



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA CHAPINGO

DEPARTAMENTO DE PARASITOLOGÍA AGRÍCOLA
MAESTRÍA EN PROTECCIÓN VEGETAL

**PATOGENICIDAD Y MANEJO DE LA PUDRICIÓN DE
RAÍZ Y CUELLO EN *Lycopersicon esculentum* Mill.
EN INVERNADERO**



T E S I S
QUE PRESENTA:
ERNESTO FERNÁNDEZ HERRERA
COMO REQUISITO PARCIAL
PARA OBTENER EL GRADO DE
**MAESTRO EN CIENCIAS EN
PROTECCIÓN VEGETAL**

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

Chapingo, Edo. de México., a enero de 2006



**PATOGENICIDAD Y MANEJO DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ Y
CUELLO EN *Lycopersicon esculentum* Mill. EN INVERNADERO**

Tesis realizada por **Ernesto Fernández Herrera** bajo la dirección del
Dr. Marcelo Acosta Ramos y aprobada por el Comité Asesor
indicado, y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

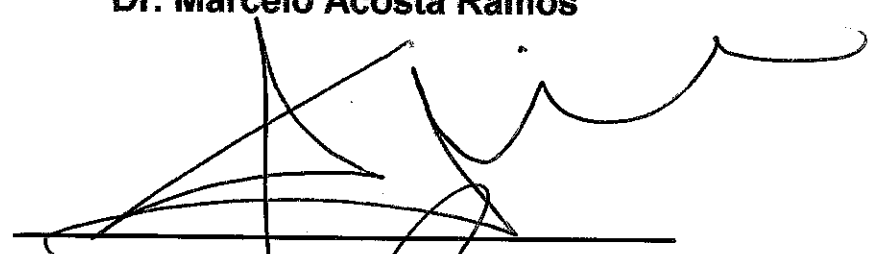
MAESTRO EN CIENCIAS EN PROTECCIÓN VEGETAL

DIRECTOR:



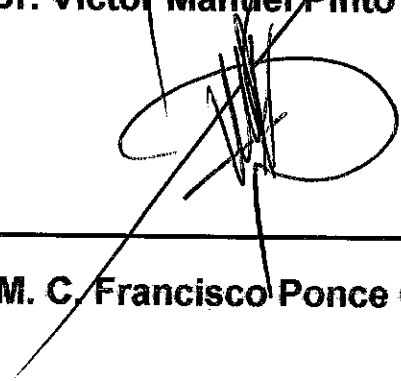
Dr. Marcelo Acosta Ramos

ASESOR:



Dr. Víctor Manuel Pinto

ASESOR:



M. C. Francisco Ponce González

DEDICATORIA

Con todo el cariño, respeto y
admiración:

A mis padres:

Estela Herrera Esteban y Ernesto
Fernández Sandoval

A mis hermanos:

Benito, Viviana, Blanca, Isidro y Jesús

Por ser fuente constante de apoyo,
amistad y comprensión

AGRADECIMIENTOS

Al pueblo de México, que a través de su Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) y de la Universidad Autónoma Chapingo, hicieron posible la obtención del presente grado académico.

Al Dr. Marcelo Acosta Ramos, quien como consejero y amigo, demostró ser una fuente constante de apoyo durante mi formación académica, así como en la realización, culminación y publicación de la presente investigación.

Al Dr. Víctor Manuel Pinto y al M. C. Francisco Ponce González, por el apoyo y revisión del presente trabajo.

A los profesores del Programa en Protección Vegetal por compartir su conocimiento, tiempo y experiencia para mi formación académica.

A las empresas Bayer Cropscience, Syngenta y Plant Health Care, Mexico por la disposición y aportación de los productos evaluados.

A mis compañeros de generación por los buenos y agradables momentos compartidos.

A todas las personas que no he nombrado, pero que de una o de otra forma contribuyeron en mi formación y elaboración de este trabajo.

DATOS BIOGRÁFICOS

Datos generales:

Nombre: Ernesto Fernández Herrera.

Fecha de Nacimiento: 25 de mayo de 1980.

Lugar de Origen: Tlapacoyan, Veracruz.

Profesión: Ingeniero Agrónomo.

Formación académica:

Licenciatura: Universidad Veracruzana, Campus Xalapa (1999-2003).

Maestría en Ciencias: Programa en Protección Vegetal del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo (2004-2005).

CONTENIDO

Índice de cuadros	x
Índice de figuras	xi
Prólogo	xiii
Resumen general	xiv
General summary	xiv

CAPÍTULO 1

DIAGNOSTICO Y MANEJO DE HONGOS CAUSANTES DE PUDRICIONES DE RAÍZ Y CUELLO EN JITOMATE EN INVERNADERO

1.	INTRODUCCIÓN GENERAL	1
	Objetivos	1
2.	REVISIÓN DE LITERATURA	5
2.1	Las enfermedades del jitomate	5
2.1.1.	<i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>lycopersici</i> (Sacc) Zinder y Hansen	5
2.1.1.1.	Distribución e importancia	5
2.1.1.2.	Clasificación taxonómica de <i>Fusarium oxysporum</i> según Barnett y Hunter, 1998	6
2.1.1.3.	Características morfológicas	6
2.1.1.4.	Condiciones que influyen en el desarrollo de la enfermedad	7
2.1.1.5.	Síntomas de la enfermedad	7
2.1.1.6.	Manejo de la enfermedad	8
2.1.2.	<i>Phytophthora capsici</i> Leo	9
2.1.2.1.	Distribución e importancia	9
2.1.2.2.	Clasificación taxonómica de <i>P. capsici</i> según Kirk <i>et al.</i> , 2001	9
2.1.2.3.	Características morfológicas	9
2.1.2.4.	Condiciones que influyen en el desarrollo de la enfermedad	9
2.1.2.5.	Síntomas de la enfermedad	10
2.1.2.6.	Manejo de la enfermedad	10
2.1.3.	<i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	11

2.1.3.1.	Distribución e importancia	11
2.1.3.2.	Clasificación taxonómica de <i>Rhizoctonia</i> según Kirk <i>et al.</i> , 2001	11
2.1.3.3.	Características morfológicas	11
2.1.3.4.	Condiciones que influyen en el desarrollo de la enfermedad	12
2.1.3.5.	Síntomas de la enfermedad	13
2.1.3.6.	Manejo de la enfermedad	13
2.2.	Microorganismos benéficos del suelo que estimulan el desarrollo de las plantas	14
2.2.1.	Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPRs)	15
2.2.1.1.	Géneros importantes de PGPRs	16
2.2.1.2.	<i>Bacillus</i> sp.	16
2.2.2.	<i>Trichoderma harzianum</i>	18
2.2.3.	Hongos formadores de micorriza arbuscular (HMA)	19
2.3.	Características generales de los fungicidas empleados en este es trabajo	22
2.3.1.	Ridomil Gold 4E	22
2.3.2.	Tokat 240 CE	23
2.3.3.	Aliette WDG	23
3.	REVISIÓN DE LITERATURA	25

CAPITULO 2

SÍNTOMAS Y PATOGENICIDAD DE HONGOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ Y CUELLO EN JITOMATE

	RESUMEN	37
	ABSTRACT	38
1.	INTRODUCCIÓN	39
	Objetivos	
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	40
2.1.	Colecta y procesamiento de material enfermo	40
2.1.1.	Colecta de plantas	40
2.1.2.	Procesamiento de las muestras y aislamiento de los hongos	40

2.2.	Purificación de los aislamientos	40
2.3.	Identificación de los aislamientos	41
2.4.	Obtención de cultivos puros de los aislamientos de hongos	41
2.4.1.	Cultivo monozoospórico de <i>P. capsici</i>	41
2.4.2.	Cultivo punta de hifa de <i>Rhizoctonia solani</i>	41
2.4.3.	Cultivo monoconidial de <i>Fusarium oxysporum</i>	42
2.5.	Conservación de los aislamientos	42
2.6.	Pruebas de patogenicidad	42
2.6.1.	Con <i>Phytophthora capsici</i> Leo.	42
2.6.1.1.	Preparación y cuantificación del inóculo	42
2.6.1.2.	Inoculación de plantas	43
2.6.2.	Con <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	44
2.6.2.1.	Preparación y cuantificación del inóculo	44
2.6.2.2.	Inoculación de plantas	44
2.6.3.	Con <i>Fusarium oxysporum</i>	45
2.6.3.1.	Preparación y cuantificación del inóculo	45
2.6.3.2.	Inoculación de plantas	45
2.7.	Reaislamiento y comparación del hongo inoculado	46
2.8.	Variables evaluadas	46
2.9.	Diseño experimental y análisis de los datos	47
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	48
3.1.	Frecuencia de aislamiento	48
3.2.	<i>Phytophthora capsici</i>	48
3.2.1.	Identificación de <i>Phytophthora capsici</i>	48
3.2.2.	Prueba de patogenicidad	48
3.2.3.	Reaislamiento de <i>P. capsici</i>	50
3.3.	<i>Rhizoctonia solani</i>	50
3.3.1.	Identificación de <i>Rhizoctonia solani</i>	50
3.3.2.	Prueba de patogenicidad	50
3.3.3.	Reaislamiento de <i>R. solani</i>	52
3.4.	<i>Fusarium oxysporum</i>	52
3.4.1.	Identificación de <i>Fusarium oxysporum</i>	52

3.4.2.	Prueba de patogenicidad	52
3.4.3.	Reaislamiento de <i>F. oxysporum</i>	54
3.5.	Inoculación conjunta de <i>P. capsici</i> , <i>R. solani</i> y <i>F. oxysporum</i>	54
4.	CONCLUSIONES	55
5.	LITERATURA CITADA	58

CAPÍTULO 3

MANEJO QUÍMICO CURATIVO Y PREVENTIVO DE LA MARCHITEZ DEL JITOMATE (*Phytophthora capsici* Leo.) EN INVERNADERO

	RESUMEN	61
	ABSTRACT	62
1.	INTRODUCCIÓN	63
	Objetivos	
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	64
2.1.	Preparación del inóculo	64
2.2.	Aplicación curativa y preventiva de los fungicidas	64
2.3.	Inoculación de <i>P. capsici</i> y manejo del experimento	65
2.4.	Variables evaluadas	65
2.5.	Diseño experimental	66
2.6.	Análisis estadístico	66
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	67
3.1.	Manejo químico curativo de la marchitez del jitomate	67
3.1.1.	Incidencia de la enfermedad y eficacia de los fungicidas	67
3.2.	Manejo químico preventivo de la marchitez del jitomate	68
3.2.1.	Incidencia de la enfermedad y eficacia de los fungicidas	68
3.3.	Incidencia de la marchitez del jitomate en aplicaciones Preventivas y curativas de fungicidas	70
4.	CONCLUSIONES	72
5.	LITERATURA CITADA	77

CAPÍTULO 4

MANEJO BIOLÓGICO DE *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* EN PLANTAS DE JITOMATE

	RESUMEN	79
	ABSTRACT	80
1.	INTRODUCCIÓN	
	Objetivos	81
2.	MATERIALES Y MÉTODOS	83
2.1.	Preparación y cuantificación del inóculo	83
2.1.1.	De <i>Phytophthora capsici</i> Leo	83
2.1.2.	De <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	83
2.1.3.	De <i>Fusarium oxysporum</i>	84
2.2.	Aplicación de los productos biológicos comerciales	84
2.3.	Inoculación de los hongos fitopatógenos	85
2.4.	Variables evaluadas	86
2.5.	Diseño experimental	86
2.6.	Análisis de los datos	86
3.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN	87
3.1.	Influencia de los productos biológicos en el crecimiento de las Plántulas de jitomate	87
3.2.	Manejo biológico de <i>P. capsici</i> en plantas de jitomate	88
3.3.	Manejo biológico de <i>R. solani</i> en plantas de jitomate	89
3.4.	Manejo biológico de <i>F. oxysporum</i> en plantas de jitomate	91
3.5.	Manejo biológico de la inoculación en mezcla de <i>P. capsici</i> , <i>R. solani</i> y <i>F. oxysporum</i> en plantas de jitomate	92
4.	CONCLUSIONES	94
5.	LITERATURA CITADA	96

ÍNDICE DE CUADROS

CAPÍTULO 1

Pag.

- Cuadro 1. Algunos géneros y especies de PGPRs de importancia en la agricultura. 16

CAPÍTULO 2

- Cuadro 1. Porcentaje de plantas muertas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad inoculadas con 1×10^5 zoosporas mL^{-1} de *P. capsici* mediante dos métodos de inoculación. 49

CAPÍTULO 3

- Cuadro 1. Fungicidas y dosis evaluadas para el control de *P. capsici* aplicados en forma curativa y preventiva en plántulas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad. 65
- Cuadro 2. Incidencia de la marchitez del jitomate (*P. capsici*) y eficacia de control con fungicidas aplicados de manera curativa en plantas de jitomate var. Río Grande. 68
- Cuadro 3. Incidencia de *P. capsici* y eficacia de control de los fungicidas aplicados de manera preventiva en plantas de jitomate. 69
- Cuadro 4. Incidencia de la marchitez del jitomate (*P. capsici*) en aplicaciones preventivas y curativas de fungicidas. 71
- Cuadro 5. Eficacia de fungicidas aplicados de manera preventiva y curativa para el control de la marchitez del jitomate (*P. capsici*). 72

CAPÍTULO 4

- Cuadro 1. Tratamientos evaluados para el manejo de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* en plantas de jitomate de 35 días de edad con cuatro productos biológicos comerciales. 85
- Cuadro 2. Influencia de la aplicación de cuatro productos biológicos comerciales en el crecimiento y biomasa de plantas de jitomate de 35 días de edad (sin inocular) en invernadero. 88

Cuadro 3.	Control de <i>R. solani</i> con cuatro productos biológicos comerciales en plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad en condiciones de invernadero.	90
-----------	--	----

ÍNDICE DE FIGURAS

CAPÍTULO 2

Pag.

Figura 1.	Características culturales, morfológicas y sintomatología inducida por patógenos del cuello y raíz del jitomate en invernadero: A) Crecimiento "In Vitro" de <i>Phytophthora capsici</i> en medio tomate-agar (TA); B) Esporangios de <i>P. capsici</i> en medio TA; C) Plantas de jitomate var. Río Grande con constricción de cuello 6 días después de la inoculación (ddi) con <i>P. capsici</i> ; D) Crecimiento "In Vitro" de <i>Rhizoctonia solani</i> en medio papa-dextrosa-agar (PDA); E) Características morfológicas de <i>R. solani</i> : 1) constricción, 2) septas, 3) ramificación en ángulo recto; F) Reducción del crecimiento por <i>R. solani</i> : Fa) testigo, Fb) planta con <i>R. solani</i> . 35 ddi; G) Crecimiento de <i>Fusarium oxysporum</i> en medio suelo-agar para la producción de macroconidios; H) Conidios de <i>F. oxysporum</i> : Ha) microconidios, Hb) macroconidios; I) Clorosis de un solo lado en jitomate var. Río Grande 10 ddi con <i>F. oxysporum</i> ; J) Clorosis y marchitez en jitomate Híbrido Yaqui 33 ddi; K) Clorosis y marchitez en jitomate var. Río Grande 10 ddi; L) Necrosis vascular por <i>F. oxysporum</i> en Híbrido Yaqui 40 ddi.	57
Figura 2.	Altura (en cm) de plantas de jitomate var. Río Grande inoculadas con <i>R. solani</i> y sin inocular (testigo).	51
Figura 3.	Comportamiento temporal de la incidencia de plantas muertas (marchitez) inducida por <i>F. oxysporum</i> en jitomate var. Río Grande e Híbrido Yaqui de 35 días de edad.	53

CAPÍTULO 3

Figura 1A.	Manejo químico curativo de la marchitez del jitomate (<i>Phytophthora capsici</i>) en la var. Río Grande: a) Testigo (sin hongo; ni fungicida); b) Testigo (5×10^4 zoosporas mL^{-1} de <i>P. capsici</i>); c) 5×10^4 zoosporas mL^{-1} de <i>P. capsici</i> + dosis baja de Fosetil-AI 80% ($2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$); d) 5×10^4 zoosporas mL^{-1} de <i>P. capsici</i> + dosis alta de Fosetil-AI 80% ($3.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$). Fotos tomadas 6 días después de la inoculación.	73
------------	---	----

- Figura 1B. Manejo químico curativo de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici*) en la var. Río Grande: e) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis baja de Metalaxil 46.2% ($1.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$); f) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis alta de Metalaxil 46.2% ($2.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$); g) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis baja de Metalaxil 25.3% ($2 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$); h) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis alta de Metalaxil 25.3% ($4 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$). Fotos tomadas 6 días después de la inoculación. 74
- Figura 2A. Manejo químico preventivo de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici*) en la var. Río Grande: a) Testigo (sin hongo; ni fungicida); b) Testigo (5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici*); c) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis baja de Fosetil-Al 80% ($2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$); d) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis alta de Fosetil-Al 80% ($3.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$). Fotos tomadas 5 días después de la inoculación. 75
- Figura 2B. Manejo químico preventivo de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici*) en la var. Río Grande: e) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis baja de Metalaxil 46.2% ($1.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$); f) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis alta de Metalaxil 46.2% ($2.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$); g) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis baja de Metalaxil 25.3% ($2 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$); h) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis alta de Metalaxil 25.3% ($4 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$). Fotos tomadas 5 días después de la inoculación. 76

CAPÍTULO 4

- Figura 1. Manejo biológico de *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* con cuatro productos comerciales biológicos en plantas de jitomate de 35 días de edad: A) T-22® (*Trichoderma harzianum*) + *R. solani*; B) Endo-Rhiza® (hongos micorrízicos) + *R. solani*; C) Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas) + *R. solani*; D) Bioraíz® + Endo-Rhiza® + *R. solani*; E) Bioraíz® + Endo-Rhiza® + *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*; F) Endo-Rhiza® + Healthy Start® 3-4-3 + *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*; G) *Rhizoctonia solani*. Fotos tomadas 15 días después de la inoculación. 95

PRÓLOGO

La presente investigación se debe a que la pudrición de la raíz y cuello del jitomate es una de las principales enfermedades de este cultivo, y ocasiona pérdidas económicas importantes a los agricultores. El presente estudio se realizó con la finalidad de conocer la sintomatología y patogenicidad de *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* en plantas de jitomate var. Río Grande, evaluar tres fungicidas en aplicaciones preventivas y curativas para el control de la marchitez del jitomate (*P. capsici*) en condiciones de invernadero, conocer la influencia de cuatro productos biológicos comerciales en el crecimiento de plantas de jitomate y determinar la eficacia de los mismos productos para el manejo de la pudrición de raíz y cuello en jitomate (*P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*) en invernadero.

La presente tesis esta integrada por cuatro capítulos, tres de los cuales son artículos científicos que corresponden a los capítulos 2, 3 y 4. Los artículos fueron escritos de acuerdo a las normas editoriales de la Revista Mexicana de Fitopatología. Por el estilo de escritura de la tesis en artículos o capítulos fue necesario repetir cierta información en algunos capítulos.

La introducción general y la revisión de literatura se presentan en el capítulo 1. El capítulo 2 trata sobre el aislamiento y patogenicidad de hongos que causan pudrición de raíz y cuello en jitomate, en donde se obtuvieron los resultados siguientes: se aislaron a *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* de pudrición de raíz y cuello de plantas de jitomate, los tres hongos fueron patogénicos, y *P. capsici* fue mas agresivo. En el capítulo 3, se reporta la evaluación de tres fungicidas para el manejo de *P. capsici* en invernadero, con los resultados siguientes: Metalaxil 46.2% y Fosetil-AI 80% aplicados curativamente, mostraron la incidencia menor de la enfermedad, mientras que Metalaxil 46.2% y Metalaxil 25.3% aplicados preventivamente, no permitieron el desarrollo de la enfermedad. El capítulo 4, aborda la influencia de cuatro productos biológicos comerciales en el crecimiento de plántulas y el manejo de hongos que causan pudrición de raíz y cuello en jitomate.

PATOGENICIDAD Y MANEJO DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ Y CUELLO EN *Lycopersicon esculentum* Mill. EN INVERNADERO

PATHOGENICITY AND MANAGEMENT OF THE ROOT AND NECK ROT IN *Lycopersicon esculentum* Mill. IN GREENHOUSES

Ernesto Fernández-Herrera¹ y Marcelo Acosta-Ramos²

RESUMEN GENERAL

La presente investigación tuvo como objetivos: Realizar pruebas de patogenicidad de los aislamientos obtenidos de pudriciones de raíz y cuello en jitomate; Evaluar fungicidas aplicados curativa y preventivamente contra *P. capsici*; y evaluar productos biológicos comerciales para el manejo de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*. Se aislaron a *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* de pudrición de raíz y cuello de plantas de jitomate, los tres hongos fueron patogénicos, y *P. capsici* fue mas agresivo (100% de plantas muertas); Metalaxil 46.2% y Fosetil-AI 80% aplicados curativamente, mostraron la incidencia menor de la enfermedad (16.7%), con eficacias de control de 83.3%. Metalaxil 46.2% y Metalaxil 25.3% aplicados preventivamente, no permitieron el desarrollo de la enfermedad (0% de daño y 100% de control); Los productos Bioraiz®, Bioraiz® + Endo-Rhiza® y Endo-Rhiza® + Healthy Start® 3-4-3, incrementaron la altura en 162.7, 149.4 y 47% respectivamente, y la biomasa en 319, 313 y 57% respectivamente, respecto al testigo. El T-22® protegió en un 100% a las plantas de jitomate de la infección de *R. solani*, y Bioraiz®, Endo-Rhiza® y Healthy Start® 3-4-3 la redujeron en un 73.3%.

Palabras claves: Incidencia, eficacia, manejo biológico, control químico.

GENERAL SUMMARY

The present research had the following objectives: to make tests of pathogenicity on the isolations obtained from rotted tomato roots and necks; to evaluate fungicides applied curatively and for prevention against *P. capsici*; and to evaluate commercial biological products to combat *P. capsici*, *R. solani* and *F. oxysporum*. *P. capsici*, *R. solani* and *F. oxysporum* were isolated from the neck and root of tomato plants. Three of the fungus were pathogenic and *P. capsici* was the most aggressive (100% of the plants died); Metalaxil 46.2% and Fosetil-AI 80% applied curatively resulted in less plant loss (16.7%) with 83.3% effectiveness in controlling the fungi. Metalaxil 46.2% and Metalaxil 25.3% applied preventively did not permit the development of the disease (0% damage and 100% control); the products Bioraiz®, Bioraiz® + Endo-Rhiza® and Endo-Rhiza® + Healthy Start® 3-4-3 increased the height 162.7%, 149.4% and 47% respectively and the biomass in 319%, 313% and 57% respectively when compared to the control. T-22® protected the tomato plants 100% from infection of *R. solani*, while Bioraiz®, Endo-Rhiza® and Healthy Start® 3-4-3 reduced infection 73.3%.

Key words: incidence, efficiency, biological management, chemical control.

¹ Tesista

² Director de tesis

¹ Thesis writer

² Director thesis

CAPÍTULO 1

PATOGENICIDAD Y MANEJO DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ Y CUELLO EN *Lycopersicon esculentum* Mill. EN INVERNADERO

1. INTRODUCCIÓN GENERAL

El jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) es originario del Sur de América, la llegada de los españoles permitió la expansión de este producto al viejo continente, y de ahí a todo el mundo, de tal forma que hoy podemos encontrar entre los productores mundiales principales a China (30,142,040 t), Estados Unidos de América (12,766,000 t), Turquía (8,000,000 t), Italia (7,496,997 t), India (7,600,000 t) y Egipto (6, 780, 000 t) (FAOSTAT, 2004).

En México el jitomate es una las especies hortícolas con gran importancia económica y social, debido principalmente al valor que tiene la producción, y a la demanda de mano de obra que genera (Claridades-Agropecuarias, 1998). Actualmente México en el año 2004 produjo 1,527,754 toneladas, siendo los estados productores principales Sinaloa, Baja California, Nayarit, Sonora, Tamaulipas, Michoacán, San Luis Potosí y Jalisco (SAGARPA, 2005).

La rentabilidad del cultivo depende de factores diversos como son; el ambiente (luz, temperatura, humedad relativa, ventilación, entre otros), nutrición, sistema de riego, potencial genético de la planta y control de plagas y enfermedades. En este sentido el cultivo del jitomate presenta problemas fitosanitarios diversos, ya que puede ser atacado por más de 58 patógenos como bacterias, fitoplasmas, virus, viroides, y hongos, siendo este último uno de los que más daño causan al rendimiento del cultivo (Blancard, 1990).

