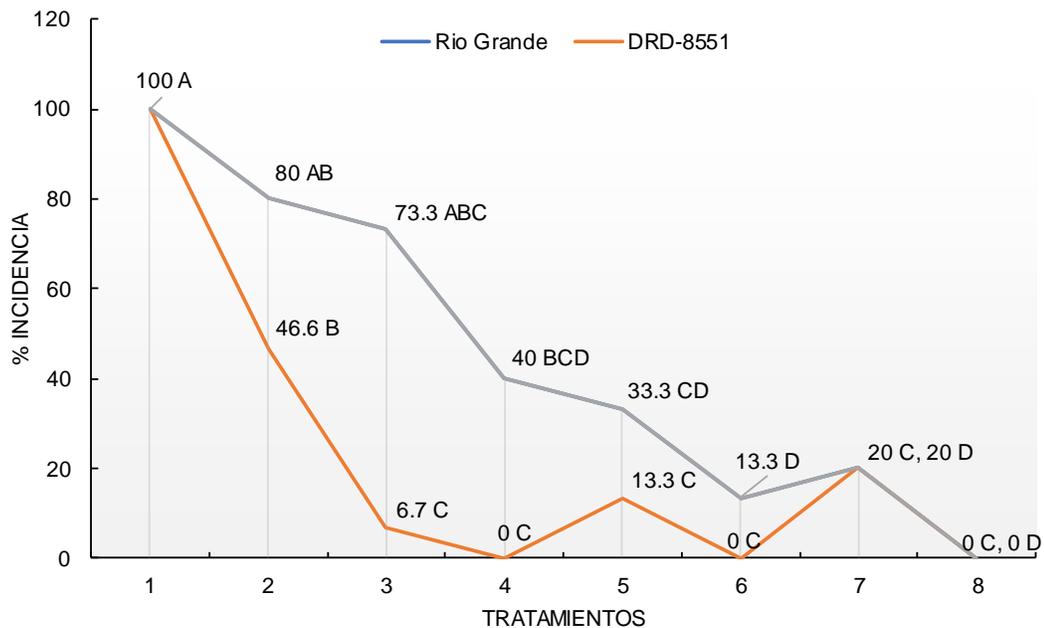


Figura 9. Porcentaje de incidencia para los dos genotipos a los 27 ddt.

emergencia de plantas de sandía, no presentaron problemas de secadera ocasionada por hongos del suelo.

### *Análisis combinado*

En la primer fecha de muestreo en el análisis combinado entre genotipos no existió diferencia estadística pero el genotipo Rio Grande tuvo un mayor porcentaje de severidad (1.67%), mientras que el genotipo DRD-8551 no mostró incidencia; para el caso del muestreo 2 y 3 existió diferencias altamente significativas ( $P < 0.0001$ ), en el segundo muestreo el genotipo Rio Grande tuvo un 22.5% de incidencia, mientras que el genotipo DRD-8551 un 11.6%; en el tercer muestreo nuevamente el genotipo Rio Grande tuvo mayor porcentaje de incidencia (45%) que el genotipo DRD-8551 (23.3%).

En el análisis entre muestreos 2 y 3 existió diferencia altamente significativa ( $F < 0.0001$ ), donde en el muestreo dos se encontró una incidencia de 17.1% mientras que en el muestreo 3 una incidencia de 34.2%; para el caso de los genotipos a través de los muestreos de igual forma existió diferencias significativas ( $P = 0.0112$ ), el genotipo Rio grande mostró una incidencia de 33.8%, mientras que el DRD-8551 una incidencia de 17.5%.

Para el caso del análisis combinado entre tratamientos, el control patógenos fue el que presentó mayor incidencia (83.3%), seguido de los tratamientos 2 (46.7%) y 3 (28.3%) que son los tratamientos químicos-biológicos, teniendo menor eficacia que los biológicos 5 (15%) y 4 (15%) que fueron estadísticamente iguales al tratamiento químico 7(13.3%), pero diferente al tratamiento 6(3.3%) (Cuadro 7).

Durman, Menendez y Godeas (1999), al evaluar distintas cepas de *Trichoderma*, la especie *harzianum* 742, logró provocar la supervivencia de todas las plantas de tomate rojo inoculadas con *Rhizoctonia solani*, efecto similar al de éste ensayo.

Morales (2011), al evaluar el efecto de *T. asperellum* y Quintozeno sobre el control del *Damping off*, el tratamiento con *Trichoderma* generó una incidencia del 27%, porcentaje más alto al de este ensayo donde fueron combinaciones de *T. asperellum* + *T. harzianum* + *T. virens*, por lo cual ejerció un mejor control, por otro lado, al evaluar quintozeno logró tener un porcentaje de incidencia del 22%, cercano y similar al tratamiento 3 químico-biológico.