Entre los hongos fitopatógenos principales que atacan al jitomate se encuentran: *Botrytis cinerea* (moho gris), *Alternaria solani* (tizón temprano), *Phytophthora infestans* (tizón tardío), *Sclerotinia sclerotiorum* (moho blanco), *Pythium* sp., *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* (pudrición de la corona), *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (marchitez del jitomate), *Phytophthora capsici*

(podrición de cuello y raíz), y *Rhizoctonia solani* (ahogamiento), destacando estos últimos tres hongos por su capacidad de atacar en estado de plántula o planta adulta, ocasionando pérdidas económicas importantes para el agricultor (Mendoza, 1996).

La podrición de raíz y cuello ocasionada por *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* causa pérdidas de hasta el 100 %, cuando no se realizan las prácticas de control oportunas. Estos hongos sobreviven de un ciclo a otro a través de estructuras de resistencia como oosporas, esclerocios y clamidosporas, respectivamente, lo que ha dificultado el manejo de la enfermedad. El control químico ha sido deficiente y variable. Además los hongos pueden desarrollar resistencia a los fungicidas empleados (Pérez-Moreno *et al.*, 2002). Lo anterior y los problemas de seguridad pública inherentes a la fabricación y uso de los agroquímicos han conducido a la búsqueda y establecimiento de alternativas nuevas de manejo de las enfermedades (Zavaleta-Mejía, 2000).

En este contexto el control biológico se debe considerar como una de las partes importantes de un programa de control integrado, en el que mediante la aplicación de varios métodos de control se pueda llegar a establecer un equilibrio, de tal forma que las poblaciones de los fitopatógenos se puedan mantener en un nivel tal que su impacto económico sea mínimo o nulo (Zavaleta-Mejía, 1994).

El control biológico se ha enfocado principalmente al manejo de fitopatógenos habitantes del suelo, de ahí que la mayoría de los productos desarrollados para el biocontrol de fitopatógenos, lo sean para hongos que afectan la raíz. Muchas enfermedades con origen en el suelo pueden ser suprimidas por ciertas rizobacterias y hongos que colonizan efectivamente las raíces y producen compuestos antifúngicos extracelulares. Entre los microorganismos más importantes se encuentran los hongos formadores de micorriza arbuscular, las bacterias de los géneros *Pseudomonas* y *Bacillus* , así como, los hongos de los géneros *Gliocladium* y *Trichoderma* (Haas *et al.*, 2000; Fernández-Larrea, 2001; Azcón, 2000).

Dado que los hongos causantes de pudriciones de raíz y cuello en el jitomate son una limitante seria para la producción y rentabilidad del cultivo, y debido a los daños grandes que ocasionan, ya sea en su calidad o rendimiento de las cosechas, es necesario la búsqueda de medidas de control que sean más amigables al ambiente, y que puedan minimizar los daños ocasionados por estos hongos, para poder establecer programas de manejo más eficientes que permitan eficientizar la producción de esta hortaliza. Por lo tanto, es de gran relevancia realizar estudios sobre la sintomatología inducida individualmente por cada uno de estos hongos, con la finalidad de determinar de forma correcta los agentes causales de la enfermedad y con esto poder establecer la medidas de manejo más adecuada para su control. Del mismo modo, es de interés realizar investigaciones sobre el control químico de *P. capsici* para validar si los productos existentes en el mercado aun siguen siendo eficaces. Así como evaluar el manejo de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* con productos comerciales de origen biológico, con la finalidad de considerarlos como posibles alternativas que integren posteriormente un manejo integrado de esta enfermedad. En base en lo anterior se realizó la presente investigación con los objetivos siguientes:

1. Determinar la sintomatología inducida por *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* en plantas de jitomate var. Río Grande e híbrido Yaqui
2. Evaluar la patogenicidad (individual y conjunta) de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* en plantas de jitomate var. Río Grande e híbrido Yaqui.
3. Evaluar la eficacia de Metalaxil 46.2%, Fosetil-Al 80% y Metalaxil 25.3% en aplicaciones preventivas y curativas para el control de la marchitez del jitomate (*P. capsici*) en condiciones de invernadero.
4. Evaluar la influencia de los productos biológicos: Bioraíz® (*Bacillus subtilis*), Endo-Rhiza® (hongos micorrízicos arbusculares), T-22® (*Trichoderma harzianum*), y Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas) en el crecimiento de plantas de jitomate en condiciones de invernadero.

5. Determinar la eficacia biológica de los productos comerciales Bioraíz® (*Bacillus subtilis*), Endo-Rhiza® (hongos micorrízicos arbusculares), T-22® (*Trichoderma harzianum*), Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas) para el manejo de la pudrición de raíz y cuello en jitomate (*P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*) en invernadero.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Las enfermedades del jitomate

Las enfermedades constituyen un factor limitante en la producción de tomate en muchas partes del mundo cuando no se utilizan cultivares con resistencia a ellas. Existen cerca de 35 enfermedades del tomate causadas por hongos fitopatógenos para cuyo control se utilizan cultivares resistentes, así como medidas de exclusión, erradicación, y protección, en el contexto de un programa de manejo integrado (Tigchelaar, 2001).

2.1.1. *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* (Sacc) Zinder y Hansen

2.1.1.1. Distribución e importancia

Esta enfermedad fue descrita por primera vez por G.E. Masee en Inglaterra en 1895. Es una enfermedad de importancia mundial, habiendo sido descrita al menos en 32 países. La enfermedad es destructiva en campo en localidades meridionales de Estados Unidos y Europa, pero en las zonas más al norte la enfermedad se desarrolla sólo en los cultivos de invernadero debido a la limitación de la temperatura (Smith *et al.*, 1992). En México, la enfermedad se encuentra distribuida en Sinaloa, Morelos, Edo. de México, San Luis Potosí, Michoacán, en El Bajío y otras áreas de menor importancia (Mendoza, 1996).

Fusarium oxysporum f.sp. *lycopersici* sólo ataca a plantas de jitomate. Actualmente se han descrito tres razas fisiológicas de este patógeno. La raza 1 es la más ampliamente distribuida, y se ha detectado su presencia en la mayoría de las áreas geográficas. En 1940 se identificó la raza 2 en Ohio (Estados Unidos) aunque sus ataques no causaron pérdidas económicas hasta su descubrimiento en Florida en 1961. Después de esto, la raza 2 se identificó rápidamente en varios estados de los Estados Unidos y en otros países, incluyendo Australia, Brasil, Gran Bretaña, Israel, México, Marruecos, Países Bajos, e Iraq. La raza 3 fue localizada en Brasil en 1966 y desde entonces se ha encontrado en Australia, Florida y California, Estados Unidos (Nuez, 1995; Kistler, 1997; Jones, 2001).

En México, la marchitez o fusariosis del jitomate se encuentra distribuida ampliamente en todas las zonas tomateras de Sinaloa. Así mismo, Carrillo-Fasio *et al.* 2003, realizaron un muestreo y colecta de plantas de jitomate con síntomas de marchitez en 20 campos hortícolas del Valle de Culiacán, Sinaloa, para determinar las razas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* que ocurren en dichas zonas productoras del mismo Valle, y encontraron a través de líneas diferenciales de jitomate, que del total de aislamientos obtenidos, el 60% correspondió a la raza 2 y el 40% a la raza 3 de dicho hongo, sin embargo no se encontró la raza 1 en ninguna de las zonas muestreadas.

2.1.1.2. Clasificación taxonómica de *Fusarium oxysporum* según Barnett y Hunter, 1998.

Reino: Eumicota o Fungi

Phyllum: Ascomicota

Clase: Ascomycetes

Orden: Moniliales

Familia: Moniliaceae

Género: *Fusarium*

Especie: *oxysporum*
(Carece de fase sexual)

2.1.1.3. Características morfológicas

Los aislados de *Fusarium oxysporum* producen micelio entre rosado y blanco, a menudo con un matiz purpúreo. Los microconidios son abundantes, se generan en fiálidas simples emergiendo lateralmente, presentan forma oval-elipsoide, erectas a curvadas. Los macroconidios son los conidios típicos de *Fusarium*, las cuales pueden ser escasos y se producen en conidióforos ramificados o bien en la superficie de los esporodoquios; poseen una pared fina, de tres a cinco septas, y su morfología es fusiforme con ambos extremos puntiagudos. Las clamidosporas tienen pared engrosada que puede ser lisa o rugosa, son abundantes y se generan de forma terminal o intercalar. Normalmente son solitarias, pero en ocasiones se forman en pares o en cadenas (De la Garza, 1996).

2.1.1.4. Condiciones que influyen en el desarrollo de la enfermedad

El daño de la enfermedad es más intenso de 21 a 33 °C, sin embargo a bajo de los 21 °C o por arriba de los 33 °C, el hongo se desarrolla más lentamente. Su crecimiento y reproducción son mayores con temperaturas del suelo alrededor de 27-29 °C y las plantas generalmente mueren de 2 a 4 semanas después de que aparecen los primeros síntomas de la enfermedad (Mendoza, 1999).

Suelos con contenido alto de nitrógeno y bajos en potasio favorecen el desarrollo de la enfermedad. Sin embargo, bajo contenido de nitrógeno combinado con alto contenido de potasio reducen la enfermedad. El hongo se introduce a áreas nuevas por semilla, plántulas que provienen de suelos infestados, agua de riego, lluvia, viento, implementos agrícolas u otros medios en los que se movilizan plantas o suelo infestado. Una vez que ha sido introducido en el suelo el hongo puede sobrevivir ahí indefinidamente (Booth, 1971; León, 1978; Holliday, 1980).

El hongo penetra por heridas o aberturas naturales de las raíces, invadiendo al xilema y propagándose en forma ascendente hacia el tallo y la corona de la planta. El micelio se ramifica y produce microconidios que son desprendidos y llevados hacia la parte superior de la planta en el torrente de savia. La obstrucción de los vasos por los conidios, geles, gomas y tilosis, producen un déficit de agua en las plantas afectadas, ocasionando que los estomas se cierren, las hojas se marchiten y la planta muera (Krupa y Dommergues, 1979; Agrios, 1986).

2.1.1.5. Síntomas de la enfermedad

Los primeros síntomas aparecen al inicio de la floración o durante la formación de los primeros frutos, y consisten en un amarillamiento de la hojas inferiores, las cuales gradualmente se marchitan muriendo adheridas a la planta y posteriormente caen al suelo. También los síntomas pueden aparecer en un solo lado de la planta (ataque en el tejido conductor de algunas ramas) mientras que el resto puede permanecer sano, aunque se pueden manifestar en toda la

planta (Mendoza, 1996). Conforme avanza la enfermedad la marchitez se va extendiendo hasta que la planta se colapsa y muere (Smith *et al.*, 1992).

En cortes transversales del tallo, principalmente en la parte inferior del mismo, se puede observar una coloración café oscura del tejido vascular, si el corte es longitudinal se puede observar una tonalidad café del xilema a lo largo de todas las ramas, tallos y raíces (Mendoza y Pinto, 1983; Rowe, 1980).

2.1.1.6. Manejo de la enfermedad

Cuando un cultivo de jitomate establecido es atacado por la enfermedad ninguna medida resulta eficaz para su control, se han utilizado tratamientos sucesivos de benomil y metil-tiofanato al cuello de la planta con resultados pocos satisfactorios, por lo que durante el ciclo de cultivo conviene eliminar la cantidad mayor de residuos de plantas enfermas (Cruz-Alcalá, 1996).

Una medida eficiente para la prevención de la enfermedad es el tratamiento de la semilla con agua caliente por 10 minutos a una temperatura de 50 °C. Sin embargo, la medida más práctica y económica para el manejo de esta enfermedad es el uso de variedades resistentes al hongo. Algunas de estas variedades son; Walter, Pole Boy, MH-1 y Floradade, así como, los híbridos Bataoto, Yaqui, Buenavista, Pampero y Loreto que son resistentes a la raza I y 2 del hongo (León, 1978; Blancard, 1990).

Otra medida que se recomienda es la desinfección del suelo con vapor o bromuro de metilo, aunque se han expresado temores de que una reinfestación del suelo esterilizado pueda causar pérdidas mayores de que si no se hubiera tratado (Smith *et al.*, 1992). Por otra parte, Mendoza (1996), mencionó que la inmersión de las plántulas de jitomate antes del trasplante en una solución de fungidas sistémicos como el Tecto 60 (tiabendazol) y el Benlate (benomil) puede disminuir el daño ocasionado por *F. oxysporum* f.sp. *lycopersici*.

2.1.2. *Phytophthora capsici* Leo

2.1.2.1. Distribución e importancia

Esta especie se encontró por primera vez en Nuevo México (Estados Unidos de América) atacando cultivos de pimiento. En México, se identificó este patógeno por Galindo (1960), demostrando que la marchitez del chile anteriormente atribuida a *Fusarium*, en realidad era causada por *P. capsici*. Esta enfermedad ocasiona daños de hasta 80% en las zonas productoras de chile en El Bajío, Aguascalientes y San Luis Potosí. También afecta a las curcubitáceas (calabaza, pepino, sandía, melón), en tomate ocasiona daños de hasta 50% en Nayarit y Jalisco (Mendoza y Pinto, 1983).

2.1.2.2. Clasificación taxonómica de *P. capsici* según Kirk et al., 2001:

Reino: Stramenopila o Chromista

Phylum: Oomycota

Clase: Oomycetes

Orden: Pythiales

Familia: Pythiaceae

Géneros: *Phytophthora*

Especie: *capsici*

2.1.2.3. Características morfológicas

Es una especie heterotálica, con micelio muy ramificado, liso o con hinchamientos, colonia de apariencia finamente radiada, esporangios de forma muy variable, predominan los ovoides, elípticos, oval-alargados y globosos, de 28 a 123 μ de largo por 21 a 50 de ancho, promedio 53.0 x 30.5 μ con papila conspicua, a veces desviada, frecuentemente con 2 papilas, clamidosporas ausentes o raras, oogonios de esféricos a subesféricos, de paredes lisas, anteridios basales anfiginos, oosporas appleróticas, esféricas a subesférica, con pared gruesa y lisa, de color amarillo a castaño (Holliday, 1980; Romero, 1988).

2.1.2.4. Condiciones que influyen en el desarrollo de la enfermedad

La marchitez del jitomate generalmente se produce durante los periodos en los que el ambiente cálido y húmedo es prolongado. *P. capsici* es diseminado por

agua superficial y salpicaduras de lluvia con inóculo hacia los órganos aéreos de la planta (Blancard, *et al.*, 2000).

Para el desarrollo de ataques severos y pérdidas extensas son esenciales el exceso de humedad en el suelo y temperaturas de 10 a 30 °C, con óptimas de 24 a 26 °C. La saturación del suelo con agua durante al menos 5 horas es suficiente para favorecer la infección de las plantas por el hongo (Stevenson, 2001).

2.1.2.5. Síntomas de la enfermedad

El hongo penetra por estomas, lenticelas e hidátodos, o directamente rompiendo las barreras de protección de la cutícula de la planta, mediante la secreción de enzimas pectolíticas que reblandecen o maceran los componentes de dichas barreras (Redondo-Juárez, 1986). En la mayoría de los casos el hongo inicia su ataque a nivel del cuello de la planta produciendo canchales de color café oscuro, al principio húmedos y después se vuelven blandos y secos, acompañado de una ligera constricción que avanza rápidamente. Esto ocasiona una marchitez progresiva del hospedante conforme avanza la enfermedad hasta que la planta cae al suelo y muere (Cruz-Alcalá, 1996).

2.1.2.6. Manejo de la enfermedad

La prevención de esta enfermedad es posible mediante la rotación de cultivos evitando la siembra sucesiva de los hospedantes susceptibles de *P. capsici* como son: chile, calabaza y pepino, eliminando inmediatamente cualquier planta que empiece a mostrar marchitez, uso de semillas sanas, haciendo surcos altos, de tal manera que el agua de riego o lluvia nunca llegue a la base de las plantas, así como, procurando que el terreno donde se va a hacer el trasplante esté nivelado y tenga buen drenaje (Galindo, 1962; García-Morató, 1996).

El manejo químico es eficiente para la prevención de la enfermedad salvo en casos de infestación extrema del suelo. Los fungicidas que comúnmente se han empleado con éxito para el control de *P. capsici* son Ridomil Gold 4E (Metalaxil 48%), Tokat 240 (Metalaxil 25.3 %), Aliette WDG (Fosetil-Al) y Previcur N

(Propamocarb clorhidrato) (Pérez-Moreno *et al.*, 1990; González-Villalobos, 1997; Fernández-Herrera *et al.*, 2005; Galván-Lamas *et al.*, (2005).

2.1.3. *Rhizoctonia solani* Kühn

2.1. 3.1. Distribución e importancia

Rhizoctonia solani Kühn es uno de los hongos más importantes que causan enfermedades a las plantas cultivadas y esta distribuido en todas las zonas agrícolas del mundo (Lucas *et al.*, 1985).

Este patógeno causa diferentes tipos de enfermedades como; muerte de plántulas, pudrición de raíz y base del tallo, cancro del tallo y pudrición de frutos en una variedad amplia de cultivos agrícolas. La muerte de plántulas jóvenes en preemergencia y postemergencia ocurre tanto en invernadero como en cultivos de siembra directa al aire libre. Así mismo, la pudrición de la raíz es más severa cuando las plantas se encuentran en condiciones de estrés o han sido dañadas especialmente por nematodos noduladores. La pudrición de frutos es un problema serio en aquellas zonas productoras de jitomate con clima cálido y húmedo (Baker, 1970).

2.1.3.2. Clasificación taxonómica de *Rhizoctonia* según Kirk *et al.*, 2001.

Reino: Eumycota o Fungi

Phyllum: Basidiomycota

Clase: Basidiomycetes

Subclase: Agaricomycetidae.

Orden: Ceratobasidiales

Familia: Ceratobasidiaceae

Género: *Tanathephorus*

(*Rhizoctonia*)

2.1.3.3. Características morfológicas

El género *Rhizoctonia* es un grupo de hongos grande, diverso y complejo Su taxonomía es aún confusa y controversial, principalmente a que su morfología

es muy sencilla y los rasgos fisiológicos y patológicos que se usan en su clasificación varían mucho. Sin embargo, en base en la variación fenotípica entre los aislamientos de este patógeno y la reacción de anastomosis de hifas se ha dividido a dicho hongo en 14 grupos anastomóticos y varios subgrupos (González-Hernández, 2002).

Este hongo presenta micelio de crecimiento rápido, color café claro a café oscuro, con ramificaciones en ángulo recto o agudo, constricción en la unión de las ramificaciones cerca su sitio de origen, las hifas son hialinas en cultivos jóvenes y marrón oscuras al envejecer, el diámetro de las hifas oscila entre 8-12 μm , así como, células moniloides de tamaño y forma variables (Butler y Bracker, 1970; Parmeter y Whitney, 1970).

El estado perfecto de *R. solani* se encuentra dentro de los géneros de los Basidiomycetes siguientes; *Thanatephorus*, *Ceratobasidium* y *Waitea*, siendo el primer género, al que pertenecen la mayoría de los grupos de anastomosis (Carling y Summer, 1992).

2.1.3.4. Condiciones que influyen en el desarrollo de la enfermedad

Este hongo es un habitante natural de los suelos agrícolas capaz de colonizar casi cualquier tipo de material vegetal muerto y/o vivo, y sobrevive por varios meses en forma de micelio en los restos de residuos vegetales infectados o hasta 5 años en forma de esclerocios. *R. solani* una vez que se establece en un campo, permanece por tiempo indefinido en él (Lucas *et al.*, 1985). Factores del suelo como la temperatura, humedad, pH, y la actividad de microorganismos asociados, influyen en su supervivencia y en la cantidad de inóculo.

El hongo penetra muy bien a través de las heridas, pero también es capaz de invadir el tejido joven y succulento de forma directa. Una vez que *R. solani* ha invadido el tejido vegetal se produce una rápida destrucción del mismo debido a la fuerte acción enzimática del patógeno (Krupa y Dommergues, 1979).

El hongo se disemina por la lluvia y los riegos, así como, por los órganos de propagación infectados. La temperatura óptima para el desarrollo de la infección

en la mayoría de los grupos de anastomosis oscila entre 15 y 18 °C, aunque algunos grupos muestran una actividad mayor a temperaturas mucho más altas, a más de 35 °C. La enfermedad es más severa en suelos que son moderadamente húmedos, mientras que en suelos secos o inundados se tiende a inhibir el desarrollo fúngico (Agrios, 1986).

2.1.3.5. Síntomas de la enfermedad

Puede existir fallas en la germinación de las semillas debido a que estas se pudren o bien las plántulas pueden morir antes o justo después de emerger del suelo, en esta etapa el hongo ataca principalmente al hipocótilo, produciendo lesiones de coloración marrón, pardo rojizas o casi negras cerca de la línea del suelo. Esta necrosis de los tejidos en la base del tallo joven hacen que éstos se ablanden, pierdan capacidad de sostén, y como consecuencia la planta se doble y muera (Krupa y Dommergues, 1979; Lucas *et al.*, 1985). Los canchros basales del tallo se pueden desarrollar en plantas en crecimiento o maduras cuando las condiciones son favorables para el hongo y desfavorables para la planta. La enfermedad comienza con una lesión hinchada de tono castaño o pardo rojizo, que aparece en la línea del suelo o justo debajo de ella pudiendo extenderse hasta la mayor parte de la zona basal de la planta o incluso hasta el sistema de raíces (McCarter, 2001).

Los frutos que están en contacto con el suelo presentan manchas de coloración marrón claro a pardas, ligeramente suberificadas en el centro, con manchitas concéntricas y con los márgenes bien limitados (Blancard, 1990).

2.1.3.6. Manejo de la enfermedad

Se recomienda establecer la plantación en suelos con buen drenaje, hacer rotación de cultivos y riegos ligeros. Otras medidas es evitar excesos de humedad, lugares sombríos, poblaciones altas de plantas y fertilización baja en nitrógeno (Mendoza, 1996).

La desinfección del suelo se puede hacer con Metam sodio (Vapam), para lo cual se debe utilizar un litro de Vapam diluido en 30 litros de agua para una

cama de suelo de 10 m de largo por uno de ancho y 20 cm de altura. La mezcla de 30 litros se distribuye muy bien con una regadera y al terminar se sigue regando con agua hasta mojar completamente el suelo; así, el Vapam penetra bien y no escapan los gases que produce. Se riega diariamente durante cinco días más y se dejan pasar 15 días a partir de la fecha de aplicación. Después se afloja la superficie del suelo y se deja airear por 24 horas antes de empezar a llenar las bolsas (De los Santos de la R *et al.*, 2000). Otro tratamiento se puede realizar con dazomet (Basamid) a dosis de $35 \text{ g} \cdot \text{m}^{-2}$.

La semilla puede tratarse con algún fungicida cúprico, así también, la siembra puede ser poco profunda de tal manera que se asegure la germinación de la semilla y la emergencia de la plántula. El lugar donde se mantengan las charolas germinadoras debe mantenerse a temperatura moderada para promover la germinación de la semilla y el crecimiento de plántula. La adecuada circulación del aire, luz y ventilación disminuye la incidencia de la enfermedad (Tlapal-Bolaños, 2005).

2.2. Microorganismos benéficos del suelo que estimulan el desarrollo de las plantas

Las comunidades microbianas de la rizosfera de las plantas, consisten de algunas poblaciones que tienen efectos benéficos ó nocivos sobre el crecimiento vegetal, su estructura esta influenciada por factores ambientales y fisiológicos, tanto de la planta como de los microorganismos (Muñoz, 1993). En este sentido, existen microorganismos del suelo que pueden incrementar la disponibilidad de nutrientes para la plantas y otros más que producen compuestos como vitaminas, reguladores del crecimiento y antibióticos que contribuyen a la salud vegetal y a la obtención de rendimientos altos en los cultivos agrícolas (Hernández-Díaz y Chailloux-Laffita 2001).

Según Burr y Caesar (1984), algunos de los microorganismos que estimulan de manera directa e indirecta el desarrollo y sanidad de las plantas son; bacterias fijadoras de nitrógeno, hongos micorrízicos arbusculares, agentes de control biológico tales como *Trichoderma* spp., y rizobacterias promotoras de

crecimiento vegetal, sobresaliendo los tres últimos, por su importancia como agentes biocontroladores de enfermedades del suelo.

Actualmente el control biológico en la fitopatología ha sido enfocado al control de fitopatógenos habitantes del suelo, de ahí que la mayoría de los productos comerciales desarrollados para el control de fitopatógenos, lo sean para patógenos de la raíz. Esto se ha intentado principalmente mediante dos estrategias: 1) tomando ventaja de los antagonistas nativos, partiendo del hecho de que en la naturaleza existen infinidad de enemigos naturales de los patógenos, y 2) mediante la introducción de antagonistas (Zavaleta-Mejía, 1994).

2.2.1. Rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPRs)

El término PGPR (Plant Growth Promoting Rhizobacteria) fue propuesto por Kloepper y Schroth en 1978, en el cual describen a un grupo de bacterias que habitan en la rizosfera de las plantas induciendo un efecto positivo en la promoción del crecimiento y rendimiento de los cultivos.

Las rizobacterias promotoras del crecimiento (PGPRs) son organismos aislados de la rizosfera de las plantas, que promueven su crecimiento a través de la producción de metabolitos secundarios, los cuales pueden ser utilizados como reguladores del crecimiento o precursores de estos y/o indirectamente por la supresión de microorganismos fitopatógenos, debido a la producción de antibióticos, sideróforos o a la inducción de mecanismos de resistencia sistémica (Dowling y O'gara 1994; Mahaffee y Kloepper, 1994; De Leij *et al.*, 2002).

Muchas enfermedades causadas por hongos patógenos habitantes del suelo pueden ser suprimidas por ciertas rizobacterias que colonizan efectivamente las raíces y producen compuestos antifúngicos extracelulares (Haas *et al.*, 2000). Los mecanismos responsables del control biológico de hongos y bacterias patógenas por parte de las rizobacterias son; la competencia por los nutrientes, la exclusión de nichos ecológicos, la inducción de resistencia sistémica inducida (RSI) y la producción de metabolitos antifúngicos como el ácido cianhídrico

(HCN), antibióticos (2-4 dimetilfluoroglucinol) y sideróforos (Mahaffee y Kloepper, 1994; Reddy *et al.*, 1994).

2.2.1.1. Géneros importantes de PGPRs

Dentro del grupo de organismos considerados PGPRs se incluyen géneros bacterianos que son capaces de promover el crecimiento y desarrollo vegetal, y de proteger a las plantas de fitopatógenos habitantes del suelo. En el cuadro 1 se enlistan aquellos géneros y especies de bacterias que se consideran importantes por favorecer de manera directa o indirecta el crecimiento y desarrollo de plantas de interés agrícola.

Cuadro 1. Algunos géneros y especies de PGPRs de importancia en la agricultura

Género y/o especie	Referencia
<i>Acetobacter diazotrophicus</i>	Bashan <i>et al.</i> , 1996
<i>Azoarcus</i> sp.	Baca <i>et al.</i> , 2000
<i>Azospirillum brasilense</i>	Subba <i>et al.</i> , 1985
<i>Azotobacter chroococcum</i>	Tilak <i>et al.</i> , 1982; Bashan <i>et al.</i> , 1996
<i>Bacillus</i> sp.	Chanway <i>et al.</i> , 1989
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i>	Il-Pyung, <i>et al.</i> , 2002
<i>Bacillus circulans</i>	Singh y Kapoor, 1999
<i>Bacillus firmus</i>	Lagunas-Lagunas <i>et al.</i> , 2001
<i>Bacillus pumilus</i>	Raupach y Kloepper, 1998
<i>Bacillus subtilis</i>	Berger <i>et al.</i> , 1996
<i>Cladosporium herbarum</i>	Singh y Kapoor, 1999
<i>Enterobacter agglomerans</i>	Kim <i>et al.</i> , 1998
<i>Klebsiella</i> sp.	Bashan <i>et al.</i> , 1996
<i>Pseudomona</i> spp.	Walsh <i>et al.</i> , 2001
<i>Pseudomona cepacia</i>	Díaz-Vargas <i>et al.</i> , 2001
<i>Pseudomona fluorescens</i>	Virgen-Calleros <i>et al.</i> , 1997
<i>Pseudomonas putida</i>	Hernández-Montiel <i>et al.</i> , 2002
<i>Pseudomonas putida</i> biotipo B	Luz, 1996
<i>Serratia</i> sp.	Bashan <i>et al.</i> , 1996
<i>Rhizobium meliloti</i>	Azcón y Barea, 1980

2.2.1.2. *Bacillus* sp.

Generalizando, las bacterias de la rizosfera del género *Bacillus* son consideradas rizobacterias promotoras del crecimiento en virtud a su actividad como agentes de control biológico de patógenos habitantes del suelo. Esta concepción errónea probablemente se originó de la información sobre el famoso

aniquilador de insectos, *Bacillus thuringiensis*, el cual es comercialmente utilizado para el control de estos. De hecho algunas bacterias del género *Bacillus* tales *B. megaterium*, *B. polymyxa* y *B. circulans* son promotoras del crecimiento a través de mecanismos diferentes al control de patógenos tales como fijación de nitrógeno y solubilización de fosfato. En muchos casos, es complicado determinar los mecanismos por medio de los cuales estas bacterias promueven el crecimiento de las plantas (Bashan, *et al.*, 1996).

Este género exhibe una rango amplio de características fisiológicas, que se refleja en la gran diversidad de especies que existen, muchas de ellas capaces de inhibir el crecimiento de otros microorganismos. Algunas especies se encuentran abundantemente en la rizosfera y varias de ellas presentan un potencial alto para ser utilizadas en el control biológico de fitopatógenos (Lagunas-Lagunas *et al.*, 2001). *B. subtilis* libera compuestos con propiedades antifúngicas como la subtilina y otros antibióticos de la familia de las Itulinas, las cuales son polipéptidos que actúan sobre la pared celular de los hongos.

Uno de los usos de *B. subtilis* como agente de control biológico es mediante el tratamiento de semillas. Su efecto cuando se aplica junto a las semillas o en forma individual no se debe exclusivamente al antagonismo contra los patógenos, sino que influyen también positivamente en la germinación, desarrollo y rendimiento del cultivo, debido a la producción de sustancias promotoras del crecimiento y al mejoramiento de la nutrición de las plantas (Fernández-Larrea, 2001).

Una de las especies más estudiadas es *Bacillus cereus* la cual produce el antibiótico Zwittermicin A que inhibe el crecimiento de *Phytophthora medicaginis* (Stohl *et al.*, 1999). Esta misma especie presenta un amplio espectro de antagonismo a bacterias, hongos y nematodos en cultivos como algodón mango, jitomate, chícharo, cacahuate (Kokalis-Brelle *et al.*, 1992; Koomen y Jeffries, 1993; Oka *et al.*, 1993; Osburn *et al.*, 1995). Por otra parte, *Bacillus megaterium* es productora de sideróforos los cuales son compuestos de bajo peso molecular con una afinidad alta por el ión férrico (Fe^{3+}). Por lo que en la

rizosfera de las planta, las bacterias productoras de sideróforos pueden desplazar a la microflora dañina que compite por el hierro (Farías-Rodríguez *et al.*, 1997a). En este sentido, se ha reportado que a través de los sideróforos se puede inhibir el crecimiento de hongos patógenos pertenecientes a los géneros *Fusarium* spp., *Verticillium* spp., *Rhizoctonia* spp., *Colletotrichum* spp., *Phytophthora* spp., *Pythium* spp., así como a las especies de bacterias *Erwinia carotovora* y *Ralstonia solanacearum* (Farías-Rodríguez *et al.*, 1997b; Azcón, 2000).

2.2.2. *Trichoderma harzianum*

El género *Trichoderma* posee buenas cualidades para el control de enfermedades en plantas causadas por patógenos fúngicos con origen en el suelo, principalmente de los género *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium*, *Pythium* y *Fusarium* entre otros. Las especies de *Trichoderma* actúan como hiperparásitos competitivos que producen metabolitos antifúngicos y enzimas hidrolíticas a los que se les atribuyen los cambios estructurales a nivel celular, tales como, vacuolación, granulación, desintegración del citoplasma y lisis celular, encontrados en los organismos con los que interactúa (Ezziyyani *et al.*, 2004).

Las especies de *Trichoderma* son de los antagonistas más utilizados para el control de fitopatógenos del suelo debido a su facilidad para ser aisladas y cultivadas, a su rápido crecimiento y a que no atacan a las plantas superiores. Existen básicamente tres mecanismos por los cuales las especies de *Trichoderma* controlan a los fitopatógenos del suelo; 1) producción de metabolitos como antibióticos y enzimas (β -1,3- glucanasa, quitinasa, proteasa y celulasa) degradadores de la pared celular, 2) competición directa por el espacio y los nutrientes, y 3) parasitismos directo de especies de *Trichoderma* sobre los hongos fitopatógenos (Kücük y Kivanc, 2003; Kücük y Kivanc, 2004; Ozbay *et al.*, 2004).

T. harzianum es una de las especies del género *Trichoderma* con gran potencial como agente biocontrolador de patógenos de plantas, ya que produce enzimas

como celulasas, β -1,3- glucanasa y quitinasas que degradan la pared celular de los patógenos, inhibiendo así a hongos como; *Fusarium culmorum*, *F. oxysporum*, *F. moniliforme*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia rolfisii*, *Gaeumannomyces graminis* var. *tritici* y *Drechslera sorokiniana* (Kücük y Kivanc, 2003).

En un estudio realizado por Mónaco *et al.* (1998), evaluaron la capacidad de *Trichoderma koningii* y *T. harzianum* para parasitar a los esclerocios de *Sclerotinia sclerotiorum*, encontrando que estos dos antagonistas producen un fuerte micoparasitismo hacia los esclerocios del hongo, destruyéndolos con eficacia e impidiendo la germinación carpogénica de los mismos. Por lo que estos autores concluyeron que *Trichoderma* spp. son agentes apropiados para el control biológico de *S. sclerotiorum*.

Por otra parte, la utilización de aislados de *Trichoderma virens* y *T. harzianum* en plantas de lechuga contra el hongo *Sclerotinia minor*, disminuyó la incidencia de enfermedad en un 14 y 50 % respectivamente, en comparación con las plantas del tratamiento control. Así mismo, el aislado de *T. harzianum* mostró una reducción de la enfermedad estadísticamente igual al del tratamiento químico con carbendazim que mostró una reducción de la enfermedad en un 57% en relación al tratamiento testigo (Jones y Stewart, 1997).

Actualmente existen diferentes formulaciones de hongos antagonistas y su uso depende del modo de acción. Para uso comercial el material seco es el preferido por la importancia del peso y la manipulación de los productos durante la comercialización. Las hifas son poco persistentes al secado, por lo cual se trabaja en las formulaciones con las formas reproductivas (conidios y clamidosporas) como polvos humedecibles, polvos seco, formulaciones en aceite y encapsulados que contienen el hongo (Fernández-Larrea, 2001).

2.2.3. Hongos formadores de micorriza arbúscular (HMA)

El termino micorriza proviene del griego *mico* que significa hongo y del vocablo latín *rhíza* que significa raíz (Hernández-Díaz y Chailloux-Laffita, 2001). La

asociación micorrízica arbuscular se encuentra en más de un 90 % de las especies vegetales que existen en el mundo; siendo aquellas plantas con pocos pelos absorbentes y raíces gruesas las altamente dependientes de esta simbiosis (Ferrera-Cerrato y González-Chávez, 1997). Su abundancia y su influencia en la nutrición y en el crecimiento de las plantas hospederas es de gran trascendencia fisiológica y ecológica para el buen funcionamiento y estabilidad de las comunidades vegetales (Gardezi *et al.*, 2000). La simbiosis confiere también una resistencia mayor al estrés hídrico y a los patógenos de la raíz (Pozo *et al.*, 1996; Xoconostle y Ruiz, 2002).

Los HMA tienen un espectro de hospedantes extremadamente amplio, lo que obliga a catalogarlos como inespecíficos, aunque sí se registran diferencias en el grado de susceptibilidad del huésped y en la adaptabilidad del hongo a determinadas condiciones. La existencia, por ejemplo, de hongos más adaptados a especies forestales y otros a cultivos agrícolas es un hecho comprobado; así mismo se sabe que el pH de un suelo, es un factor determinante de la presencia y efectividad de ciertos tipos de esporas de estos endofitos (Azcón y Barea, 1980).

La inoculación de plantas con HMA puede incrementar diversos parámetros del crecimiento y desarrollo como; altura, diámetro del tallo, peso seco de la parte aérea, volumen radical, contenido de fósforo total y producción de fruto (Manjarrez-Martínez *et al.*, 1998 y Velasco-Velasco *et al.*, 1998).

Según Linderman (1988), las estructuras características que el hongo forma dentro de las raíces, son los arbúsculos y las vesículas. Los arbúsculos, funcionan como sitios de intercambio de nutrimentos entre el hongo y la planta, los cuales son los puntos de máxima interacción hospedante-simbionte. Las vesículas son estructuras de forma ovoide, llenas de lípidos, que sirven como órganos de almacenamiento de energía. En esta simbiosis también se presentan estructuras externas, como el micelio extramatricial y las esporas.

Los HMA regulan y facilitan los flujos de nutrientes de la matriz inerte del suelo a la planta, los cuales proporcionan energía al componente biótico del suelo cuyas actividades, por su parte, son cruciales para la formación de las estructuras físicas y los balances químicos en el suelo que permiten y favorecen el crecimiento de las raíces, estos microorganismos forman un sistema de transferencia vivo de dos vías, llevando nutrientes minerales del suelo a la planta y compuestos orgánicos de la planta al suelo (Bago *et al.*, 2000).

La simbiosis HMA-planta incrementa la absorción de nutrientes del suelo como; macronutrientes (P, N, K) y micronutrientes (Ca, Cu, Mg, Zn, etc) debido a que aumentan el área de exploración de la raíz a través de la extensión de sus hifas en el suelo (Pedraza-Santos *et al.*, 2001). Las hifas externas de los hongos constituyen una importante vía para transportar los nutrientes a través del suelo, ya que estas superan las zonas de "agotamiento" de alrededor de las raíces, siendo el mejoramiento del crecimiento de la planta consecuencia del incremento principalmente del suministro de P vía hifas externas (Bago *et al.*, 2000).

Los hongos micorrízicos arbusculares, pueden incrementar la resistencia de las plantas, a daños ocasionados por hongos como *Phytophthora parasitica*, *Fusarium oxysporum*, *F. culmorum*, *Aphanomyces euteiches*, *Chalara elegans*, *Pythium* sp. y *Rhizoctonia solani* (Budi *et al.*, 1999). Según Zak, (1964) los hongos formadores de micorriza arbuscular juegan un papel muy importante en el control biológico de las enfermedades de la raíz, enunciando para tal efecto los puntos siguientes: 1) la micorriza utiliza los excedentes de carbohidratos y otros nutrientes que son estimulatorios para los hongos patógenos, 2) el manto fúngico en el caso de la ectomicorriza provee una barrera física infranqueable por el patógeno, 3) la producción de sustancias antibióticas que inhiben a los fitopatógenos seleccionando a la microflora benéfica de la rizosfera.

Las interacciones entre la micorrización y microorganismos implicados en el control biológico suponen una integración de mecanismos beneficiosos de defensa que repercuten en la sanidad vegetal, lo cual es considerado como uno

de los principales objetivos a abordar en el campo de la sustentabilidad agrícola (Azcón, 2000).

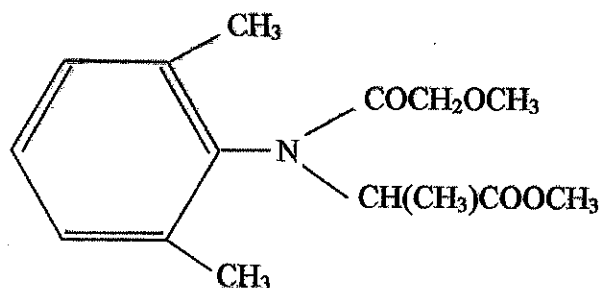
2.3. Características generales de los fungicidas empleados en este trabajo

2.3.1. Ridomil Gold 4E

Ingrediente activo	Porcentaje en peso
Metalaxil: Metil-(R)-2- {[(2,6- dimetilfenil) metoxiacetil] amino} propionato. No menos de	46.2%
(Equivalente a 480 g de i.a./L)	
Ingredientes inertes. No más de.....	53.8%
Total.....	100.0%

(THOMSON-PLM, 2004).

Estructura química (Hutson y Miyamoto, 1998).



Metalaxil

Características: Ridomil Gold 4E es un fungicida concentrado emulsionable a base de metalaxil, compuesto químico de alta fungitoxicidad, rápida absorción y alta sistemicidad acropétala, protege los brotes nuevos y tiene buena persistencia en los tejidos vegetales. El metalaxil es altamente activo contra *Pythium*, *Phytophthora*, *Peronospora*, *Pseudoperonospora*, *Plasmopara*, *Bremia* y *Albugo* (Mendoza, 1992).

Usos: tabaco, limonero, mandarino, naranjo, toronjo, y aguacatero.

2.3.2. Tokat 240 CE

Ingrediente activo	Porcentaje en peso
Metalaxil: Metil-N-(metoxiacetil) -N- (2,6- xilil)-DL- alaninato	
No menos de	25.30%
(Equivalente a 240 g de i.a./L)	
Ingredientes inertes. No más de.....	74.70%
Total.....	100.0%
(THOMSON-PLM, 2004)	

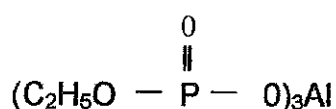
Características: Tokat 240 CE es un fungicida concentrado emulsionable a base de metalaxil, compuesto químico altamente hidrosoluble y de rápida translocación. Eficaz como tratamiento curativo cuando se aplica una vez que se ha iniciado una infección. El metalaxil es eficaz contra *Pythium*, *Phytophthora*, y varios mildius (Agrios, 1986).

Usos: chile, tomate y papa.

2.3.3. Aliette WDG

Ingrediente activo	Porcentaje en peso
Fosetil-al: Tris (O-etil fosfonato) de aluminio	
No menos de	80.0%
(Equivalente a 800 g de i.a./Kg)	
Ingredientes inertes. No más de.....	20.0%
Total.....	100.0%
(THOMSON-PLM, 2004).	

Estructura química (Hutson y Miyamoto, 1998).



Fosetil-Al

Características: Aliette WDG es un fungicida en gránulos dispersables a base de Fosetil-Al, único compuesto químico que muestra una efectiva penetración y translocación acropétala y basipétala en dosis normales de uso. Este producto tiene efectos secundarios al estimular la formación de defensas de la planta, por ejemplo, la producción de fitoalexinas. Es eficaz para el control de Oomycetes y otros patógenos fuera de esa clase como: *Guignardia bidwelli* (pudrición negra de la vid), *Phomopsis viticola* y *Pseudopeziza tracheiphila* en vid (Agrios, 1986; Mendoza, 1992).

Usos: cebolla, limón, naranja, toronja, piña, papa, tomate tabaco, melón, pepino, calabacita, sandia y fresa.

3. LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1986. Fitopatología. Ed. Limusa, México, D.F. pp. 428-432.
- Azcón, A. C., y Barea, J.M. 1980. Field inoculation of *Medicago* with V-A Mycorrhiza and *Rhizobium* in phosphate-fixing agricultural soil. *Soil Biology & Biochemistry* 13: 19-22.
- Azcón, R. 2000. Papel de la simbiosis micorrízica y su interacción con otros microorganismos rizosféricos en el crecimiento vegetal y sostenibilidad agrícola. *In: Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. Alarcón, A., y Ferrera-Cerrato, R. (eds.). Mundi Prensa. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp. 1-15.
- Baca, B.E., Soto U.L., y Pardo, R.A.M.P. 2000. Fijación biológica de nitrógeno. *Elementos* 38:43-49.
- Bago, B., Azcón-Aguilar, C., Shachar-Hill, Y., y Pfefer, P. E. 2000. El micelio externo de la micorriza arbuscular como componente simbiótico entre la raíz y su entorno. *In: Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. Alarcón, A., y Ferrera-Cerrato, R. (eds.). Mundi Prensa. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. pp. 78-92.
- Baker, K. F. 1970. Types of *Rhizoctonia* diseases and their occurrence. *In: Rhizoctonia solani; biology and pathology*. (Ed) Parmeter, J. R. University of California Press. United States of America. pp. 125-148.
- Barnett, H. L., y Hunter, B. B. 1998. Illustrated genera of imperfect fungi. Fourth edition. APS PRESS, St. Paul, Minnesota. United States of America. 218 p.
- Bashan, Y., Holguin G., y Ferrera-Cerrato R. 1996. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. II. Bacterias asociativas de la rizosfera. *Terra* 14(2):195-210.
- Berger, F., Hong L., White D., Frazer R., y Leifert. 1996. Effect of pathogen inoculum, antagonist density, and plant species on biological control of

Phytophthora and *Pythium* damping-off by *Bacillus subtilis* Cot1 in high-humidity fogging glasshouses. *Phytopathology* 86(5): 428-433.

Blancard, D. 1990. Enfermedades del tomate. Observar, identificar, luchar. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España. pp. 170-180.

Blancard, D., Lecoq, H., y Pitrat, M. 2000. Enfermedades de las cucurbitáceas. Observar, identificar, luchar. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España. Reimpresión. pp. 221-222.

Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Editorial Kew Surrey; Commonwealth Micological Institute., England. pp. 130-134.

Budi, S.W., Tuinen, D., Martinotti, G., y Gianinazzi, S. 1999. Isolation from the *Sorghum bicolor* mycorrhizosphere of a bacteria compatible with arbuscular mycorrhiza development and antagonistic towards soilborne fungal pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 65(11):5148-5150.

Burr, J.T., y Caesar A. 1984. Beneficial plant bacteria. *Critical Reviews in Plant Sciences* 2:1-20.

Butler, E. E., y Bracker, C. E. 1970. Morphology and cytology of *Rhizoctonia solani*. In: *Rhizoctonia solani*; biology and pathology. Parmeter, J. R. (Ed) University of California Press. United States of America. pp. 32-39.

Carling, D. E., y Summer, D. R. 1992. *Rhizoctonia*. In: *Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi*. (Eds). Singleton, L. L., Mihail, J. D., y Rush, C. M. APS PRESS. St. Paul, Minnesota. U.S.A. pp. 157-165.

Carrillo-Fasio, J. A., Montoya-Rodriguez, T. J., García-Estrada, R. S., Cruz-Ortega, J. E., Márquez-Zequera, I y Sañudo-Barajas, A. J. 2003. Razas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* Zinder y Hansen, en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el valle de Culiacán, Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21(2):123-127.

Chanway, C.P., Radley, R.A., y Holl, F.B. 1989. Bacterial inoculation of lodgepole pine, white spruce and douglas-fir grown in containers. pp. 14-18. <http://www.fcnanet.org/proceedings/1989/chanway.pdf>

Claridades-Agropecuarias. 1998. El jitomate, la hortaliza de excelencia en exportación. No. 62, pp. 1-25.

Cruz-Alcalá, A. 1996. Identificación de hongos causantes de pudriciones de raíz y cuello del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill) en el sureste del estado de México. Tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México, México. pp. 7-9; 54-55.

De la Garza, G. J. L. 1996. Fitopatología general. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México. pp. 308-311.

De Leij, A.A.M.F., Dixon-Hardy, E.J., y Lynch, M.J. 2002. Effect of 2,4-diacetylphloroglucinol-producing and non-producing strains of *Pseudomonas fluorescens* on root development of pea seedlings in three different soil types and its effect on nodulation by *Rhizobium*. Biology Fertility of Soils 35:114-121.

De los Santos de la R, F., E.N. Becerra L., R. Mosqueda V., A. Vásquez H., A.B. Vargas G. 2000. Manual de producción de papaya en el estado de Veracruz. INIFAP-CIRGOC. Campo Experimental Cotaxtla. Folleto Técnico Núm. 17. Primera reedición. Veracruz, México. pp. 27-29..

Díaz-Vargas P., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz-Suárez, J.J., y González, G.A. 2001. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. Terra 19:327-335.

Dowling, N.D., y O'gara, F. 1994. Metabolites of *Pseudomonas* involved in the biocontrol of plant disease. Elsevier Science 12: 133-141.

Ezziyyani, M., Pérez-Sánchez, C., Sid-Ahmed, A., Emilia-Requena, M., y Emilia-Candela, M. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol

de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología* 26:35-45.

FAOSTAT. 2004. Producción de cultivos primarios. <http://apps.fao.org>

Farías-Rodríguez, R., Godínez, R., Zamora, E., y Peña-Cabriales, J.J. 1997a. *Pseudomonas* fluorescentes como agentes de control de bacterias patógenas de plantas. I. Selección de cepas de *Pseudomonas* productoras de sideróforos. *Terra* 15(4):391-396.