### **Severidad**

En el análisis combinado entre genotipos existió diferencia altamente significativa ( $P < 0.0001$ ), siendo el genotipo DRD-8551 más tolerante a la infección de los patógenos, mostrando un 35.7% de severidad, mientras que el genotipo Rio Grande tuvo un 45.2%; para el caso del análisis combinado entre tratamientos, el control patógenos tuvo el mayor porcentaje de severidad (87.5%), seguido de los tratamientos 2 (45%) y 3 (35%) que son los tratamientos químico-biológicos, teniendo menor eficacia que los biológicos 5 (30.8%) y 4 (29.2%) que fueron estadísticamente iguales al tratamiento químico 7 (30%), pero diferente al tratamiento 6 (25.8%), sobresaliendo de igual forma que en la incidencia, que aunque no mostró síntomas en la parte aérea, si existió pudrición de raíces.

Gonzales, Montealegre y Herrera (2004), al inocular *Fusarium salani* en plantas de tomate obtuvo un 20% de severidad en las raíces tratadas con *T. harzianum*, severidad parecida a la de los tratamientos biológicos de este ensayo donde se inocularon cuatro cepas patógenas entre ellas *Fusarium*.

### **6.7.2 Ensayo en campo**

#### **Análisis individual por muestreo**

No existió diferencia estadística en el primer muestreo en la incidencia entre genotipos; en el caso de los tratamientos existió diferencia significativa ( $P = 0.0190$ ) donde el tratamiento 3 tuvo mayor incidencia (12.9%), diferente a los tratamientos 1(3.7%), 7(2.8%) 6(1.8%), 4(0.9%), 5(0.9% y 2(0%) de incidencia, que entre ellos fueron estadísticamente iguales. El tratamiento 6 el cual lleva

SWITCH® 62.5 WG (Fludioxonil+Ciprodinil), producto el cual *in vitro* inhibió en su totalidad a los cuatro patógenos, generó una incidencia de 1.8, igual a la reportada por Ayala (2014) en plantas de frijol infectadas con *Sclerotinia sclerotiorum*; en el segundo muestreo existió diferencia significativa ( $P = 0.0001$ ), donde el genotipo Rio Grande tuvo un porcentaje de incidencia de 51.9%, mientras que el genotipo DRD-8551 un 29.6%, para el caso de los tratamientos de igual forma existió diferencia significativa ( $P = 0.0025$ ), donde en el tratamiento 1 o control se encontró el mayor porcentaje de incidencia (58.3%), seguido de los tratamientos 4 y 3, con 43.5 y 39.8%, respectivamente e igual que en el caso del ensayo de invernadero, el tratamiento 6 fue el que tuvo menor porcentaje de incidencia (28.7%).

### **Análisis combinado**

En los análisis combinados entre muestreos, genotipos y tratamientos existieron diferencias altamente significativas ( $P < 0.0001$ ), en el caso de los muestreos, en el segundo se observó mayor porcentaje de incidencia (40.7%), mientras que en el primero solo un 3.3%; en el caso de los genotipos, el Rio Grande presentó mayor incidencia (27.9%) que el DRD-8551 (16.1%), esto debido a que es resistente a *Fusarium* (Seminis, 2017b); Para el caso de los tratamientos, el control fue en el cual se presentó un mayor porcentaje de incidencia (31%), seguido de los tratamientos 3 y 4 con 26.3 y 22.2%, respectivamente y el mejor tratamiento fue nuevamente el 6 con 15.3% de incidencia (Cuadro 7).

Este tratamiento incluye Pyraclostrobin que afecta la respiración, inhibiendo en el sitio fuera de la quinona por sus siglas en inglés QoI (Quinone outside inhibitors); Metil tiofanato, que afecta el citoesqueleto y proteínas motoras, afectando el ensamblaje de la  $\beta$ -tubulina en la mitosis; El Fludioxonil, que afecta la transducción de señales, inhibiendo la proteína MAP y la histidina-quinasa en la transducción de la señal osmótica en el sitio (os-2, HOG1); Ciprodinil, que afecta la síntesis de proteínas y aminoácidos, inhibiendo la biosíntesis de metionina; El Quintozeno, que afecta la síntesis o transporte de lípidos /

Integridad o función de la membrana, exactamente en la peroxidación de lípidos y el Metalaxil-M, que interfiere la síntesis de ácidos nucleicos, exactamente la Polimerasa I del RNA, como ninguno de los productos afectan en el mismo sitio no se corre el riesgo de crear resistencia (Frac, 2017).

Cuadro 7. Resultados de los análisis combinados en invernadero y campo.

Trat.	PI	PS	Trat.	PI
Invernadero			Campo	
1	83.3 A*	87.5 A	1	31.0 A
2	46.7 B	45.0 B	3	26.4 AB
3	28.3 C	35.0 C	4	22.2 ABC
5	15.0 D	30.8 CD	7	20.8 BC
7	15.0 D	30.0 CD	2	19.4 BC
4	13.3 D	29.2 CD	5	19.0 BC
6	3.3 DE	25.8 D	6	15.3 C
8	0.00 E	0.00 E		
Prob.	<0.0001	<0.0001		<0.0001
Rio Grande	33.8 A	45.2 A	Rio Grande	27.1 A
DRD-8551	17.5 B	35.7 B	DRD-8551	16.1 B
Prob.	<.0001	<0.0001	Prob.	<0.0001
Muestreo 2	17.1 B		Muestreo 1	3.31 B
Muestreo 3	34.2 A		Muestreo 2	40.7 A
Prob.	<0.0001		Prob.	<0.0001
C.V.	39.48623	9.593827	C.V.	54.4664

PI = Porcentaje de incidencia, PS = Porcentaje de severidad, C.V. = Coeficiente de variación

\* Medias dentro de columnas con la misma letra no son estadísticamente diferentes (Tukey,  $\alpha=0.05$ ).