Farías-Rodríguez, R., Zamora, E., y Peña-Cabriales, J.J. 1997b. *Pseudomonas* fluorescentes como agentes de control de bacterias patógenas de plantas. II. Inoculación en plantas. *Terra* 15(49):381-389.

Fernández-Herrera, E., Acosta-Ramos, M., y Ponce-González, F. 2005. Manejo químico de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici* Leo.) en condiciones de invernadero. *Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*. Chihuahua. México. pp. L-75.

Fernández-Larrea, O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas*. CATIE 62:96-100.

Ferrera-Cerrato, R., y González-Chávez, M. C. 1997. La biotecnología micorrízica en la producción agrícola, frutícola y hortícola.. *In: Perspectivas de la microbiología en México*. Instituto Politécnico Nacional, México. pp. 325-343

Galindo, A. J. 1960. Estudio preliminar sobre la marchitez de las plantas de chile en México y su agente causal *Phytophthora capsici* Leonian. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura, México. 42 p.

Galindo, A. J. 1962. Marchitez de las plantas de chile causada por *Phytophthora capsici* Leonian. *Revista de Fitopatología*. pp. 15-17.

Galván-Lamas, J. R., Tapia-Ramos, E., y Ramírez-Trejo C. A. 2005. Evaluación del Previcur N para el control de Damping off (*Pythium* spp. y *Phytophthora*

capsici) en plántulas de chile jalapeño. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. pp. C-84.

García-Morató, M. 1996. Enfermedades fúngicas, bacterianas y fisiopatías. *In*: Pimientos. Compendio de horticultura. No. 9. Alicia Namesny Vallespir (Ed). Ediciones de Horticultura, Barcelona, España. pp. 59-61.

Gardezi, A.K., Cetina, V.M.A., Talavera, M.D., Ferrera-Cerrato, D., Rodríguez F.N., y Larqué, M.S. 2000. Efecto de inoculación con endomicorriza arbuscular y dosis creciente de fertilización fosfatada en el crecimiento de chapulixtle (*Dodonaea viscosa*). Terra 18:153-159.

González-Hernández, D. 2002. Estado actual de la taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn. Revista Mexicana de Fitopatología 20:200-205.

González-Villalobos, G. 1997. Evaluación del Metalaxil M48% (Ridomil Gold 4E) para el control de la marchitez del chile (*Phytophthora capsici* Leo.) en dolores hidalgo Gto., México. Tesis de Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 39-41.

Haas, D., Blumer, C., y Keel, Ch. 2000. Biocontrol ability of fluorescent pseudomonads genetically dissected: importance of positive feedback regulation. Environmental Biotechnology 11:290-297.

Hernández-Díaz, M.I., y Chailloux-Laffita, M. 2001. La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo del tomate. Temas de Ciencia y Tecnología: Ensayos 5(13):11-27.

Hernández-Montiel, L.G., Escalona, M., Zulueta, R., y Muñoz, A. 2002. Rizobacterias supresoras de fitopatógenos y su capacidad de promoción del crecimiento en plantas de *Carica papaya* L. En memorias del IV Congreso Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal. Chapingo, México. S-P.

Holliday, P. 1980. Fungus diseases of tropical crops. Cambridge University Press. United States of America. pp. 175-177.

Hutson, D., y Miyamoto, J. 1998. Fungicidal activity; chemical and biological approaches to plant protection. Editorial Wiley. United States of America. pp. 35-50.

Il-Pyung., A., Kyungseok, P., y Choong-Hoe K. 2002. Rhizobacteria-induced resistance perturbs viral disease progress and triggers defense-related gene expression. *Molecules and Cells* 13(2):302-308.

Jones, E. E., y Stewart, A. 1997. Biological control of *Sclerotinia minor* in lettuce using *Trichoderma* species. 50th Conference Proceedings of New Zealand Plant Protection Conference. 154-158.

Jones., J.P. 2001. La fusariosis vascular del tomate. *In*: Compendio de plagas y enfermedades del tomate. Jones J.B., Jones J.P., Stall R.E., y Zitter T.A. (Eds). APS Press. St. Paul Minnesota, United States of America. Edición en Español. Ediciones Mundi-Prensa. pp. 15.

Kim, K. Y., Jordan, D., y McDonald, G.A. 1998. Effect of phosphate-solubilizing bacteria and vesicular-arbuscular micorrizae on tomato growth and soil microbial activity. *Biology and Fertility Soils* 26:79-87.

Kirk, P. M., Cannon, P. F., David, J. C., y Stalpers, J. A. 2001. Dictionary of the fungi. 9th Edition. CABI-Publishing. New York, Estados Unidos.

Kistler, H.C. 1997. Genetic diversity in the plant-pathogenic fungus *Fusarium oxysporum*. *Phytopathology* 87(4): 474-479.

Kloepper, J.W., y Schroth, M.N. 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. *Plant Pathogenic Bacteria Angers* 2:879-882.

- Kokalis-Brelle, N. B., Rodríguez-Kabana, P. A., y Ploper, L. D. 1992. Potential for biological control of early leafspot of peanut using *Bacillus cereus* and chitin as foliar amendments. *Biological Control* 2:321-328.
- Koomen, Y., y Jeffries, P. 1993. Effects of antagonistic microorganisms on the postharvest development of *Colletotrichum gloeosporioides* on Mango. *Plant Pathology* 42:230-237.
- Krupa, S. V., y Dommergues, R. 1979. Ecology of root pathogens. Elsevier Scientific Publishing Company. The Netherlands. pp. 21-24, 48-49.
- Kücük, C., y Kivanc, M. 2003. Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. *Turkish Journal of Biology* 27:247-253.
- Kücük, C., y Kivanc, M. 2004. In vitro antifungal activity of strains of *Trichoderma harzianum*. *Turkish Journal of Biology* 28:111-115.
- Lagunas-Lagunas, J., Zavaleta-Mejía, E., Osada-Kawasoe, S., y Aranda-Ocampo, S. 2001. *Bacillus firmus* como agente de control biológico de *Phytophthora capsici* Leo. en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 19(1):57-65.
- León, G. H. M. 1978. Enfermedades de cultivos en el estado Sinaloa. Instituto Nacional de Investigaciones Agrícolas. SARH. Culiacán, Sinaloa, México. pp. 99-109.
- Linderman, R.G. 1988. Mycorrhizal interactions with the rhizosphere microflora: the mycorrhizosphere effect. *Phytopathology* 78(3):366-371.
- Lucas, G. B., Campbell, C. L., y Lucas, L. T. 1985. Introduction to plant diseases, identification and management. North Carolina State University. The AVI publishing company inc. United States of America. pp. 154-157.

- Luz, C.F. 1996. Rizobacterias promotoras de crecimiento de plantas e de bioprotecao. *Revisao Annual de Patología de Plantas* 4:1-49.
- Mahaffee, W.F., y Kloepper, J. W. 1994. Applications of plant growth-promoting rhizobacteria in sustainable agriculture. *Soil Biota*. pp. 23-31.
- Manjarrez-Martínez, J.M., Ferrera-Cerrato, R., y González-Chávez, M.C. 1998. Efecto de la vermicomposta y la micorriza arbuscular en dos especies hortícolas. *In: Avances de la investigación micorrízica en México*. Zulueta, R.R., M.A. Escalona y D. Trejo A. (Eds.). Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz. pp. 169-177.
- McCarter. S. M. 2001. Enfermedades causadas por *Rhizoctonia* spp. 2001. Podredumbre del fruto y podredumbre de las raíces. *In: Compendio de plagas y enfermedades del tomate*. Jones J.B., J.P. Jones, R.E. Stall y T.A. Zitter (Eds). APS Press. St. Paul Minnesota, United States of America. Edición en Español. Ediciones Mundi-Prensa. pp. 21-22.
- Mendoza, Z.C. 1992. Fungicidas sistémicos y su modo de acción. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 35-39.
- Mendoza, Z.C. 1996. Enfermedades fungosas de hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 7-8, 21-24.
- Mendoza, Z.C. 1999. Enfermedades fungosas de hortalizas y fresa. *In: Hortalizas; plagas y enfermedades*. Anaya, R.S. y Romero, N.J. (Eds). Editorial Trillas, México. pp. 32-34.
- Mendoza, Z.C. y Pinto, C.B. 1983. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 131-132.
- Mónaco, C. I., Rollán, M. C., Nico, A. I. 1998. Efecto de micoparásitos sobre la capacidad reproductiva de *Sclerotinia sclerotiorum*. *Revista Iberoamericana de Micología* 15:81-84.

Muñoz, G.A. 1993. Colonización de raíces de maíz por cepas productoras de sideróforos de *Azospirillum* y *Pseudomonas*. Tesis de Maestría. Benemérita Universidad Autónoma de Puebla. Puebla, México. pp. 9-10.

Nuez, F. 1995. El cultivo del tomate. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid, España. pp. 531-533.

Oka, Y., Chet, Y., y Spiegel, Y. 1993. Control of the root-knot nematode *Meloidogyne javanica* by *Bacillus cereus*. Biocontrol Science and Technology 3:115-126.

Osburn, R. M., Milner, J. L., Oplinger E. S., Smith, R. S., y Handelsman, J. 1995. Effect of *Bacillus cereus* UW85 on the yield of soybean at two field sites in Wisconsin. Plant Disease 79:551-556.

Ozbay, N., Newman, S. E., y Brown, W. M. 2004. The effect of the *Trichoderma harzianum* strains on the growth of tomato seedlings. Acta Horticulture 635:131-135.

Parmeter, J. R., y Whitney, H. S. 1970. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In: *Rhizoctonia solani*; biology and pathology. Parmeter, J. R. (Ed). University of California Press. United States of America. pp. 7-13.

Pedraza-Santos, M., Jaen-Contreras, D., Gutiérrez-Espinosa, A., Colinas-León, T., y López-Peralta, C. 2001. Crecimiento y nutrición de microplantas de gerbera inoculadas con hongos micorrízicos arbusculares. Agrociencia 35:149-158.

Pérez-Moreno, L., Salinas, G. J., y Octavio-Medina L. 1990. Control genético y químico de la marchitez del chile (*Capsicum annum* L.) causada por el hongo *Phytophthora capsici* Leo., en la región de Irapuato, Guanajuato., México. Revista Mexicana de Fitopatología 8(1):71-76.

Pérez-Moreno, L., Durán-Ortiz, L. J., Ramírez-Malagón, R., y Sánchez-Pale, J.R. 2002. Compatibilidad fisiológica y sensibilidad a fungicidas de aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. Revista Mexicana de Fitopatología 21(1):19-25.

- THOMSON-PLM, 2004. Diccionario de Especialidades Agroquímicas. Edición 14. pp. 343-344; 448-449; 1512-1513.
- Pozo, M.J., Dumas-Gaudot, E., Slezack, S., Cordier, C., Asselin, A., Gianinazzi, S., Gianinazzi-Pearson, V., Azcón-Aguilar, C., y Barea, JM. 1996. Induction of new chitinase with *Glomus mosseae* and/or *Phytophthora nicotianae* var *parasitica*. *Agronomie* 16:689-697.
- Raupach., S.G. y Kloepper, W.J. 1998. Mixtures of Plant Growth-Promoting Rhizobacteria enhance biological control of multiple cucumber pathogens. *Phytopathology* 88:1158-1164.
- Redondo-Juárez, Elíseo. 1986. Mecanismos de infección y patología de las plantas de Chile susceptibles y resistentes al hongo *Phytophthora capsici* Leo. Tesis de Doctor en Ciencias en Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. pp. 18-19.
- Reddy, M.S., Hynes, R.K., y Lazarovits, G. 1994. Relationship between in vitro growth inhibition of pathogens and suppression of preemergence damping-off and postemergence root rot of white bean seedlings in the greenhouse by bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 40:113-119.
- Romero, C.S. 1988. Hongos fitopatógenos. Patronato Universitario. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 67-68.
- Rowe. R. C. 1980. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-crown tomatoes in North America and Japan. *Phytopathology* 70:(12)1143-1147.
- SARGARPA. 2005. Servicio Integral de Información Agroalimentaria y Pesca. http://www.sagarpa.gob.mx/ar_comagr2c.html
- Singh, S., y Kapoor, K.K. 1999. Inoculation with phosphate-solubilizing microorganisms and vesicular-arbuscular mycorrhizal fungus improves dry

matter yield and nutrient uptake by wheat grown in a sandy soil. *Biology and Fertility of Soils* 28:139-144.

Smith, I. M., J. Dunez, D.H. Phillips, R.A. Lelliott y S.A. Archer. 1992. Manual de enfermedades de las plantas. Mundi-Prensa. Madrid, España. pp. 341-342.

Stevenson, W. R. 2001. Podredumbre del fruto y podredumbre de las raíces. *In*: Compendio de plagas y enfermedades del tomate. Jones J. B., J. P. Jones, R. E. Stall y T. A. Zitter (Eds). Ediciones Mundi-Prensa. APS Press. St. Paul Minnesota, United States of America. Edición en Español. pp. 11.

Stohl, E.A., Milner, J. L. y Handelsman J. 1999. Zwittermicin A biosynthetic cluster. *Gene* 237:403-411.

Subba, R.N.S., Tilak, K.V.B.R., y Singh, C.S. 1985. Synergistic effect of vesicular-arbuscular mycorrhizas and *Azospirillum brasilense* on the growth of barley in pots. *Soil Biology & Biochemistry* 17(1):119-121.

Tilak, K.V.V.R., Singh, S., Roy, N.K., y Subba R.NS. 1982. *Azospirillum brasilense* and *Azotobacter chroococcum* inoculum: effect on yield of maize (*Zea mays*) and *sorghum bicolor*. *Soil Biology & Biochemistry* 14:417-418.

Tigchelaar, E. C. 2001. Enfermedades del tomate. *In*: Compendio de plagas y enfermedades del tomate. Jones J. B., J. P. Jones., R. E. Stall y T. A. Zitter (Eds). Ediciones Mundi-Prensa. APS Press. St. Paul Minnesota, United States of America. Edición en Español. pp. 1-4.

Tlapal-Bolaños. B. 2005. Principales enfermedades. *In*: Producción de jitomate en invernadero. Bautista Martínez, Nestor y Alvarado López Jorge (Eds). Colegio de Postgraduados, Montecillos, México. pp 153-156.

Velasco-Velasco, J., Almaraz-Suárez, J.J., y Ferrera-Cerrato, R. 1998. Inoculación con endomicorriza arbuscular y adición de vermicomposta en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *In*: Avances de la investigación micorrízica

en México. Zulueta, R.R., M.A. Escalona y D. Trejo A. (Eds.). Universidad Veracruzana, Xalapa, Veracruz. pp. 161-167

Virgen-Calleros, G., J.L. Vázquez-Vázquez., G.L. Anguiano-Ruvalcaba., V. Olalde-Portugal., y R. Hernández-Delgadillo. 1997. Aislamiento de bacterias de la rizosfera de *Capsicum annuum* L. antagonicas al desarrollo de *Phytophthora capsici* Leo. Revista Mexicana de Fitopatología 15(1):43-47.

Walsh, F.U., Morrissey, P.J., y O'Gara, F. 2001. *Pseudomonas* for biocontrol of phytopathogens: from functional genomics to comercial explotation. Biotic interactions 12:289-295.

Xoconostle, C.B., y Ruiz, M.R. 2002. Impacto de la biotecnología agrícola en cultivos: el caso de las micorrizas. Avance y Perspectiva 21:263-266.

Zak, B. 1964. Role of mycorrhizae in roto diseases. Annual Review of Phytopathology 2:377-392.

Zavaleta-Mejía, E. 1994. Control biológico de fitopatógenos con origen en el suelo y perspectivas. Revista Mexicana de Fitopatología 12(1):107-111.

Zavaleta-Mejía, E. 2000. Alternativa de manejo de las enfermedades de las plantas. Revista Mexicana de Fitopatología 17(3):201-207.

CAPITULO 2

SÍNTOMAS Y PATOGENICIDAD DE HONGOS CAUSANTES DE LA PUDRICIÓN DE RAÍZ Y CUELLO EN JITOMATE

RESUMEN

Se aislaron los hongos *P. capsici*, *R. solani*, y *F. oxysporum* de plantas de jitomate var. Río Grande con síntomas de pudriciones de raíz y cuello. Se obtuvieron cultivos puros de cada uno de los hongos, y se inocularon en plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad, bajo condiciones controladas en invernadero. Además, el aislamiento de *F. oxysporum* se inoculó en plantas de jitomate híbrido Yaqui (resistente a las razas 1 y 2 del hongo). Los objetivos fueron: 1) Determinar la sintomatología inducida por *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* en plantas de jitomate var. Río Grande e híbrido Yaqui; b) Evaluar la patogenicidad (individual y conjunta) de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* en plantas de jitomate var. Río Grande e híbrido Yaqui. *P. capsici* indujo marchitez del follaje, pudrición de raíz y cuello, y muerte de plantas a los 4 días después de la inoculación (ddi). La inoculación de *R. solani* provocó una clorosis generalizada y reducción substancial del crecimiento (50%) con relación a las plantas testigo. Las plantas con *F. oxysporum* manifestaron clorosis de hojas inferiores generalmente de un solo lado de la planta, marchitez generalizada y necrosis del tejido vascular a los 10 ddi, provocando la muerte total de las mismas a los 30 ddi. Los síntomas en el Híbrido Yaqui fueron los mismos que para la var. Río Grande, sólo que estos se manifestaron 25 ddi. Los daños inducidos en este último, indicaron que la especie, forma especial y la raza de *Fusarium* fue *oxysporum* f.sp. *lycopersici* raza III. El hongo que mostró una patogenicidad mayor en las plantas de jitomate var. Río Grande fue *P. capsici* que mató a las plantas a los 8 ddi (100%); *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* indujo la muerte total de las plantas 50 ddi, y *R. solani* no mostró mortandad de plantas, sólo reducción del crecimiento.

SYMPTOMS AND PATHOGENICITY OF FUNGUS CAUSING OF THE ROOT AND NECK ROT IN TOMATO

ABSTRACT

The fungus *P. capsici*, *R. solani* and *F. oxysporum* were isolation of tomato plants var. Río Grande with symptoms of root and neck rot. Pure cultivations were obtained each one of the fungus, and were inoculated in tomato plants var. Río Grande of 35 days age under conditions controlled in greenhouse. Also, the isolation of *F. oxysporum* was inoculated in tomato plants hybrid Yaqui (resistant to the races 1 and 2 of fungi). The objectives were: 1) to determine the sintomatology induced by *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* in tomato plants var. Río Grande and hybrid Yaqui; b) to evaluate the pathogenicity (singular and combined) of *P. capsici*, *R. solani* and *F. oxysporum* in tomato plants var. Río Grande and hybrid Yaqui. *P. capsici* induced wilt of foliage, root and neck rot, and death plants to the 4 days after the inoculation (dai). The inoculation of *R. solani* caused substantial reduction of growth (50%) with relationship to the control plants. The plants with *F. oxysporum* manifested yellow of foliage, generality wilt and necrosis vascular at 10 dai, causing the total death of all the plants 30 dai. The symptoms in the Hybrid Yaqui were the same ones that for the var. Río Grande, only these they showed 25 dai. The induced damages in this last one, indicated that the species, special forms and the race of *Fusarium* it was *oxysporum* f.sp. *lycopersici* race III. The fungi that showed a bigger pathogenicity in the tomato plants var. Río Grande was *P. capsici* that killed to the plants to the 8 dai (100%); *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* induced the total death of the plants 50 dai, and *R. solani* didn't show death plants, reduction only growth.

I. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades que afectan al jitomate constituyen un factor limitante para su producción en muchas partes del mundo, sobre todo cuando no se utilizan cultivares con resistencia a varias de ellas. Actualmente existen cerca de 58 enfermedades de causas y etiologías diversas que atacan a este cultivo (Blancard, 1990). Entre los agentes principales causantes de enfermedades en jitomate se encuentran los hongos fitopatógenos, los cuales presentan una gran variación morfológica, patogénica y de adaptación a diversas condiciones climáticas, por lo cual tienen la capacidad de atacar al cultivo en sus etapas diferentes del desarrollo (Mendoza, 1996). En este sentido, *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* son patógenos que causan pérdidas severas en el rendimiento del cultivo. Estos hongos se encuentran de forma natural en los suelos agrícolas, ocasionando solos o en grupo, pudriciones de raíz y cuello en las plantas de jitomate, lo que en ocasiones hace difícil saber con exactitud que hongo es el agente principal que causa la enfermedad. Los síntomas generales que causan estos hongos son; marchitez y clorosis del follaje debido a una pudrición de los tejidos del cuello de la planta, presentando un estrangulamiento en esa zona, pudrición de la raíz de color café y finalmente muerte de la planta (Fernández-Herrera y Acosta-Ramos., 2005. Dado que los síntomas de pudriciones de raíz y cuello son ocasionados por *P. capsici* y *R. solani*, *F. oxysporum*, sería importante determinar los síntomas y patogenicidad que inducen cada uno de estos hongos en plantas de jitomate var. Río Grande e híbrido Yaqui, con la finalidad de hacer un diagnóstico correcto del hongo causante de la enfermedad, ya que de esto depende en mucho la elección de un método de manejo apropiado que pueda evitar daños severos al cultivo. En base en lo anterior, se realizó la presente investigación con los objetivos siguientes:

- 1) Determinar la sintomatología inducida por *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* en plantas de jitomate var. Río Grande e híbrido Yaqui.
- 2) Evaluar la patogenicidad (individual y conjunta) de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* en plantas de jitomate var. Río Grande e híbrido Yaqui.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

2.1. Colecta y procesamiento de material enfermo

2.1.1. Colecta de plantas

Se colectaron plantas de jitomate var. Río Grande, en las regiones de Texcoco, Edo. de México y en Culiacán, Sinaloa, que estaban afectadas de la raíz y/o cuello, o que presentaban síntomas de marchitez parcial o total, clorosis evidente, lesiones secas o húmedas, crecimiento micelial y/o fructificación de hongos en el cuello de la planta.

Las plantas afectadas fueron llevadas al laboratorio de Hongos Fitopatógenos del Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo; conservando la raíz y cuello y sólo una parte del área foliar.

2.1.2. Procesamiento de las muestras y aislamiento de los hongos

Las plantas colectadas en campo se procesaron en el laboratorio de la manera siguiente: la raíz fue lavada a chorro de agua de la llave, posteriormente se corto en trozos de aproximadamente un centímetro (mitad sana y enferma) y se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 2 % por dos minutos y se enjuagaron con agua destilada esterilizada, se secaron con papel secante esterilizado y posteriormente se colocaron 4 o 5 muestras en cajas Petri con medio jugo de tomate agar (TA) y papa-dextrosa-agar (PDA). El material fue incubado a una temperatura de 25 a 28 °C bajo oscuridad. A las 72 h se evaluó el desarrollo de las colonias y la frecuencia de aislamiento para cada hongo.

2.2. Purificación de los aislamientos

Cuando los aislamientos tuvieron un crecimiento micelial bien definido (2-4 días después de que se sembraron) se hizo la transferencia a cajas con PDA y TA, tomando trozos pequeños del medio de cultivo con el crecimiento micelial limpio. Para evitar la contaminación del medio de cultivo con bacterias se adicionaron antibióticos como la ampicilina, rifampicina ó penicillin G después de esterilizar el medio (121 °C por 15 minutos); cuando este ya estaba suficientemente frío, finalmente se llenaron las cajas Petri.

2.3. Identificación de los aislamientos

Para la identificación de los aislamientos se uso la forma y coloración de la colonia de los hongos desarrollados, la producción de cuerpos fructíferos (conidios, esporangios, oogonios, anteridios, esclerocios, etc.), tipo de micelio y otras características para hacer el agrupamiento de las cepas aisladas y así definir los géneros de hongos involucrados en los daños causados en las plantas de jitomate. En la identificación de los distintos aislamientos se usaron las claves siguientes: Booth, 1971 (*Fusarium oxysporum*); Romero, 1988 (*P. capsici*); y Sneh *et al.*, 1991 (*Rhizoctonia solani*).

2.4. Obtención de cultivos puros de los aislamientos de hongos

2.4.1. Cultivo monozoospórico de *P. capsici*

De los cultivos puros de *P. capsici* se cortaron cinco discos de aproximadamente 1 cm de diámetro y se colocaron en cajas Petri con 20 mL de agua destilada esterilizada. El hongo se incubo a una temperatura de 25 a 28 °C bajo condiciones de laboratorio; a los cuatro días, los aislamientos que produjeron esporangios se cambiaron a una temperatura de 12 °C por 20 minutos para la liberación de las zoosporas. Transcurrido el tiempo se observaron al microscopio compuesto bajo el objetivo de 10X para asegurar la presencia de zoosporas ya liberadas de los esporangios. De la solución de los aislamientos se tomó una gota y se vertió sobre una caja con medio TA, siendo inmediatamente distribuido uniformemente. Todo el material fue incubado a una temperatura de 25 a 28 °C bajo oscuridad y revisado a las 24 y 48 h, para detectar zoosporas germinadas (colonias aisladas). Algunas colonias aisladas fueron tomadas para la obtención de los cultivos monozoospóricos (Tlapal-Bolaños *et al.*, 1995).

2.4.2. Cultivo punta de hifa de *Rhizoctonia solani*

En aquellos hongos donde hay ausencia de estructuras reproductivas, los cultivos puros se obtienen a partir de puntas de hifas del micelio del hongo. Para obtener el cultivo punta de hifa se hizo crecer el hongo en cajas Petri con medio PDA sólido durante 48 horas a temperatura ambiente (24 °C), antes de que el micelio llenará la caja, y con la ayuda de un microscopio estereoscópico para facilitar la observación del crecimiento de las puntas de las hifas, se cortaron

varias puntas de hifa del hongo, las cuales se transfirieron en forma individual a cajas Petri con PDA para su pleno crecimiento (Cruz-Alcalá, 1996).

2.4.3. Cultivo monoconidial de *Fusarium oxysporum*

Del hongo crecido en medio PDA se tomó un trozo de medio con micelio y estructuras reproductivas, el cual se adicionó a un tubo de ensaye con 10 mL de agua destilada esterilizada y se agito vigorosamente. Posteriormente se tomó 1 mL y se agregó a otro tubo de ensaye que contenía 9 mL de agua destilada esterilizada, y así se continuó sucesivamente hasta completar cinco diluciones de una concentración menor de conidios que la dilución original. Una gota de las dos últimas diluciones se depositaron en cajas Petri con medio PDA, distribuyéndolas uniformemente por toda la superficie con un triangulo de vidrio esterilizado, las cajas se incubaron a temperatura de 25 °C por 24 horas. Transcurrido el tiempo se observaron los crecimientos originados (conidios germinados) de las diluciones sobre el medio de cultivo, y los crecimientos separados del hongo fueron cortados y sembrados nuevamente en el centro de las cajas cajas Petri con PDA, las cuales fueron incubadas a temperatura ambiente de laboratorio 23 ± 2 °C por una semana (Ayvar-Serna, 1988).

2.5. Conservación de los aislamientos

Una vez que los aislamientos de los hongos se identificaron y se obtuvieron cultivos puros, se procedió a integrar un lote de aislamientos que posteriormente se utilizaron para la realización de las pruebas de patogenicidad. Para esto se prepararon tubos de ensaye con medio PDA inclinado en donde se colocaron las distintas cepas, una vez que el medio se cubrió con micelio se procedió a "llenar" los tubos con aceite mineral esterilizado y se colocaron en gradillas (French y Hebert, 1982).

2.6. Pruebas de patogenicidad

2.6.1. Con *Phytophthora capsici* Leo

2.6.1.1. Preparación y cuantificación del inóculo

En cajas Petri con 20 mL de agua destilada esterilizada se colocaron 10 discos de medio de cultivo que contenían micelio de *P. capsici*. El material fue incubado

a 25 °C por tres días para la formación de esporangios y la posterior liberación de sus zoosporas. La liberación se logró después de poner la caja Petri a 12 °C por media hora (Ramírez y Romero, 1980). Posteriormente, la concentración de la solución madre de zoosporas se determinó por triplicado con la ayuda de un hemacitómetro, dando una concentración de 50,000 zoosporas·mL⁻¹. A cada planta de jitomate se le colocaron 2 mL⁻¹ de la suspensión de zoosporas, es decir, una concentración final de 100,000 zoosporas por planta (Redondo-Juárez, 1986).

2.6.1.2. Inoculación de plantas

La inoculación se realizó a 60 plantas de jitomate var. Río Grande; 30 plantas se inocularon al cuello de las plantas (Redondo-Juárez, 1986) y 30 plantas por la técnica de inmersión de raíz desnuda (Ramírez y Romero, 1980).

Inoculación al cuello: Las 30 plantas de jitomate se transplantaron en vasos de unicel que contenían peat moss previamente esterilizado (a 121 °C por 60 minutos). Después del trasplante de todas las plantas de jitomate, se inoculó el hongo al cuello de cada planta colocando 2 mL⁻¹ de una solución de zoosporas (5×10^4 zoosporas·mL⁻¹) a cada una de las plantas.

Inmersión de raíz desnuda: Las plantas de jitomate var. Río Grande se extrajeron de la charola germinadora, y las raíces se lavaron a chorro de agua de la llave. Posteriormente se sumergieron hasta el cuello de la planta en una solución de 250 mL⁻¹ que contenía 1×10^5 zoosporas·mL⁻¹, en donde permanecieron por 15 minutos. Después se transplantaron en vasos de unicel que contenían peat moss (previamente esterilizado en una olla de presión a 121 °C durante una hora).

El testigo absoluto consistió de 30 plantas de jitomate sin inocular, a las cuales sólo se les colocó agua destilada esterilizada. Todas las plantas (con hongo y sin hongo) se regaron con agua de la llave cada tercer día (saturación) y se mantuvieron en invernadero a una temperatura de 12 ± 3 °C y $80 \pm 5\%$ de HR.

2.6.2. Con *Rhizoctonia solani* Kühn

2.6.2.1. Preparación y cuantificación del inóculo

El aislamiento de *R. solani* se cultivo en dos formas: a) en PDA y b) en grano de trigo (Sneh *et al.*, 1991).

a) En PDA: *R. solani* se sembró en 5 cajas de Petri con PDA, y una vez que el micelio cubrió las cajas Petri (a los 6 días), se procedió a preparar una suspensión micelial (propágulos) mediante un raspado superficial del medio de cultivo y el hongo. El micelio se colocó en 100 mL⁻¹ de agua destilada esterilizada y se depositó en una licuadora, para triturar y homogenizar el micelio por 1 minuto. Posteriormente, se procedió a contabilizar por triplicado el número de propágulos de la solución con la ayuda de un hemacitómetro, ajustando la solución a una concentración de 86×10^3 propágulos·mL⁻¹.

b) Método del grano de trigo: Se colocaron 250 cm³ de granos de trigo sano más 150 mL⁻¹ de agua destilada en un matraz de 500 mL, y dicha mezcla se dejó reposar por 24 horas. Posteriormente, la mezcla se autoclaveó por 2 horas. Finalmente, el grano se inoculó con el aislamiento de *R. solani* y en seguida se incubó por 3 semanas a temperatura ambiente 23 ± 2 °C.

2.6.2.2. Inoculación de plantas

Se inocularon a 60 plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad; 30 plantas se inocularon con la técnica de inmersión de raíz desnuda y 30 plantas por el método del grano de trigo (Sneh *et al.*, 1991).

Inmersión de raíz desnuda: 30 plantas de jitomate var. Río Grande se extrajeron de la charola germinadora, y las raíces se lavaron a chorro de agua de la llave. Posteriormente se sumergieron hasta el cuello de la planta en una solución de 250 mL⁻¹ que contenía 86×10^3 propágulos·mL⁻¹ de *R. solani*, en donde permanecieron por 15 minutos. Después se transplantaron en vasos de unicel que contenían peat moss previamente esterilizado en una olla de presión (a 121 °C durante una hora).

Método del grano de trigo: Se transplantaron 30 plantas de jitomate en vasos de unicel que contenían peat most previamente esterilizado (a 121 °C por 60 minutos). Después de 24 horas del trasplante, se inocularon las plantas con granos de trigo infectados con *R. solani* en una proporción de 2% (v/v grano:sustrato) (Rangel-Jiménez y Acosta-Ramos, 2005).

El testigo absoluto consistió de 30 plantas de jitomate sin inocular, a las cuales sólo se les colocó agua destilada esterilizada. Todas las plantas se regaron con agua de la llave cada tercer día (saturación) y se mantuvieron en invernadero a una temperatura de $12 \pm 3^{\circ}\text{C}$ y $80 \pm 5\%$ de HR.

2.6.3. Con *Fusarium oxysporum*

2.6.3.1 Preparación y cuantificación del inóculo

El hongo se sembró en 5 cajas Petri con medio PDA sólido, al cual se le agregaron trocitos de raíz y tallo de plántulas de tomate previamente esterilizados en autoclave por 15 minutos a una temperatura de 121 °C, para prevenir una posible pérdida de patogenicidad del inóculo. Cuando el micelio del hongo cubrió la superficie total de las cajas se les agregaron 20 mL⁻¹ de agua destilada esterilizada; después con un portaobjeto se raspó el micelio para separar los conidios; la suspensión resultante se pasó a través de una manta de cielo para retener el micelio y permitir que sólo pasaran los conidios; el filtrado se colectó en un vaso de precipitado debidamente etiquetado y esterilizado. Posteriormente con la ayuda de un hemacitómetro se cuantificó la solución madre y finalmente se preparó una suspensión de *F. oxysporum* a una concentración de 5×10^6 conidios·mL⁻¹ (Rowe, 1980).

2.6.3.2. Inoculación de plantas

F. oxysporum se inoculó al cuello de 60 plantas de jitomate de 35 días de edad; 30 plantas de la var. Río Grande y 30 plantas del Híbrido Yaqui (Resistente a las razas 1 y 2 de dicho hongo).

Inoculación al cuello: Las 60 plantas de jitomate se transplantaron en vasos de unicel que contenían peat most previamente esterilizado (a 121 °C por 60

minutos). Inmediatamente después del trasplante de todas las plantas de jitomate, el hongo se inoculó al cuello de cada una de las mismas colocando 1 mL^{-1} de una suspensión conidial a una concentración de 5×10^6 conidios mL^{-1} .

Como testigo absoluto se utilizaron 30 plantas de jitomate sin inocular, a las cuales sólo se les colocó agua destilada esterilizada. Todas las plantas se regaron con agua de la llave cada tercer día y se mantuvieron en invernadero a una temperatura de $12 \pm 3 \text{ }^{\circ}\text{C}$ y $80 \pm 5\%$ de HR.

2.7. Reaislamiento y comparación del hongo inoculado

De plantas de jitomate var. Río Grande inoculadas con *P. capsici*, *R. solani* y *P. capsici* y que indujeron síntomas de la pudrición de raíz y cuello, se procedió a realizar el reaislamiento de cada uno de los hongos inoculados. Para lo cual se cortaron 20 trozos de tejido afectado por cada hongo de aproximadamente un centímetro (mitad sana y enferma) y se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 2 % por dos minutos, posteriormente se enjuagaron con agua destilada esterilizada, se secaron con papel secante esterilizado y finalmente se colocaron 4 o 5 muestras en cajas Petri con medio TA para *P. capsici* y PDA para *R. solani* y *F. oxysporum*. El material fue incubado a una temperatura de 25 a 28 $^{\circ}\text{C}$ bajo oscuridad. A las 72 horas se evaluó la frecuencia de reaislamiento para cada hongo y se compararon sus características morfológicas y culturales con las de los hongos inoculados.

2.8. Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron: frecuencia de aislamientos, identificación de los hongos, período de incubación, incidencia de la enfermedad, descripción de los síntomas inducidos por cada uno de los hongos y altura (para el caso de *R. solani*). La frecuencia de aislamiento de cada hongo se evaluó a través del número de muestras que presentaron el mismo crecimiento micelial con respecto al número total de muestras que se sembraron, y se expresó en porcentaje. La identificación de los aislamientos se realizó en base a sus características morfológicas y se emplearon las claves o libros de: Booth, 1971 (*Fusarium oxysporum*); Romero, 1988 (*P. capsici*, sp); Sneh *et al.*, 1991

(*Rhizoctonia solani*). El periodo de incubación, se consideró como el período de tiempo que transcurrió desde la inoculación hasta la aparición de los síntomas. La incidencia de la enfermedad se determinó a través del número de plantas que presentaron síntomas de la enfermedad con respecto al total de las plantas inoculadas. La descripción de los síntomas se realizó de forma visual diariamente, poniendo énfasis en indicadores como: clorosis, marchitez y lesiones en el cuello de las plantas. La altura de las plantas se determinó con la ayuda de una regla graduada en centímetros; para lo cual se tomaron nueve plantas al azar inoculadas con *R. solani* y nueve plantas del testigo sin inocular.

2.9. Diseño experimental y análisis de los datos

Se usó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento, la unidad experimental estuvo constituida por 10 plantas con tres repeticiones. Los resultados se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y a una comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$), utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) for Windows v8. 12.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Frecuencia de aislamiento

De plantas de jitomate con síntomas de marchitez parcial o total, clorosis evidente, lesiones secas o húmedas y crecimiento micelial procedentes de Texcoco, Edo. de México, se aislaron a los hongos *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* con una frecuencia de 65, 20 y 15% respectivamente, mientras que de plantas de Culiacán Sinaloa con síntomas de marchitez, clorosis y pudrición de cuello, se aislaron a los hongos *F. oxysporum* y *R. solani* con frecuencias de 75% y 25% respectivamente.

3.2. *Phytophthora capsici*

3.2.1. Identificación de *Phytophthora capsici*

El hongo aislado con la frecuencia mayor de plantas de jitomate con síntomas de marchitez parcial o total, clorosis, lesiones secas o húmedas y crecimiento micelial procedentes de Texcoco, Edo. de México, se identificó como *P. capsici* de acuerdo con Romero (1988); debido a que presentó las características morfológicas siguientes: micelio cenocítico con hinchamientos, colonias finamente radiadas y estrelladas (Figura 1A), esporangios abundantes de diferentes formas (ovoides, oval-alargados, globosos), y con una o más papilas a veces desviada (Figura 1B), así como, esporangióforos simples o ramificados irregularmente.

3.2.2. Prueba de patogenicidad

Los síntomas iniciales de marchitez inducidos por *P. capsici* aparecieron a los 3 días después de la inoculación (ddi), con una incidencia de enfermedad del 100% a los 8 ddi. Los síntomas inducidos por *P. capsici* fueron primeramente en la base del tallo, en donde se inició un obscurecimiento del cuello a los 3 ddi, acompañado de una ligera constricción a nivel del sustrato (Figura 1C) que avanzó rápidamente causando marchitez progresiva, hasta que a los 4 ddi el tejido del cuello fue totalmente reblandecido y necrosado por el hongo, ocasionando la caída de las plantas. Estos síntomas coinciden con los descritos por Mendoza y Pinto (1983), para el cultivo de jitomate, quienes mencionaron que los síntomas característicos comienzan con una marchitez muy leve de las

plantas y después de 3-4 días se marchitan completamente, observándose en el cuello una constricción y necrosamiento muy marcado. Así como los resultados por Cruz-Alcalá (1996), quien al inocular zoosporas de *P. capsici* en plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad observó los síntomas siguientes; obscurecimiento y constricción del cuello de las plantas 48 horas después de la inoculación, marchitez del follaje conforme ascendía el ennegrecimiento del tallo y posteriormente caída y muerte de las plántulas.

De los dos métodos de inoculación (al cuello e inmersión de raíz desnuda) el más eficiente para *P. capsici* fue el de inmersión de raíz desnuda en una solución de zoosporas, ya que indujo una incidencia de plantas muertas de 96.7% (6 ddi) con respecto al método de inoculación al cuello, el cual tuvo una mortandad de 83.3% en el mismo tiempo. No obstante, todas las plantas inoculadas con el hongo murieron a los 8 ddi en ambos métodos. El hecho de que el método de inmersión de raíz desnuda provocara una muerte de plantas inicialmente mayor al de inoculación al cuello (Cuadro 1), indica que un número mayor de zoosporas infectivas se adhirieron a la raíz y cuello de las plantas, y en consecuencia una cantidad mayor de inóculo, que al desarrollarse durante los primeros días de infección, destruyeron más rápidamente el tejido vegetal del cuello de las plantas de jitomate.

Cuadro 1. Porcentaje de plantas muertas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad inoculadas con 1×10^5 zoosporas mL^{-1} de *P. capsici* mediante dos métodos de inoculación.

Método de inoculación	Fecha de evaluación y porcentaje de plantas muertas		
	4 ddi	6 ddi	8 ddi
Al cuello de la planta	6.6 b ^z	83.3 a	100 a
Inmersión de raíz desnuda	46.6 a	96.7 a	100 a
Testigo	SIN DAÑO VISIBLE		

^z valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$). ddi = días después de la inoculación.

3.2.3. Reaislamiento de *P. capsici*

De las plantas de jitomate var. Río Grande inoculadas y dañadas por dicho hongo se reaisló a *P. capsici* con una frecuencia del 100 % en medio de cultivo TA. La frecuencia alta de reaislamiento indicó que el hongo inoculado (*P. capsici*) fue el agente causal de los síntomas antes descritos, y por lo tanto uno de los hongos que causan la pudrición de raíz y cuello en el cultivo del jitomate, tal y como ha sido señalado por muchos autores (Galindo, 1960; Redondo-Juárez, 1986; Tlapal-Bolaños, 1995; Rangel-Jiménez y Acosta-Ramos, 2005).

3.3. *Rhizoctonia solani*

3.3.1. Identificación de *Rhizoctonia solani*

Otro de los hongos que se aisló de plantas de jitomate con síntomas de pudriciones de raíz y cuello, se identificó como *R. solani* con la ayuda de las claves ó características indicadas por Sneh *et al.* (1991), debido a que dicho aislamiento presentó las características morfológicas siguientes: micelio de crecimiento rápido de color gris-claro a café-oscuro (Figura 1D), ramificaciones de hifas aproximadamente en ángulo recto de 90 grados, hifas claras en cultivos jóvenes y café-oscuro al envejecer, con una constricción en la unión de las ramificaciones cerca de su sitio de origen (Figura 1E), micelio relativamente grueso y formación de una gran cantidad de esclerocios pequeños aproximadamente 15 días después de sembrado el hongo en medio de cultivo PDA. Todas estas características concuerdan con las descritas por Parmeter y Whitney (1970), para *Rhizoctonia solani*.

3.3.2. Prueba de patogenicidad

Los primeros síntomas inducidos por *R. solani* ocurrieron a los 10 ddi, con una incidencia de la enfermedad del 100%. Los síntomas que mostraron las plantas de jitomate inoculadas con *R. solani* fueron: reducción substancial y significativo del crecimiento con respecto a las plantas sanas (Figura 2), amarillamiento generalizado del follaje, y presencia de pequeños canchales de color café-oscuro, secos, de aspecto leñoso y agrietados en la raíz y cuello de las plantas. Estos síntomas inducidos por *R. solani* coinciden con los descritos para este cultivo por Blancard (1990) y Cruz-Alcalá (1996). Así mismo, síntomas

símilares fueron descritos por Rangel-Jiménez y Acosta-Ramos (2005), al inocular granos de trigo infectados con *R. solani* en plantas de chile manzano (*Capsicum pubescens*), observando una reducción drástica del crecimiento, clorosis del follaje, así como, pudrición corchosa en el cuello de las plantas de chile.

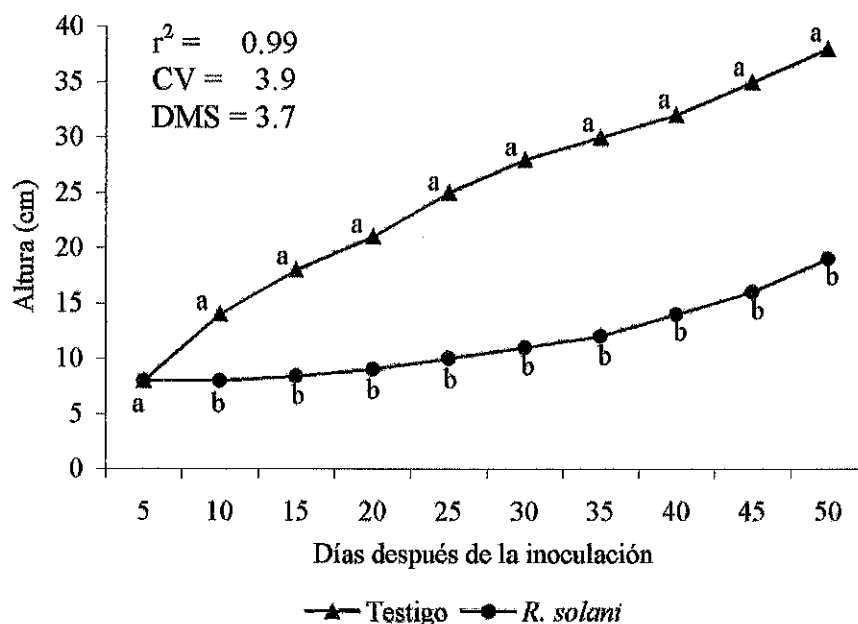


Fig. 2. Altura (en cm) de plantas de jitomate var. Río Grande inoculadas con *R. solani* y sin inocular (testigo).

De los dos métodos de inoculación el más eficiente para reproducir los síntomas inducidos por *R. solani* en plantas de jitomate fue el método de grano de trigo inoculado con el hongo, ya que indujo clorosis generalizada, reducción del crecimiento (Figura, 1F), y la presencia de pequeños canchros en cuello y raíz de plantas de jitomate. La inoculación de las plantas de jitomate con *R. solani*, por la técnica de inmersión de raíz desnuda en una solución de propágulos, no produjo ningún síntoma de enfermedad en las plantas durante 50 días que duro el bioensayo, lo anterior hace pensar que *R. solani* no tuvo la capacidad de adaptarse a las condiciones del sustrato utilizado (peat moss), de tal manera que el hongo murió antes de que se produjera la infección en las plantas, o bien, la cantidad de inóculo utilizado (86×10^3 propágulos·mL⁻¹) no fue suficiente para la inducción de la enfermedad en las plantas.

3.3.3. Reaislamiento de *R. solani*

De las plantas de jitomate var. Río Grande inoculadas y con síntomas inducidos por *R. solani*, se obtuvo al mismo hongo con una frecuencia del 100 %, lo que indicó que el hongo inoculado es también uno de los agentes causantes de la pudrición de raíz y cuello en el cultivo del jitomate, tal y como fue señalado por Krupa y Dommergues, (1979); Lucas *et al.*, (1985); De la Garza (1996); Mendoza, (1996).

3.4. *Fusarium oxysporum*

3.4.1. Identificación de *Fusarium oxysporum*

El hongo aislado con la frecuencia mayor de plantas de jitomate con síntomas de clorosis y marchitez parcial o total procedentes de Culiacán, Sinaloa, se identificó como *F. oxysporum* de acuerdo con las claves de Booth (1971), debido a que presento las características morfológicas siguientes: micelio de color rosado a blanco, fiálides cortas, microconidios abundantes, clamidosporas y macroconidios puntiagudos en sus extremos con tres a cinco septas (Figura 1H), los cuales sólo se formaron en medio suelo agar (Figura 1G). Según Ayvar-Serna (1988), la presencia de fiálides cortas separan a *F. oxysporum* de *F. solani* y la producción de clamidosporas lo diferencian de *F. moniliforme*.

3.4.2. Pruebas de patogenicidad

F. oxysporum presento un periodo de incubación de 10 ddi en plantas de jitomate var. Río Grande, y de 25 días en plantas del Híbrido Yaqui. La incidencia de enfermedad fue del 100% en plantas de jitomate var. Río Grande e Híbrido Yaqui a los 30 y 50 ddi respectivamente. Los síntomas inducidos por este patógeno en la variedad e híbrido de jitomate fueron los siguientes: amarillamiento de la hojas inferiores generalmente de un sólo lado de la planta (Figura 1I, 1K), marchitez generalizada (Figura 1J), las hojas al morir quedaron adheridas a la planta, xilema de coloración café oscuro (Figura 1L), raíces con zonas necrosadas y finalmente colapso y muerte de la planta. Todos estos síntomas coinciden con los descritos por Mendoza (1996), para plantas de jitomate afectadas por esta especie de hongo.