## 6.8 Conclusiones

De acuerdo con los resultados obtenidos se llegó las siguientes conclusiones:

- El Genotipo DRD-8551, fue más tolerante que el genotipo Rio Grande al ataque de los patógenos en condiciones de invernadero y de campo
- El Tratamiento 6 (Headline®, Cercobin-m, Switch® 62.5 WG, Pentaclor 600 F y Ridomil® gold 480 SL) fue el mejor y más eficaz para el control de los patógenos, reduciendo la incidencia y la severidad en condiciones de invernadero.
- El Tratamiento 6 (Headline®, Cercobin-M, Switch® 62.5 WG, Pentaclor 600 F y Ridomil® gold 480 SL) fue el mejor y más eficaz para el control de los patógenos, reduciendo la incidencia drásticamente en condiciones de campo.
- Los tratamientos Biológicos fueron mejores que los tratamientos combinados.
- En condiciones de campo es más complicado determinar la eficiencia de los productos ya que varía de acuerdo a las condiciones climáticas, textura del suelo y concentración de los patógenos.

## 6.9 Agradecimiento

Al Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero y a la Universidad Autónoma Chapingo, por las facilidades para usar las instalaciones para el desarrollo de este experimento, así como el financiamiento y apoyo para el traslado al estado de Guerrero, el establecimiento, toma de datos y aplicación de los tratamientos en el experimento.

## 6.10 Literatura citada

- Ayala, A. Q. A. (2014). Efectividad de fungicidas para el control de moho blanco *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de maestría en ciencias agropecuarias. Universidad Autónoma de Sinaloa, Colegio de Ciencias Agropecuarias. Culiacán, Sinaloa, México.
- Bottrell, D. G. (1979). Integrated Pest Management. Council on Environmental Quality. U.S. Govt. Printing Office, Washington, D. C. 120 pp.
- Durman, S., Menendez, A., y Godeas, A. (1999). Evaluación de *Trichoderma* spp. Como antagonista de *Rhizoctonia solani in vitro* y como biocontrolador del Damping-off de plantas de tomate en invernadero. *Revista Argentina de Microbiología* 31: 13-18.
- Food Quality Protection Act. (1998). Food Quality Protection Act of 1996, P.L. 104- 170, Title II, Section 303, Enacted August 3, 1996. Codified in: Title 7, U.S. Code, Section 136 r-1. Integrated Pest Management.
- Fungicide Resistance Action Committee. (2017). FRAC Code List ©\*2017: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering). Recuperado de la red: <http://www.frac.info/docs/default-source/publications/frac-code-list/frac-code-list-2017-final.pdf>. Fecha de consulta: 01/03/2017.
- Gonzales, R., Montealegre, J., y Herrera, R. (2004). Control biológico de *Fusarium solani* en tomate mediante el empleo de los bioantagonistas *Paenibacillus lentimorbus* y *Trichoderma* spp. *Cien. Inv. Agr.* 31 (1): 21-28
- Morales, H. E. (2011). Control Biológico del Damping off en dos Genotipos de Tomate de Hábito Indeterminado y Semiindeterminado de Larga Vida de Anaquel con *Trichoderma asperellum*. Tesis para obtener el título de ingeniero agrónomo parasitólogo. UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO. DIVISION DE AGRONOMIA. Saltillo, Coahuila, México.
- Romero, A. L., Castro, J. y Rancho, F. (2012). Top Ciencia, BASF. Recuperado de la red: [http://agro.basf.co.cr/revistas/revista\\_top\\_ciencia13\\_1.pdf](http://agro.basf.co.cr/revistas/revista_top_ciencia13_1.pdf). Fecha de consulta: 10/10/2017.
- Schoonhoven, A. V., Pastor, C. M. A. (1987). Standard System for the Evaluation of Bean Germplasm. Colombia: CIAT. 54p.
- Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. (2016). Manejo Integrado de Plagas. 12 p.
- Seminis. (2017). Conoce y maneja enfermedades del suelo. Recuperado de la red: <http://www.seminis.mx/blog-conoce-y-maneja-enfermedades-del-suelo/>. Fecha de consulta 10/10/2017.

Seminis. (2017b). DRD-8551. Recuperado de la red: <http://www.seminis.mx/product/drd-8551/391>. Fecha de consulta: 01/11/2017.

Van der Plank, J. E. (1963). Epidemics and Control. New York: Plant Diseases Academic Press

Van der Plank, J. E. (1965). Dynamics of epidemics of plant disease. Science 147: 120-4.