La agresividad de *F. oxysporum* en las plantas de jitomate fue mayor en la var. Río Grande en comparación con las del híbrido Yaqui, ya que los síntomas en la primera variedad fueron muchos más prematuros con respecto a las del híbrido, provocando que todas las plantas de la var. Río Grande murieran 30 ddi, y las plantas del Híbrido Yaqui hasta los 50 ddi (Figura 3). Los daños inducidos en este último híbrido (resistente a la raza I y II del hongo) y el hecho de que este hongo haya sido aislado de plantas de jitomate enfermas provenientes de Sinaloa, indicaron que la especie, forma especial y raza de *Fusarium* correspondía a *oxysporum* f.sp. *lycopersici* raza III. Esto concuerda con un estudio hecho por Carrillo-Fasio *et al.* (2003), en el Valle de Culiacán, Sinaloa, donde muestrearon y colectaron plantas con síntomas de fusariosis en 20 campos hortícolas, obteniendo 40 aislamientos de *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* que posteriormente inocularon en líneas diferenciales de jitomate, y en función de la presencia de síntomas e infecciones en las plantas diferenciales, se determinó que el 60% de los aislados pertenecían a la raza 2 y el 40% pertenecían a la raza 3, no encontrando en ninguna de las áreas muestreadas del Valle de Culiacán la raza 1.

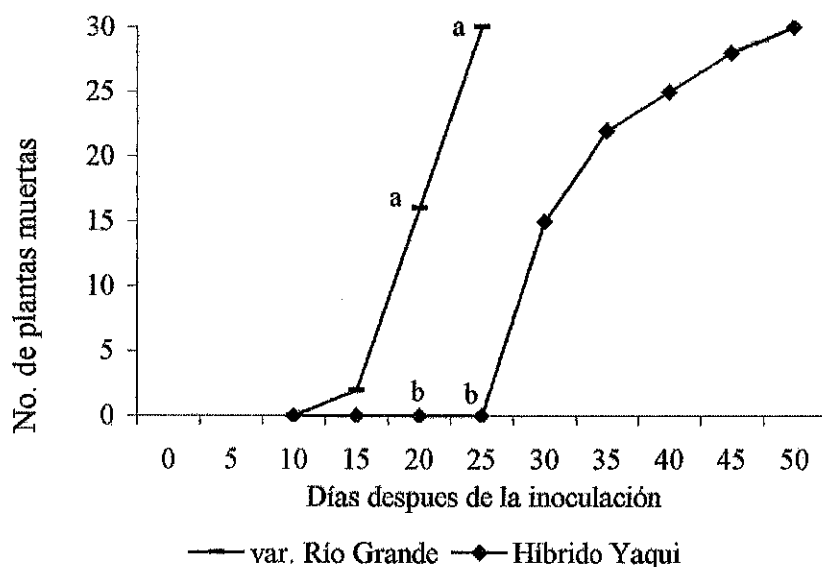


Fig. 3. Comportamiento temporal de la incidencia de plantas muertas (marchitez) inducida por *F. oxysporum* en jitomate var. Río Grande e Híbrido Yaqui de 35 días de edad.

3.4.3. Reaislamiento de *F. oxysporum*

De las plantas de jitomate var. Río Grande e Híbrido Yaqui inoculadas con *F. oxysporum* y que mostraron síntomas de fusariosis, se obtuvo al mismo hongo en un 100% tanto de plantas afectas de la var. Río Grande, como del híbrido Yaqui. Las características morfológicas y culturales de los reaislamientos obtenidos fueron semejantes a las descritas con anterioridad para el cultivo monoconidial que se inoculó, identificándose como *F. oxysporum*, lo que indicó que este hongo es uno más de los agentes causales de la pudrición de raíz y cuello en el cultivo del jitomate.

3.5. Inoculación conjunta de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*

El periodo de incubación fue más corto al inocular de manera conjunta a *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*, con respecto a la inoculación individual de cada uno de ellos, ya que a los 2 ddi se observaron los primeros síntomas de la enfermedad. También la incidencia de la enfermedad fue mayor que la inoculación individual de cada uno de estos hongos, ya que a los 6 ddi el 100% de las plantas de jitomate presentaron estrangulamiento en el cuello de la planta. Los síntomas inducidos por la aplicación conjunta de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* fueron: obscurecimiento del cuello a los 3 ddi, acompañado de una ligera constricción a nivel del sustrato que avanzó rápidamente causando marchitez progresiva, hasta que a los 4 ddi el tejido del cuello fue totalmente reblandecido y necrosado por el hongo, ocasionando la caída de las plantas. Estos síntomas coinciden ampliamente con los observados en la inoculación individual de *P. capsici* en las plantas de jitomate var. Río Grande, por lo que se deduce que este hongo fue el que causó en mayor medida la muerte de las plantas.

4. CONCLUSIONES

De plantas de jitomate con síntomas de marchitez parcial o total, clorosis evidente, lesiones secas o húmedas y crecimiento micelial procedentes de Texcoco, Edo. de México, se aislaron a los hongos *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* con una frecuencia de 65, 20 y 15% respectivamente, mientras que de plantas de Culiacán Sinaloa con síntomas de marchitez, clorosis y pudrición de cuello, se aislaron a los hongos *F. oxysporum* y *R. solani* con frecuencias de 75% y 25% respectivamente.

P. capsici causó pudrición de cuello, marchitez y muerte de plantas a partir de los 4 días después de la inoculación (ddi). De los dos métodos de inoculación (al cuello e inmersión de raíz desnuda) el más eficiente para *P. capsici* fue el de inmersión de raíz desnuda en una solución de zoosporas, ya que indujo una incidencia de plantas muertas de 96.7% (6 ddi) con respecto al método de inoculación al cuello, el cual tuvo una mortandad de 83.3% en el mismo tiempo. No obstante, todas las plantas de jitomate inoculadas con dicho hongo murieron a los 8 ddi,

R. solani no ocasionó la muerte de las plantas de jitomate, pero sí provocó una reducción substancial de crecimiento, así como, un amarillamiento generalizado en el 100 % de las plantas de jitomate. El método de inoculación más eficiente para reproducir los síntomas inducidos por *R. solani* en plantas de jitomate fue el método de grano de trigo inoculado con el hongo, ya que indujo síntomas a los 10 ddi, mientras que la inoculación de *R. solani* por la técnica de inmersión de raíz desnuda en una solución de propágulos, no produjo ningún síntoma de enfermedad en las plantas durante los 50 días que duró el bioensayo,

F. oxysporum causó; amarillamiento de la hojas inferiores generalmente de un sólo lado de las plantas de jitomate var. Río Grande e Híbrido Yaqui a los 10 y 25 ddi respectivamente, así como, marchitez generalizada, hojas muertas adheridas a las plantas, xilema de coloración café oscuro, raíces con zonas necrosadas y finalmente colapso y muerte de las plantas (100%) a los 25 y 50 ddi, respectivamente. Este hongo fue más agresivo en las plantas de jitomate

var. Río Grande que en las plantas del Híbrido Yaqui. Los daños inducidos en el Híbrido Yaqui, indicaron que la especie, forma especial y la raza de *Fusarium* fue *oxysporum* f.sp. *lycopersici* raza III.

La inoculación de los tres hongos al mismo tiempo fue más agresiva que la inoculación individual de cada uno de ellos, causando una incidencia de 100% de plantas muertas a los 6 ddi.

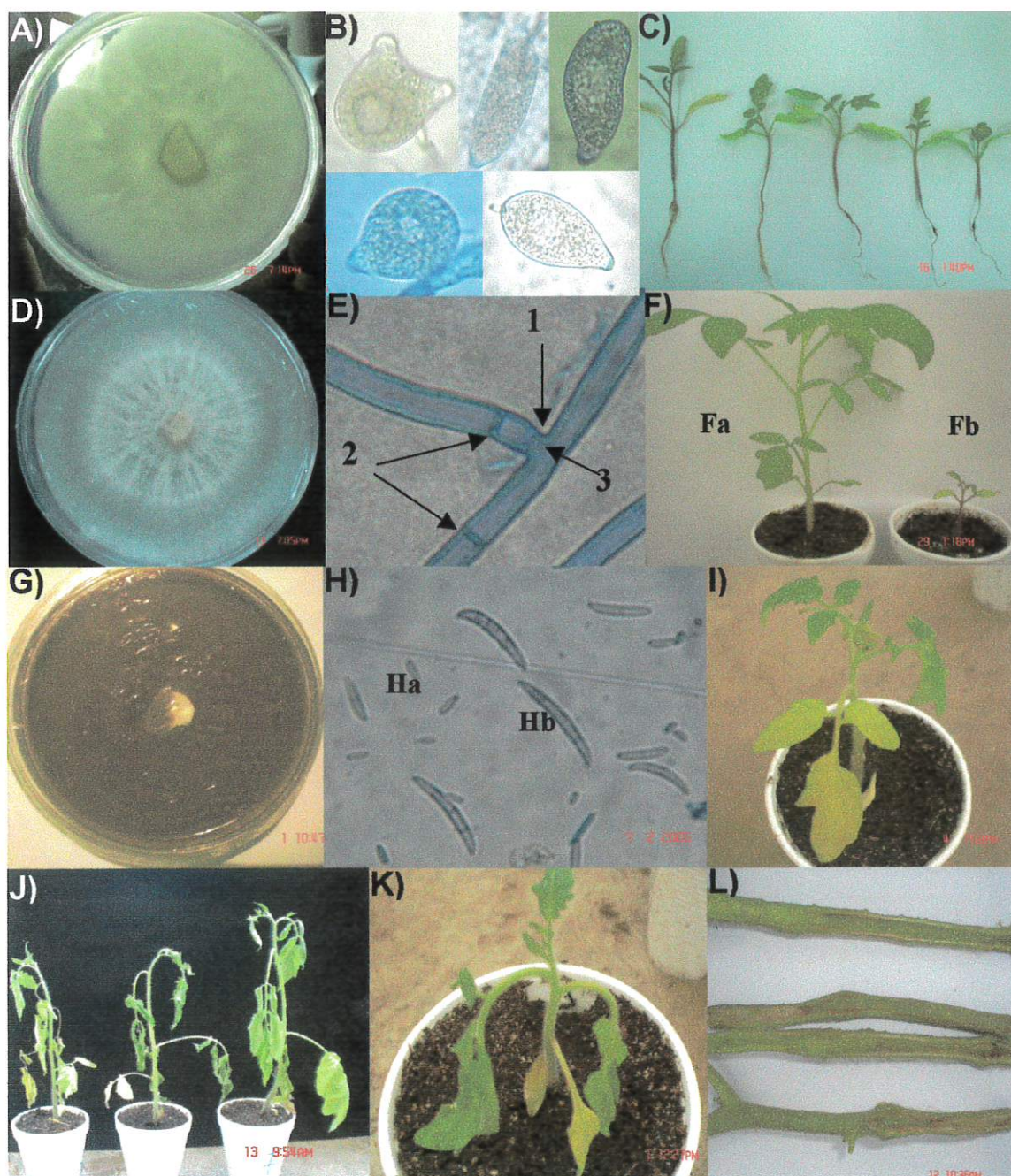


Fig 1. Características culturales, morfológicas y sintomatología inducida por patógenos del cuello y raíz del jitomate en invernadero: A) Crecimiento "In Vitro" de *Phytophthora capsici* en medio tomate-agar (TA); B) Esporangios de *P. capsici* en medio TA; C) Plantas de jitomate var. Río Grande con constricción de cuello 6 días después de la inoculación (ddi) con *P. capsici*; D) Crecimiento "In Vitro" de *Rhizoctonia solani* en medio papa-dextrosa-agar (PDA); E) Características morfológicas de *R. solani*: 1) constricción, 2) septas, 3) ramificación en ángulo recto; F) Reducción del crecimiento por *R. solani*: Fa) testigo, Fb) planta con *R. solani*. 35 ddi; G) Crecimiento de *Fusarium oxysporum* en medio suelo-agar para la producción de macroconidios; H) Conidios de *F. oxysporum*: Ha) microconidios, Hb) macroconidios; I) Clorosis de un solo lado en jitomate var. Río Grande 10 ddi con *F. oxysporum*; J) Clorosis y marchitez en jitomate Híbrido Yaqui 33 ddi; K) Clorosis y marchitez en jitomate var. Río Grande 10 ddi; L) Necrosis vascular por *F. oxysporum* en Híbrido Yaqui 40 ddi.

5. LITERATURA CITADA

Ayvar-Serna, S. 1988. Respuesta de 10 variedades de tomate a la infección individual y combinada de *Meloidogyne incognita* y *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici*. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillos, Edo de México, México. pp. 26-27, 46-47.

Blancard, D. 1990. Enfermedades del tomate. Observar, identificar, luchar. Ediciones Mundi-Prensa. Madrid España. pp. 1-10.

Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Editorial Kew Surrey; Commonwealth Micological Institute., England. pp. 130-134.

Carrillo-Fasio, J. A., Montoya-Rodríguez, T. J., García-Estrada, R. S., Cruz-Ortega, J. E., Márquez-Zequera, I y Sañudo-Barajas, A. J. 2003. Razas de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* Zinder y Hansen, en tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el valle de Culiacán, Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología. 21(2): 123-127.

Cruz-Alcalá, A. 1996. Identificación de hongos causantes de pudriciones de raíz y cuello del tomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.) en el sureste del estado de México. Tesis de Maestría en Ciencias en Protección Vegetal. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 58-77.

De la Garza, G. J. L. 1996. Fitopatología general. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México. pp. 311-315.

Fernández-Herrera, E., y Acosta-Ramos, M. 2005. Síntomas y patogenicidad de hongos causantes de la pudrición de raíz y cuello en jitomate. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. pp. L-69.

French, R., y Hebert, T.T. 1982. Métodos de investigación fitopatológica. Instituto Latinoamericano de Cooperación para la Agricultura. San José, Costa Rica. pp. 168-169.

- Galindo, A. J. 1960. Estudio preliminar sobre la marchitez de las plantas de chile en México y su agente causal *Phytophthora capsici* Leonian. Tesis de Licenciatura. Escuela Nacional de Agricultura, México. 42 p.
- Krupa, S. V., y Dommergues, R. 1979. Ecology of root pathogens. Elsevier Scientific Publishing Company. The Netherlands. pp. 21-24.
- Mendoza, Z. C., y Pinto, C. B. 1983. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 131-132.
- Lucas, G. B., Campbell, C. L., y Lucas, L. T. 1985. Introduction to plant diseases, identification and management. North Carolina State University. The AVI publishing company inc. United States of America. pp. 154-159.
- Mendoza, Z. C. 1996. Enfermedades fungosas de hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 4-8; 21-24.
- Parmeter, J. R., y Whitney, H. S. 1970. Taxonomy and nomenclature of the imperfect state. In: *Rhizoctonia solani*; biology and pathology. (Ed) Parmeter, J. R. University of California Press. U. S. A. pp. 7-13.
- Ramírez, V.J., y Romero, C.S. 1980. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leo., agente causal de la marchitez del chile. Agrociencia 39:9-18.
- Rangel-Jiménez, V., y Acosta-Ramos, M. 2005. Determinación de los agentes causales de la marchitez en *Capsicum pubescens*. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. S-P.
- Redondo-Juárez, Eliseo. 1986. Mecanismos de infección y patología de las plantas de chile susceptibles y resistentes al hongo *Phytophthora capsici* Leo. Tesis de Doctor en Ciencias en Fitopatología. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. pp. 81-83.

Romero, C.S. 1988. Hongos fitopatógenos. Patronato Universitario. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 67-68.

Rowe, R. C. 1980. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-crown tomatoes in North America and Japan. *Phytopathology* 70:(12) 1143-1147.

Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS PRESS. St. Paul, Minnesota. U.S.A. pp. 1-29.

Tlapal-Bolaños, B., Osada-Kawasoe, S., González-Cossío, F., y Mendoza-Zamora, C. 1995. Comportamiento fisiológico de 30 aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 13(1):41-51.

CAPÍTULO 3

MANEJO QUÍMICO CURATIVO Y PREVENTIVO DE LA MARCHITEZ DEL JITOMATE (*Phytophthora capsici* Leo.) EN INVERNADERO

RESUMEN

Se evaluó la eficacia de control de tres fungicidas sistémicos aplicados en dosis alta y baja en forma curativa y preventiva en plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad inoculadas con el hongo *Phytophthora capsici*. La dosis alta de Metalaxil 46.2% y Fosetil-AI 80% aplicada curativamente, mostraron la incidencia menor de la enfermedad (16.7%) a los 34 días después de la inoculación (ddi) con respecto al testigo (100%), obteniendo ambos fungicidas una eficacia de control de 83.3%. La aplicación preventiva de Metalaxil 46.2% y Metalaxil 25.3% no permitieron el desarrollo de la enfermedad (0% de daño) y por tanto, mostraron eficacias de 100% en el control de la marchitez del jitomate. Las plantas tratadas con Fosetil-AI 80% aplicado de manera preventiva, mostraron una eficacia de control de la enfermedad de 83.3%, lo cual no mostró diferencias estadísticas con respecto a la aplicación curativa de dicho fungicida. El control químico de la marchitez del jitomate (*P. capsici*) fue más eficaz cuando los fungicidas se aplicaron de manera preventiva, con respecto a la aplicación curativa.

CHEMICAL MANAGEMENT CURATIVELY AND PREVENTIVELY OF THE WILT TOMATE (*Phytophthora capsici* Leo.) IN GREENHOUSE

ABSTRACT

The effectiveness in controlling of three systemic fungicides in high dose and it lowers applied curatively and preventively in tomato plants var. Río Grande of 35 days age inoculated with the fungi *Phytophthora capsici*. The high dose Metalaxil 46.2% and Fosetil-AI 80 % applied curatively resulted in less plant loss (16.7%), 34 days after the inoculation (dai) when compared to the control (100%), obtaining both fungicides 83.3% effectiveness in controlling. Metalaxil 46.2% and Metalaxil 25.3% applied preventively did not permit the development of the disease (0% damage) and therefore, they showed effectiveness 100% in the control the tomato wilt. The plants treated with Fosetil-AI 80% applied preventively, they showed 83.3% effectiveness in controlling of the disease, that which didn't show statistical differences with respect to the application curatively of this fungicide. The chemical control of the tomato wilt (*P. capsici*) it was more effective when the fungicides were applied preventively, with respect to the application curatively.

1. INTRODUCCIÓN

La marchitez del jitomate causada por el hongo *Phytophthora capsici* Leo., constituye uno de los factores que limitan la productividad del cultivo en México estimándose pérdidas de hasta 50% en Nayarit y Jalisco (Mendoza y Pinto, 1983). Este hongo se aisló por primera vez de plantas de pimiento en Nuevo México, Estados Unidos de América (Leonian, 1922). En México se ha encontrado afectando cultivos de berenjena, calabacita, melón, jitomate, cacao, fresa, pepino y sandía. Bajo condiciones favorables de temperatura (25 a 28 °C) y humedad alta del suelo, *P. capsici* es sumamente agresivo capaz de destruir campos enteros de jitomate (Romero, 1988). El hongo penetra por estomas, lenticelas e hidátodos, o directamente rompiendo las barreras de protección de la cutícula de la planta mediante la secreción de enzimas pectolíticas que reblandecen o maceran los componentes de dichas barreras. En la mayoría de los casos el hongo inicia su ataque a nivel del cuello de la planta produciendo canchales de color café oscuro, al principio húmedos y después se vuelven blandos y secos acompañado de una ligera constricción que avanza rápidamente, lo cual ocasiona una marchitez progresiva del hospedante hasta que la planta cae al suelo y muere (Redondo-Juárez, 1986).

El manejo de esta enfermedad ha sido difícil, pues no se tienen materiales comerciales resistentes. Además, el control cultural no es totalmente efectivo ya que muchos productores no siguen las recomendaciones de evitar encharcamientos de agua, hacer surcos altos, eliminar plantas enfermas y hacer rotación de cultivos, y por otra parte, la eficacia del manejo químico ha sido variable, pues el hongo tiene una respuesta diferente a los fungicidas; ya que puede desarrollar resistencia a estos, principalmente cuando en una área de cultivo se localizan los dos tipos de compatibilidad del hongo, existiendo con esto recombinación genética, y con ello desarrollo de variabilidad, la cual se puede expresar tanto en la patogenicidad como en la sensibilidad del hongo hacia los fungicidas, lo que conlleva a un manejo más difícil del mismo (Pérez-Moreno, 2002). Por lo anterior, es de gran importancia evaluar la eficacia de control de algunos de los fungicidas que más se utilizan para el manejo de *P. capsici* con la

finalidad de monitorear su comportamiento. En base a lo anterior se realizó la presente investigación con el objetivo siguiente:

1) Evaluar la eficacia de Metalaxil 46.2%, Fosetil-Al 80% y Metalaxil 25.3% en aplicaciones preventivas y curativas para el control de la marchitez del jitomate (*P. capsici*) en condiciones de invernadero.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se origino a partir del aislamiento monozoospórico de *Phytophthora capsici* obtenido e identificado previamente en otras investigaciones por Fernández-Herrera y Acosta-Ramos (2005).

2.1. Preparación del inóculo

El aislamiento monozoospórico de *P. capsici* se sembró en cinco cajas con medio de cultivo jugo de tomate agar (TA) para su incremento masivo. Posteriormente, en cajas Petri con 20 mL de agua destilada esterilizada se colocaron 10 discos de medio de cultivo que contenían micelio de *P. capsici*. El material fue incubado a 25 °C por tres días para la formación de esporangios y la posterior liberación de sus zoosporas. La liberación se logró después de poner la caja Petri a 12 °C por media hora (Ramírez y Romero, 1980). Posteriormente con la ayuda de un hemacitómetro se cuantificó la solución madre o monozoospórica previamente preparada, la cual se ajusto a una concentración de 5×10^4 zoosporas·mL⁻¹ (Fernández-Herrera *et al.*, 2005).

2.2. Aplicación curativa y preventiva de los fungicidas

La aplicación de los fungicidas para el control de *P. capsici* se realizó una sola vez y de dos maneras distintas: 1) Curativa; seis horas después de la inoculación de las plantas con *P. capsici*, y 2) Preventiva; 10 minutos antes de la inoculación de *P. capsici* en las plantas de jitomate de 35 días de edad. Los fungicidas evaluados fueron: Metalaxil 46.2 %, Fosetil-Aluminio 80% y Metalaxil 25.3 % cada uno de ellos en dos dosis (baja y alta). De cada uno de los fungicidas se preparo un litro de solución fúngica a las dosis señaladas en el Cuadro 1, y de cada una de estas soluciones se aplicaron 50 mL⁻¹ a cada planta de jitomate de manera preventiva y curativa.

2.3 Inoculación de *P. capsici* y manejo del experimento

La inoculación se realizó al cuello de las plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad con 1 mL^{-1} de una solución que contenía 5×10^4 zoosporas· mL^{-1} de *P. capsici*. El transplante (una planta por maceta) se realizó en bolsas de polietileno de color negro de dos kilogramos, las cuales contenían suelo de monte previamente esterilizado con bromuro de metilo. Las plantas se regaron cada tercer día con la misma cantidad de agua (500 mL) por planta y se mantuvieron en invernadero por 35 días a una temperatura de $25 \pm 5^\circ\text{C}$ y una humedad relativa de $80 \pm 5\%$.

Cuadro 1. Fungicidas y dosis evaluadas para el control de *P. capsici* aplicados en forma curativa y preventiva en plántulas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad.

Fungicidas y tratamientos	Dosis baja*	Dosis alta*
Metalaxil 46.2%, (Ridomil Gold 4E). Concentrado emulsionable.	$1.5 \text{ L} \cdot 1000 \text{ L}^{-1}$ $1.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$	$2.5 \text{ L} \cdot 1000 \text{ L}^{-1}$ $2.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$
Fosetil-Aluminio 80 %, (Aliette WDG). Gránulos dispersables	$2.5 \text{ Kg} \cdot 1000 \text{ L}^{-1}$ $2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$	$3.5 \text{ Kg} \cdot 1000 \text{ L}^{-1}$ $3.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$
Metalaxil 25.3%, (Tokat 240 CE). Concentrado emulsionable	$2 \text{ L} \cdot 1000 \text{ L}^{-1}$ $2 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$	$4 \text{ L} \cdot 1000 \text{ L}^{-1}$ $4 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$
Testigo (con <i>P. capsici</i>)	5×10^4 zoosporas· mL^{-1} x planta	
Testigo (sin hongo; ni fungicida)	-----	-----

*Dosis de producto comercial

2.4. Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron: *Incidencia de la enfermedad*, la cual se consideró como el número de plantas que mostraron síntomas de la enfermedad con respecto al número total de plantas, y la *eficacia de los fungicidas*, que se determinó con la fórmula de Abbott (1925). Las evaluaciones se determinaron a los 17 y 34 días después de la inoculación.

Fórmula Abbott = $(IT - it / IT) 100$

Donde: IT = Infección en testigo

It = Infección en tratamiento con fungicida

2.5. Diseño experimental

Se usó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento, la unidad experimental estuvo constituida por seis plantas por repetición (una planta por maceta).

2.6. Análisis estadístico

Los resultados de incidencia de la enfermedad y eficacia de los fungicidas se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y a una comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$), utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) for Windows v8. 12.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Manejo químico curativo de la marchitez del jitomate

3.1.1. Incidencia de la enfermedad y eficacia de los fungicidas

La incidencia menor de la marchitez del jitomate (*P. capsici*) se observó en las plantas tratadas con las dosis altas de metalaxil 46.2% (2.5 mL·L⁻¹), metalaxil 25.3% (4 mL·L⁻¹) y Fosetil-AI 80% (3.5 g·L⁻¹), con incidencias de 11.10, 11.10 y 16.7% respectivamente, a los 17 días después de la inoculación (ddi), y por tanto, dichos fungicidas mostraron las eficacias de control mayores (88.9, 88.9 y 83.3% respectivamente) Cuadro 2. A los 17 ddi ambas variables de dichos tratamientos fueron iguales estadísticamente entre ellos. A los 34 ddi el comportamiento de las dosis altas de metalaxil 46.2% (2.5 mL·L⁻¹), metalaxil 25.3% (4 mL·L⁻¹) y Fosetil-AI 80% (3.5 g·L⁻¹) fueron similares estadísticamente, sin embargo, la incidencia de la enfermedad se incremento hasta 16.7, 27.8 y 16.7% respectivamente, lo cual se tradujo en una eficacia de control menor, y fueron de 83.3, 72.2 y 83.3% respectivamente. Dichos tratamientos fueron iguales estadísticamente en ambas variables. El comportamiento anterior se puede deber a que el fungicida metalaxil 46.2% presenta gran versatilidad, rápida absorción y propiedades curativas de enfermedades con origen en el suelo (Mendoza, 1992), lo que permitió por ende una protección mayor de las plantas de jitomate contra el ataque de *P. capsici*; mientras que el Fosetil-AI 80% es un fungicida que estimula las reacciones de defensa de las plantas (Agrios, 1986), por lo cual el efecto no fue de inmediato, pero una vez que los sistemas de defensa de la planta actuaron, el control de la enfermedad fue por más tiempo. Resultados similares reportó González-Villalobos (1997), al utilizar Ridomil Gold 4E (metalaxil 46.2%) a dosis 1.5 L·ha⁻¹ para el control de la marchitez del chile en campo, obteniendo una reducción de la enfermedad de 54.5% con relación al testigo absoluto. Así mismo, a los 34 ddi la incidencia mayor de la enfermedad y las eficacias de control menores, se apreciaron en las plantas de jitomate tratadas con las dosis bajas de metalaxil 46.2% (1.5 mL·L⁻¹), metalaxil 25.3% (2 mL·L⁻¹) y Fosetil-AI 80% (2.5 g·L⁻¹) con incidencias de 38.9, 44.4 y 55.6% respectivamente, y por lo tanto, estos fungicidas mostraron las eficacias de control menores (61.1, 55.6 y 44.4 % respectivamente. Estos

resultados coinciden con lo reportado por Chávez-Alfaro (1994), quien señaló que el Fosetil-Al 80% a dosis de 2 Kg·ha⁻¹ aplicados cada dos semanas, iniciando la aplicación al detectar los primeros brotes de la enfermedad, no mostró efecto alguno sobre el desarrollo de la enfermedad, no justificando con esto su aplicación. De igual forma García-Barrón (1990), reportó que el uso de Fosetil-Al 80% a dosis de 2.5 Kg·ha⁻¹ a intervalos de aplicación de 7 y 10 días, no fue satisfactorio en el control de la marchitez del chile, obteniendo valores estadísticamente iguales al tratamiento testigo (*P. capsici*; sin fungicida). Este comportamiento se puede deber a que la aplicación del fungicida la realizara cuando ya estaba presente la enfermedad, debido a lo anterior y a las características del producto, se recomienda la aplicación de manera preventiva.

Cuadro 2. Incidencia de la marchitez del jitomate (*P. capsici*) y eficacia de control con fungicidas aplicados de manera curativa en plantas de jitomate var. Río Grande.

Tratamiento	17 ddi		34 ddi	
	Incidencia	Eficacia	Incidencia	Eficacia
Metalaxil 46.2 %	27.80 bc ^z	72.2 bc	38.90 bc	61.10 bc
Metalaxil 46.2 %	11.13 cd	88.9 ab	16.67 de	83.30 ab
Fosetil- aluminio 80 %	44.43 b	55.6 c	55.60 b	44.40 d
Fosetil-aluminio 80 %	16.67 cd	83.3 ab	16.70 de	83.30 ab
Metalaxil 25.3 %	44.43 b	55.6 c	44.43 bc	55.6 bc
Metalaxil 25.3 %	11.13 cd	88.9 ab	27.80 cd	72.2 bc
Testigo (<i>P. capsici</i>)	100.0 a	0.0 d	100.0 a	0.0 e
Testigo absoluto	0.0 d	-----	0.00 c	-----
CV	23.14	10.87	16.44	9.87
DMS	21.30	21.3	17.77	17.77

^z valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo con la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

3.2. Manejo químico preventivo de la marchitez del jitomate

3.2.1. Incidencia de la enfermedad y eficacia de los fungicidas

La incidencia menor de la marchitez del jitomate (*P. capsici*) se observó en las plantas tratadas con las dosis bajas y altas de metalaxil 46.2% (1.5 y 2.5 mL·L⁻¹) y metalaxil 25.3% (2 y 4 mL·L⁻¹) con incidencias de 0 % para ambos fungicidas, a los 17 días después de la inoculación (ddi), lo cual se tradujo en una eficacia de control de la enfermedad de 100% para ambos (Cuadro 3). A los 17 ddi ambas variables de dichos tratamientos fueron iguales estadísticamente entre

ellos, pero diferentes estadísticamente con la dosis baja de Fosetil-Al 80%. A los 34 ddi el comportamiento de la dosis alta de metalaxil 46.2% ($2.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$) y la dosis baja y alta de metalaxil 25.3% (2 y $4 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$) se mantuvieron constantes para ambas variables, sin embargo, la incidencia de la enfermedad se incremento ligeramente en la dosis baja de metalaxil 46.2% ($1.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$) con una incidencia de 5.6 % y una eficacia de 94.4%, siendo estadísticamente igual a la dosis alta de dicho fungicida. Las plantas tratadas con la dosis alta de Fosetil-Al 80% ($3.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) mostraron una incidencia de la enfermedad a los 17 y 34 ddi de 11.1 y 16.7% respectivamente con respecto al tratamiento testigo, y por tanto, dichos tratamientos mostraron eficacias de control de 88.9 y 83.3%. El comportamiento (17 ddi) de la dosis alta de Fosetil-Al 80% fue estadísticamente igual a los demás tratamiento, pero diferente a la dosis baja de dicho fungicida, y a los 34 ddi fue estadísticamente diferente a todos los tratamientos a excepción de la dosis baja de Metalaxil 46.2%. Por otro lado, a los 17 y 34 ddi la incidencia mayor de la enfermedad y la eficacia de control menor, se apreciaron en las plantas de jitomate tratadas con la dosis baja de Fosetil-Al 80% ($2.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) con una incidencia de 55.6% con respecto al tratamiento testigo (100%), y por tanto, una eficacia de control de 44.4 %, lo cual fue estadísticamente diferente a todos los demás tratamiento.

Cuadro 3. Incidencia de *P. capsici* y eficacia de control de los fungicidas aplicados de manera preventiva en plantas de jitomate.

Tratamientos	17 ddi		34 ddi	
	Incidencia	Eficacia	Incidencia	Eficacia
Metalaxil 46.2 %	0.0 c ^z	100.0 a	5.6 cd	94.4 ab
Metalaxil 46.2 %	0.0 c	100.0 a	0.0 d	100.0 a
Fosetil- aluminio 80 %	44.4 b	55.6 b	55.6 b	44.4 c
Fosetil-aluminio 80 %	11.1 c	88.9 a	16.7 c	83.3 b
Metalaxil 25.3 %	0.0 c	100.0 a	0.0 d	100.0 a
Metalaxil 25.3 %	0.0 c	100.0 a	0.0 d	100.0 a
Testigo (<i>P. capsici</i>)	100.0 a	-----	100.0 a	-----
Testigo absoluto	0.0 c	-----	0.0 d	-----
CV	21.6	6.2	25.2	8.4
DMS	14.2	14.2	18.7	18.7

^z valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Los resultados observados en la aplicación preventiva de Metalaxil 46.2% y Metalaxil 25.3% sugieren que este fungicida es altamente sistémico, versátil, y fungitóxico, lo que le permite proteger a la planta del ataque de *P. capsici*, lo cual coincide con lo mencionado por Mendoza (1992). Así mismo, Fernández-Herrera *et al.* (2005), reportó que una aplicación única de Metalaxil 46.3% a dosis de $2.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$ controló en un 83.3% a la marchitez del jitomate ocasionada por *P. capsici* en condiciones de invernadero. Sin embargo, es importante señalar que la utilización continua de Metalaxil puede provocar una rápida resistencia en aislamientos de *P. capsici*. Por ejemplo, Bruin y Edgington (1980), al evaluar "*In Vitro*" aislamientos de *P. capsici* a dosis subletales de Ridomil encontraron que los aislamientos desarrollaron una rápida resistencia al fungicida. También esto coincide con Pérez-Moreno *et al.* (1990), quienes evaluaron al Metalaxil 5G y Fosetil-Al 80% para controlar la marchitez del chile en campo, observando que los rendimientos menores de fruto fresco se obtuvieron con Metalaxil 5G, mientras que los mayores rendimientos de frutos fueron para las plantas tratadas con Fosetil-Al 80%, atribuyendo la poca eficacia del metalaxil en el control de la marchitez (*P. capsici*) a la inducción de resistencia hacia el fungicida por parte del hongo.

3.3. Incidencia de la marchitez del jitomate y comparación de eficacias de fungicidas aplicados preventiva y curativamente

Los porcentajes de incidencia de la marchitez del jitomate mayores y diferentes estadísticamente se observaron en las plantas de jitomate tratadas con los fungicidas aplicados de manera curativa (6 horas después de la inoculación) con respecto a la preventiva, a excepción del Fosetil-Al 80% que no mostró diferencias significativas entre la aplicación curativa y preventiva en ambas fechas de evaluación (Cuadro 4). La incidencia de la marchitez del jitomate en la dosis baja y alta de Metalaxil 46.2% aplicado de manera preventiva, se redujo en un 94.4 y 100% respectivamente, con respecto a las plantas sin tratar. Dichos porcentajes fueron mayores y diferentes estadísticamente con respecto a dicho fungicida aplicado de manera curativa, que mostró una reducción de la enfermedad de 61.1 y 83.3% a los 34 ddi (Cuadro 5). La aplicación preventiva

de la dosis alta y baja de Metalaxil 25.3% redujo la incidencia de la marchitez del jitomate en 100% a los 34 ddi. Dicho porcentaje fue mayor y diferente estadísticamente con respecto a los valores obtenidos con la aplicación curativa de la dosis baja y alta de dicho fungicida, que mostró una eficacia de control de la enfermedad de 55.6 y 72.2% respectivamente. La aplicación preventiva de la dosis baja y alta de Fosetil-AI 80%, redujo a los 34 ddi la incidencia de la marchitez del jitomate en 44.4 y 83.3% respectivamente, lo cual no mostró diferencias estadísticas con respecto a los valores obtenidos con dicho fungicida aplicado de manera curativa, el cual permitió una reducción similar de la enfermedad de 44.4 y 83.3% respectivamente. Lo anterior sugiere que las aplicaciones preventivas (Figura 2A; 2B), son más eficaces para el control de *Phytophthora capsici* en plantas de jitomate var. Río Grande, que las aplicaciones curativas (Figura 1A; 1B), por lo que se recomienda la aplicación de los fungicidas Metalaxil 46.2% y Metalaxil 25.3% antes de la aparición de los primeros síntomas de la enfermedad, de tal manera que se obtengan los mayores porcentajes de eficacia en el control de *P. capsici*. Así mismo, la aplicación de Fosetil-AI 80% puede ser en tratamientos en charolas (vivero) o antes de que se presente los síntomas, ya que en este estudio no se observaron diferencias significativas entre la aplicación preventiva y curativa del fungicida.

Cuadro 4. Incidencia de la marchitez del jitomate (*P. capsici*) en aplicaciones preventivas y curativas de fungicidas.

Tratamiento	Incidencia (17 ddi)		Incidencia (34 ddi)	
	Curativa	Preventiva	Curativa	Preventiva
Metalaxil 46.2 %	27.8 a ^z	0.0 b	38.9 a	5.6 b
Metalaxil 46.2 %	11.1 a	0.0 b	16.7 a	0.0 b
Fosetil-AI 80%	44.40 a	44.40 a	55.6 a	55.6 a
Fosetil-AI 80%	16.7 a	11.1 a	16.7 a	16.7 a
Metalaxil 25.3 %	44.4 a	0.0 b	44.4 a	0.0 b
Metalaxil 25.3 %	11.1 a	0.0 b	27.8 a	0.0 b

^z valores con la misma letra dentro de la misma fila son iguales estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

Cuadro 5. Eficacia de fungicidas aplicados de manera preventiva y curativa para el control de la marchitez del jitomate (*P. capsici*).

Tratamiento	Eficacia (17 ddi)		Eficacia (34 ddi)	
	Curativa	Preventiva	Curativa	Preventiva
Metalaxil 46.2 %	72.2 a ^z	100 b	61.1 a	94.4 b
Metalaxil 46.2 %	88.9 a	100 b	83.3 a	100 b
Fosetil-AI 80%	55.6 a	55.6 a	44.4 a	44.4 a
Fosetil-AI 80%	83.3 a	88.9 a	83.3 a	83.3 a
Metalaxil 25.3 %	55.6 a	100 b	55.6 a	100 b
Metalaxil 25.3 %	88.9 a	100 a	72.2 a	100 b

^z valores con la misma letra dentro de la misma fila son iguales estadísticamente de acuerdo a la prueba de Tukey ($P \leq 0.05$).

4. CONCLUSIONES

La dosis alta de Metalaxil 46.2% ($2.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$) y Fosetil-AI 80% ($3.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) aplicada de manera curativa, mostraron la incidencia menor (16.7 y 16.7% respectivamente) de la marchitez del jitomate a los 34 días después de la inoculación con respecto al testigo (100%), obteniendo una eficacia de 83.3% en el control de la enfermedad.

La aplicación preventiva de la dosis alta de Metalaxil 46.2% ($2.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$) y Metalaxil 25.3% ($4 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$) no permitieron el desarrollo de la enfermedad (0% de daño) durante los 34 días después de la inoculación y por tanto, mostraron eficacias de 100% en el control de la marchitez del jitomate. Así mismo, la dosis baja de dichos fungicidas mostraron incidencias de 5.6 y 0% respectivamente, lo cual se tradujo en eficacias de 94.4 y 100% respectivamente.

La aplicación preventiva de la dosis alta de Fosetil-AI 80% ($3.5 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$) mostró una incidencia de la enfermedad a los 34 ddi 16.7% con respecto al tratamiento testigo, y por tanto, dicho tratamiento tuvo una eficacia de control de 83.3%.

El control más eficaz de la marchitez del jitomate se logro cuando los fungicidas se aplicaron de manera preventiva, con respecto a la curativa. Por lo que se recomienda la aplicación de estos fungicidas antes de la aparición de los síntomas de la enfermedad o su aplicación en plántulas en charolas.

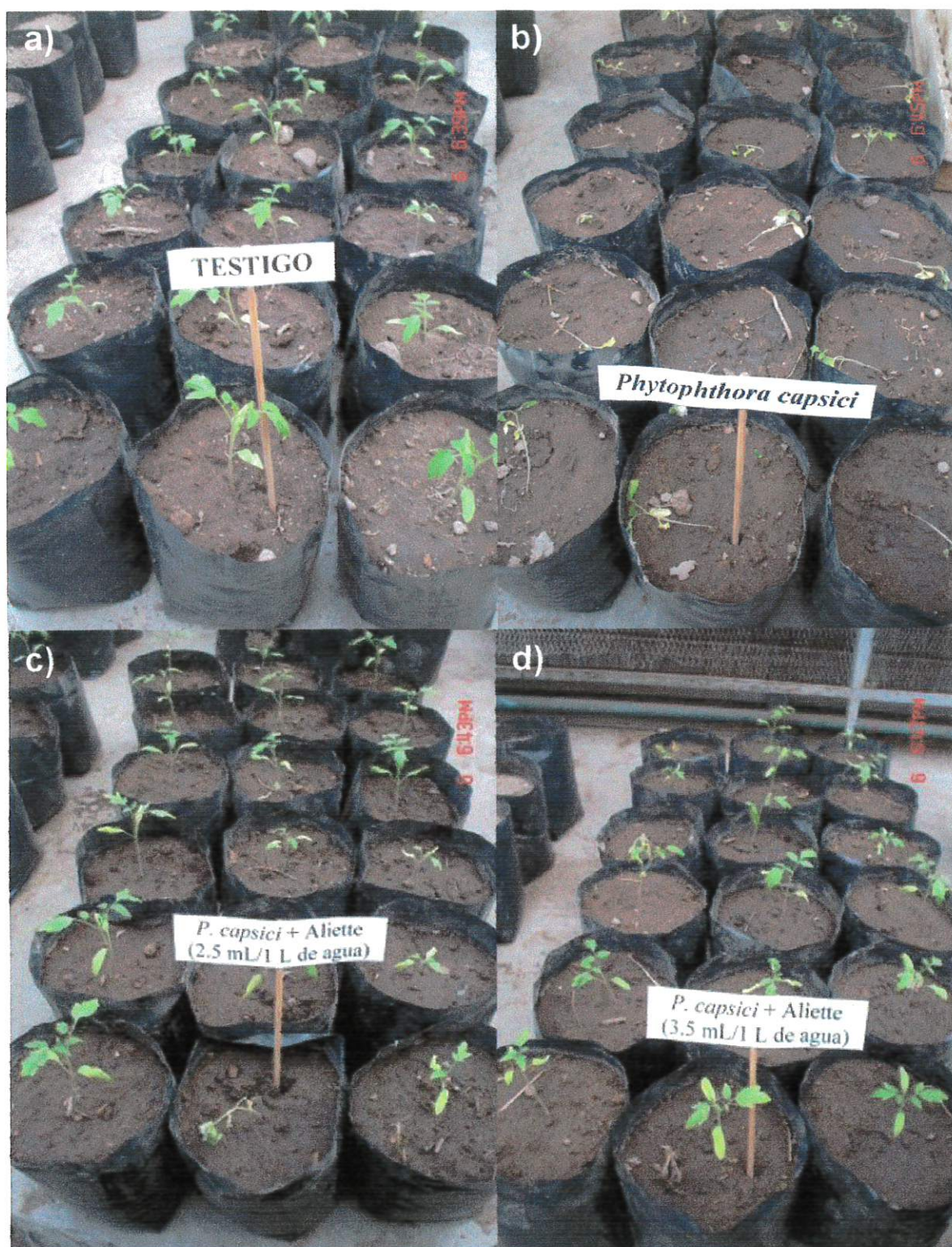


Fig. 1A. Manejo químico curativo de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici*) en la var. Río Grande: a) Testigo (sin hongo; ni fungicida); b) Testigo (5×10^4 zoosporas- mL^{-1} de *P. capsici*); c) 5×10^4 zoosporas- mL^{-1} de *P. capsici* + dosis baja de Fosetil-Al 80% (2.5 g-L^{-1}); d) 5×10^4 zoosporas- mL^{-1} de *P. capsici* + dosis alta de Fosetil-Al 80% (3.5 g-L^{-1}). Fotos tomadas 6 días después de la inoculación.

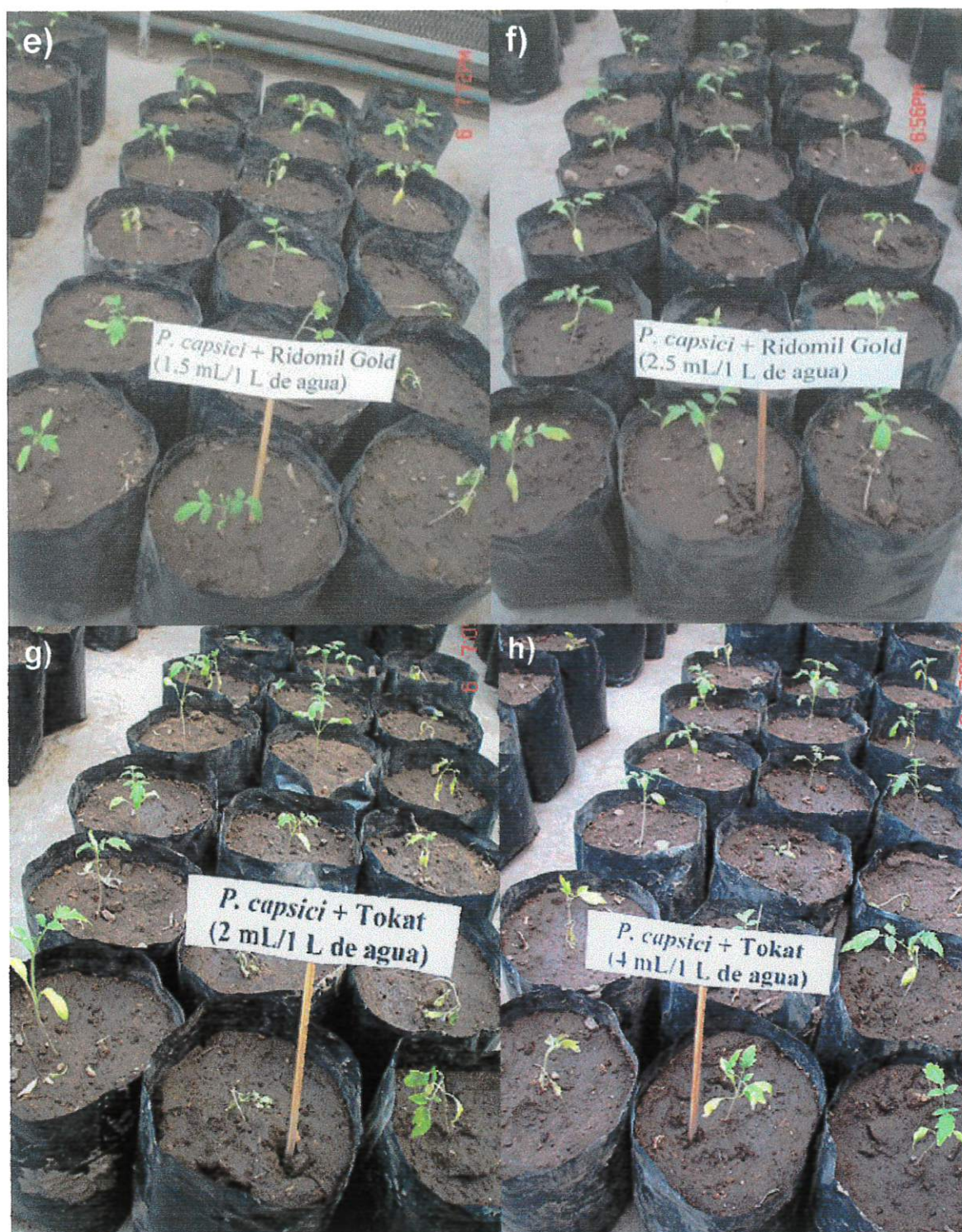


Fig. 1B. Manejo químico curativo de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici*) en la var. Río Grande: e) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis baja de Metalaxil 46.2% ($1.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$); f) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis alta de Metalaxil 46.2% ($2.5 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$); g) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis baja de Metalaxil 25.3% ($2 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$); h) 5×10^4 zoosporas $\cdot \text{mL}^{-1}$ de *P. capsici* + dosis alta de Metalaxil 25.3% ($4 \text{ mL} \cdot \text{L}^{-1}$). Fotos tomadas 6 días después de la inoculación.

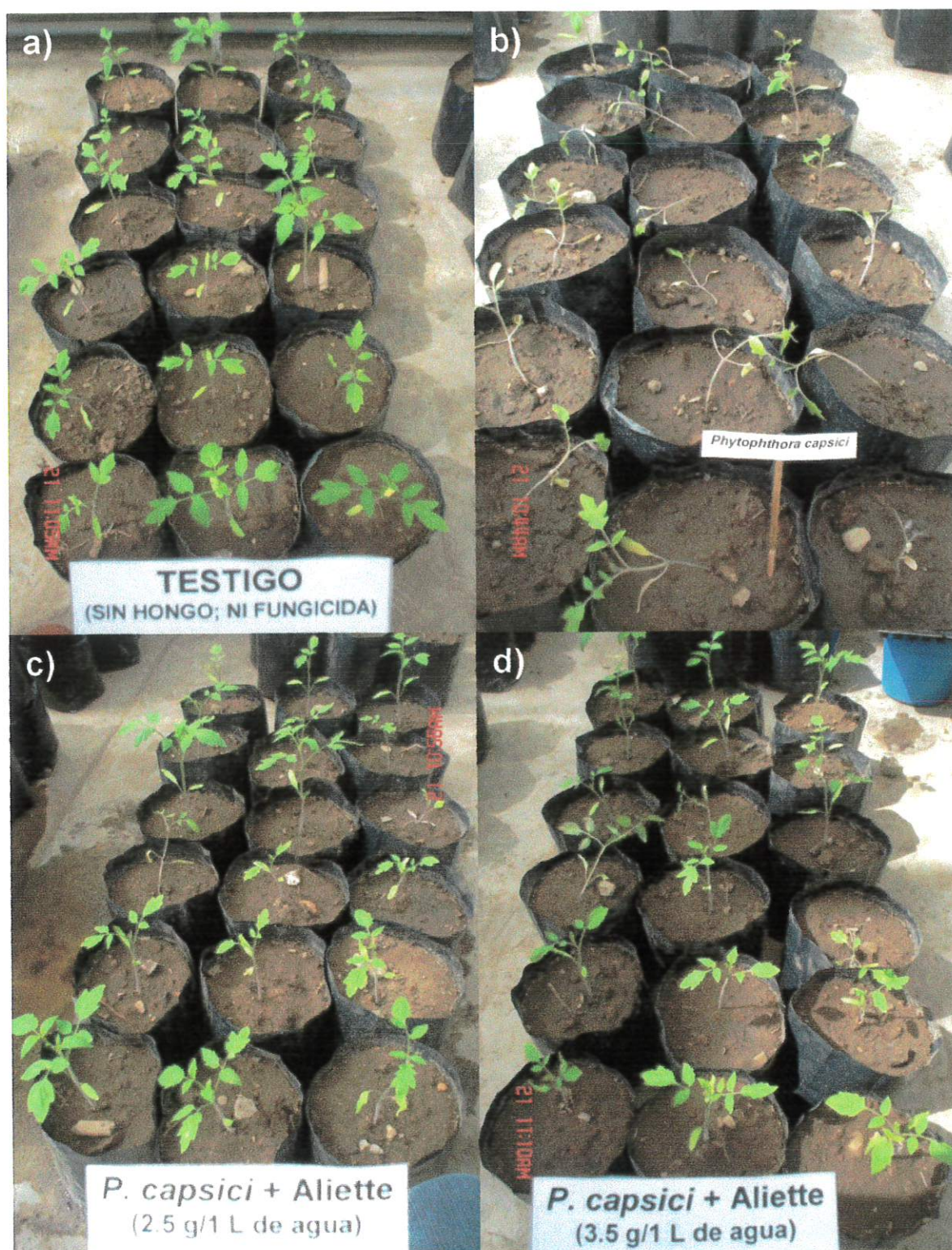


Fig. 2A. Manejo químico preventivo de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici*) en la var. Río Grande: a) Testigo (sin hongo; ni fungicida); b) Testigo (5×10^4 zoosporas·mL⁻¹ de *P. capsici*); c) 5×10^4 zoosporas·mL⁻¹ de *P. capsici* + dosis baja de Fosetil-Al 80% (2.5 g·L⁻¹); d) 5×10^4 zoosporas·mL⁻¹ de *P. capsici* + dosis alta de Fosetil-Al 80% (3.5 g·L⁻¹). Fotos tomadas 5 días después de la inoculación.

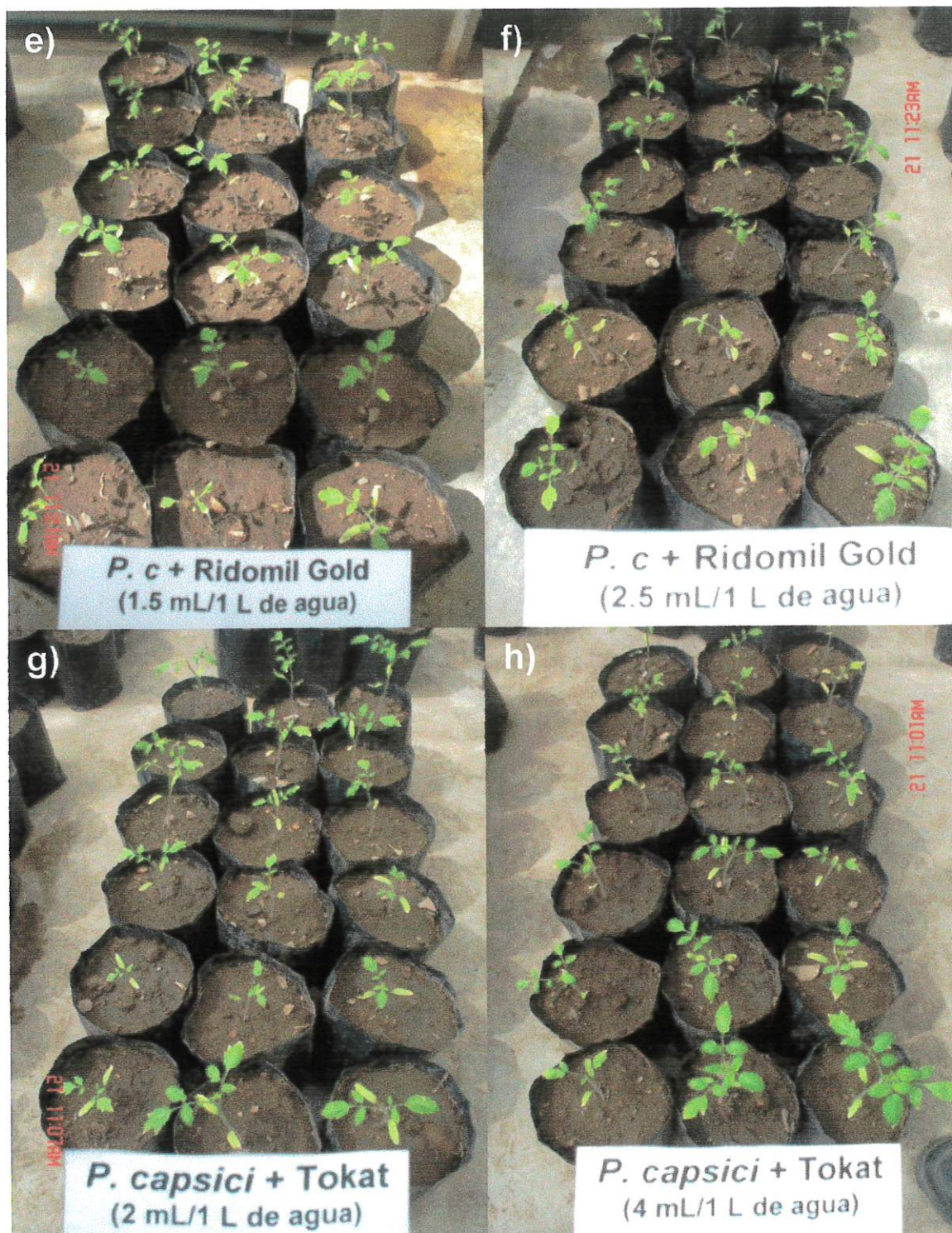


Fig. 2B. Manejo químico preventivo de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici*) en la var. Río Grande: e) 5×10^4 zoosporas $\cdot$ mL $^{-1}$ de *P. capsici* + dosis baja de Metalaxil 46.2% (1.5 mL $\cdot$ L $^{-1}$); f) 5×10^4 zoosporas $\cdot$ mL $^{-1}$ de *P. capsici* + dosis alta de Metalaxil 46.2% (2.5 mL $\cdot$ L $^{-1}$); g) 5×10^4 zoosporas $\cdot$ mL $^{-1}$ de *P. capsici* + dosis baja de Metalaxil 25.3% (2 mL $\cdot$ L $^{-1}$); h) 5×10^4 zoosporas $\cdot$ mL $^{-1}$ de *P. capsici* + dosis alta de Metalaxil 25.3% (4 mL $\cdot$ L $^{-1}$). Fotos tomadas 5 días después de la inoculación.

5. LITERATURA CITADA

- Agrios, G.N. 1986. Fitopatología. Ed. Limusa, México, D.F. pp. 215-223..
- Abbot, W. S. 1925. A method for computing the effectiveness of the insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18:265-267.
- Bruin, G. C., y Edgington, L. V. 1980. Induced resistance to Ridomil of some oomycetes. *Phytopathology* 70(5):459-460.
- Chávez-Alfaro, J. J. 1994. Control integrado de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) ocasionada por el hongo *Phytophthora capsici* L. en la región de Valsequillo, Puebla. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduado, Montecillo, México. pp.15-17; 66-72.
- Fernández-Herrera, E., y Acosta-Ramos, M. 2005. Síntomas y patogenicidad de hongos causantes de la pudrición de raíz y cuello en jitomate. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. pp. L-69.
- Fernández-Herrera, E., Acosta-Ramos, M., y Ponce-González, F. 2005. Manejo químico de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici* Leo.) en condiciones de invernadero. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. pp. L-75.
- García-Barrón, J. I. 1990. Control químico de la marchitez del chile causada por *Phytophthora capsici* Leo., bajo condiciones de invernadero, en Chapingo México. Tesis de Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp.48-52.
- González-Villalobos, G.1997. Evaluación del Metalaxil M48% (Ridomil Gold 4E) para el control de la marchitez del chile (*Phytophthora capsici* Leo.) en dolores Hidalgo, Guanajuato, México. Tesis de Ingeniero Agrónomo Especialista en Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 39-41.

Leonian, L. H. 1922. Stem and fruit blight of pepper caused by *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 12:401-408.

Mendoza Z. C. 1992. Fungicidas sistémicos y su modo de acción. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 35-39.

Mendoza, Z.C. y Pinto, C.B. 1983. Principios de fitopatología y enfermedades causadas por hongos. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 131-132.

Pérez-Moreno, L., Durán-Ortiz, L. J., Ramírez-Malagón, R., y Sánchez-Pale, J.R. 2002. Compatibilidad fisiológica y sensibilidad a fungicidas de aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. *Revista Mexicana de Fitopatología* 21(1):19-25.

Pérez-Moreno, L., Salinas, G. J., y Octavio-Medina L. 1990. Control genético y químico de la marchitez del chile (*Capsicum annuum* L.) causada por el hongo *Phytophthora capsici* Leo., en la región de Irapuato, Guanajuato., México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 8(1):71-76.

Ramírez, V.J., y Romero, C.S. 1980. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leo., agente causal de la marchitez del chile. *Agrociencia* 39:9-18.

Redondo-Juárez, E. 1986. Mecanismos de infección y patología de las plantas de chile susceptibles y resistentes al hongo *Phytophthora capsici* Leo. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México, México. pp.12-18.

Romero, C.S. 1988. Hongos fitopatógenos. Patronato Universitario. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 67-68.

CAPITULO 4

MANEJO BIOLÓGICO DE *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* EN PLANTAS DE JITOMATE

RESUMEN

Se evaluó la influencia de cuatro productos biológicos comerciales en la eficacia de manejo de los hongos *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum*, y en el crecimiento de plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad. Ninguno de los productos evaluados protegió a las plantas de jitomate de la infección ocasionada por los hongos *P. capsici*, *F. oxysporum* y la inoculación conjunta de los tres hongos. El producto T-22® (*Trichoderma harzianum*) protegió en un 100% a las plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad de la infección ocasionada por *Rhizoctonia solani*, y Bioraíz®, Endo-Rhiza® y Healthy Start® 3-4-3 la redujeron en un 73.3%. La aplicación de Bioraíz®, Bioraíz® + Endo-Rhiza® y Endo-Rhiza® + Healthy Start® 3-4-3, incrementaron la altura en 162.7, 149.4 y 47% respectivamente, mientras que la biomasa seca total la aumentaron en 319, 313 y 57% respectivamente, con respecto al tratamiento testigo.

BIOLOGICAL MANAGEMENT OF *Phytophthora capsici*, *Fusarium oxysporum* AND *Rhizoctonia solani* IN TOMATO PLANTS

ABSTRACT

The influence of four commercial biological products in the effectiveness of management of the fungus *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* and *Fusarium oxysporum* was evaluated, and in the growth the plants tomato var. Rio Grande 35 days of age. No of evaluated products protected the tomato plants of the infection caused by the fungi *P. capsici*, *F. oxysporum* and the joint inoculation of the three fungus. The product T-22® (*Trichoderma harzianum*) protected in a 100% to the tomato plants var. Rio Grande of 35 days of age of the infection caused by *Rhizoctonia solani*, and Bioraiz®, Endo-Rhiza® and Healthy Start® 3-4-3 reduced 73.3%. The application of Bioraiz®, Bioraiz® + Endo-Rhiza® and Endo-Rhiza® + Healthy Start® 3-4-3, increased the height in 162.7, 149,4 and 47% respectively, and the total dry biomass increased 319, 313 and 57% respectively, with respect to the treatment witness.

1. INTRODUCCIÓN

Los hongos *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* causan pudriciones de raíz y cuello en plantas de jitomate, ocasionando pérdidas severas en la calidad y cantidad de la producción del cultivo (Mendoza, 1996). Tradicionalmente la protección del cultivo de jitomate contra el ataque de hongos patógenos se ha realizado principalmente mediante el control químico (Lagunas-Lagunas *et al.*, 2001). Sin embargo, aunque el uso de los agroquímicos ha permitido obtener incrementos substanciales en la producción, su uso indiscriminado ha ocasionado problemas de contaminación ambiental, que han impactado negativamente en la biodiversidad de los agroecosistemas, causando la inestabilidad de los mismos, la cual se manifiesta, entre otros efectos nocivos, en una incidencia mayor de enfermedades en los cultivos. Esto y los problemas de seguridad pública inherentes a la fabricación y uso de agroquímicos han conducido a la búsqueda y establecimiento de alternativas de manejo de las enfermedades (Zavaleta-Mejía, 2000; Román-García *et al.*, 2001). El control biológico es una alternativa de manejo de enfermedades en la Fitopatología, que se ha enfocado principalmente al manejo biológico de fitopatógenos habitantes de la rizósfera del suelo (Zavaleta-Mejía, 1994).

Entre los microorganismos más importantes usados como agentes de control biológico se encuentran las rizobacterias promotoras del crecimiento vegetal (PGPRs), los hongos micorrízicos arbusculares (HMA) y algunas especies del género *Trichoderma* (Budí *et al.*, 1999; Bloemberg y Lugtenberg, 2001; Kücük y Kivanc, 2003). Los principales mecanismos responsables del control biológico de hongos y bacterias patógenas son; 1) la competencia por los nutrientes y/o espacio en la rizósfera de las plantas; 2) la inducción de resistencia sistémica inducida (RSI); y 3) la producción de metabolitos antifúngicos (Zak, 1964; Mahaffee y Kloepper, 1994; Reddy *et al.*, 1994). Actualmente en algunos países ya se tienen registrados comercialmente varias especies de microorganismos para el manejo de patógenos del suelo (Lewis y Papavizas, 1991; Fernández-Larrea, 2001). En México son escasas las investigaciones que se han realizado para el manejo biológico de fitopatógenos habitantes del suelo mediante el uso de microorganismos antagonistas. La mayoría se han realizado en laboratorio

(Farías-Rodríguez *et al.*, 1997a; Lagunas-Lagunas *et al.*, 2001; Virgen y López, 1992; Aceves-Alejandro, 2002; Dávila-González y Navarrete-Maya, 2005; Elías-Ogaz *et al.*, 2005; Villanueva-Silva *et al.*, 2005) o invernadero (Zavaleta-Mejía y Rojas, 1989; Aranda y Fucikovsky, 1996; Farías-Rodríguez *et al.*, 1997b; Tovar y Gaona, 1993) y muy pocos en campo (Sandoval-Luna *et al.*, 2005 y Ramos-Barraza *et al.*, 2005).

Por lo antes mencionado es evidente la necesidad de realizar investigaciones que permitan manejar algunos fitopatógenos habitantes del suelo, mediante el uso de microorganismos antagonistas, con la finalidad de obtener alternativas eficientes que permitan minimizar los daños ocasionados por *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* en el cultivo de jitomate. En base a lo anterior, se realizó la presente investigación con los objetivos siguientes:

1. Evaluar la influencia de los productos biológicos: Bioraíz® (*Bacillus subtilis*), Endo-Rhiza® (hongos micorrízicos arbusculares), T-22® (*Trichoderma harzianum*), y Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas) en el crecimiento de plantas de jitomate en condiciones de invernadero.
2. Determinar la eficacia biológica de los productos comerciales Bioraíz® (*Bacillus subtilis*), Endo-Rhiza® (hongos micorrízicos arbusculares), T-22® (*Trichoderma harzianum*), Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas) para el manejo de la pudrición de raíz y cuello en jitomate (*P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*) en invernadero.

2. MATERIALES Y MÉTODOS

La presente investigación se inicio a partir de un aislamiento monozospórico de *Phytophthora capsici* (Texcoco, Edo. de México), un cultivo monoconidial de *Fusarium oxysporum* (Culiacán, Sinaloa) y un cultivo de punta de hifa de *Rhizoctonia solani* (Culiacán, Sinaloa), a los cuales se les determino su patogenicidad en trabajos anteriores realizados por Fernández-Herrera y Acosta-Ramos. (2005), quienes determinaron que dichos hongos son agentes causales de la pudrición de raíz y cuello del jitomate, así mismo, señalaron que *P. capsici* se considero como el hongo más agresivo.

2.1. Preparación y cuantificación del inóculo

Los aislamientos antes señalados se sembraron en medio de cultivo Jugo-Tomate-Agar (TA) y Papa-Dextrosa-Agar (PDA) para su incremento masivo. Después de 15 días de crecimiento, se procedió a la preparación y cuantificación de los inóculos de cada uno de los aislamientos, tal y como se indica a continuación.

2.1.1. De *Phytophthora capsici* Leo

En cajas Petri con 20 mL⁻¹ de agua destilada esterilizada se colocaron 10 discos de medio de cultivo que contenían micelio de *P. capsici*. El material fue incubado a 25 °C por tres días para la formación de esporangios y la posterior liberación de sus zoosporas. La liberación se logró después de poner las cajas Petri a 12 °C por media hora (Ramírez y Romero, 1980). Posteriormente, se determino la concentración de una solución madre de zoosporas por triplicado con la ayuda de un hemacitómetro, y se ajusto una concentración a 50,000 zoosporas·mL⁻¹. A cada planta de jitomate se le colocó 1 mL⁻¹ de dicha solución de zoosporas (Fernández-Herrera *et al.*, 2005).

2.1.2. De *Rhizoctonia solani* Kühn

Se colocaron 250 cm³ de granos de trigo sano más 150 mL⁻¹ de agua destilada en un matraz de 500 mL⁻¹, y dicha mezcla se dejo reposar por 24 horas. Posteriormente, la mezcla se autoclaveo por 2 horas (en dos periodo de 1 h).

Finalmente, el grano se inoculó con el aislamiento de *R. solani* y en seguida se incubó por 3 semanas a temperatura ambiente 23 ± 2 °C (Sneh *et al.*, 1991).

2.1.3. De *Fusarium oxysporum*

El hongo se sembró en 5 cajas Petri con medio PDA sólido, al cual se le agregaron trocitos de raíz y tallo de plántulas de tomate previamente esterilizados en autoclave por 15 minutos a una temperatura de 121 °C, para prevenir una posible pérdida de patogenicidad del inóculo. Cuando el micelio del hongo cubrió la superficie total de las cajas se le agregaron 20 mL de agua destilada esterilizada; después con un portaobjeto se raspo el micelio para separar los conidios; la suspensión resultante se paso a través de una manta de cielo para retener el micelio y permitir que sólo pasaran los conidios; el filtrado se colectó en un vaso de precipitado debidamente etiquetado. Posteriormente con la ayuda de un hemacitómetro se cuantificó la solución madre y finalmente se preparo una suspensión de *F. oxysporum* a una concentración de 5×10^6 conidios·mL⁻¹ (Rowe, 1980).

2.2. Aplicación de los productos biológicos comerciales

Se evaluaron los productos comerciales Bioraíz®, T-22®, Healthy Start® 3-4-3, Endo-Rhiza®, y la combinación de este último con los tres primeros, para el control de los hongos siguientes: *P. capsici*, *R. solani*, *F. oxysporum* y la mezcla de estos en condiciones de invernadero. Se realizaron dos aplicaciones de los productos biológicos en plantas de jitomate de 35 días de edad de la manera siguiente: 1) al momento de la siembra de las semillas en charolas, y 2) a los 34 días después de la siembra. Sólo el producto Endo-Rhiza® (hongos micorrízicos) se aplicó una sola vez (al momento de la siembra de las semillas) en las charolas germinadoras. Se obtuvieron 32 tratamientos mediante la aplicación individual y combinada de los productos y los hongos fitopatógenos (Cuadro 1).

Cuadro 1. Tratamientos evaluados para el manejo de *P. capsici*, *R. solani*, *F. oxysporum* en plantas de jitomate de 35 días de edad con cuatro productos biológicos comerciales.

Tratamiento	Dosis* y cantidad de inóculo de los hongos
1. Bio+P.c	2 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁴ zoosporas·mL ⁻¹ de P.c
2. Bio+R.s	2 g·L ⁻¹ + 2% de grano con R.s (v:v; grano:suelo)
3. Bio+F.o	2 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁶ conidios·mL ⁻¹ de F.o
4. Bio+Mezcla hongos	2 g·L ⁻¹ + P.c + R. s + F.o
5. 343+P.c	5 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁴ zoosporas·mL ⁻¹ de P.c
6. 343+R.s	5 g·L ⁻¹ + 2% de grano con R.s (v:v; grano:suelo)
7. 343+F.o	5 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁶ conidios·mL ⁻¹ de F.o
8. 343+Mezcla hongos	5 g·L ⁻¹ + P.c + R. s + F.o
9. T22+P.c	3 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁴ zoosporas·mL ⁻¹ de P.c
10. T22+R.s	3 g·L ⁻¹ + 2% de grano con R.s (v:v; grano:suelo)
11. T22+F.o	3 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁶ conidios·mL ⁻¹ de F.o
12. T22+Mezcla	3 g·L ⁻¹ + P.c + R. s + F.o
13. End+P.c	6.3 g + 5 x 10 ⁴ zoosporas·mL ⁻¹ de P.c
14. End+R.s	6.3 g + 2% de grano con R.s (v:v; grano:suelo)
15. End+F.o	6.3 g + 5 x 10 ⁶ conidios·mL ⁻¹ de F.o
16. End+Mezcla	6.3 g + P.c + R. s + F.o
17. End+Bio+P.c	6.3 g + 2 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁴ zoosporas·mL ⁻¹ de P.c
18. End+Bio+R.s	6.3 g + 2 g·L ⁻¹ + 2% de grano con R.s (v:v; grano:suelo)
19. End+Bio+F.o	6.3 g + 2 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁶ conidios·mL ⁻¹ de F.o
20. End+Bio+Mezcla	6.3 g + 2 g·L ⁻¹ + P.c + R. s + F.o
21. End+343+P.c	6.3 g + 5 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁴ zoosporas·mL ⁻¹ de P.c
22. End+343+R.s	6.3 g + 5 g·L ⁻¹ + 2% de grano con R.s (v:v; grano:suelo)
23. End+343+F.o	6.3 g + 5 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁶ conidios·mL ⁻¹ de F.o
24. End+343+Mezcla	6.3 g + 5 g·L ⁻¹ + P.c + R. s + F.o
25. End+T22+P.c	6.3 g + 3 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁴ zoosporas·mL ⁻¹ de P.c
26. End+T22+R.s	6.3 g + 3 g·L ⁻¹ + 2% de grano con R.s (v:v; grano:suelo)
27. End+T22+F.o	6.3 g + 3 g·L ⁻¹ + 5 x 10 ⁶ conidios·mL ⁻¹ de F.o
28. End+T22+Mezcla	6.3 g + 3 g·L ⁻¹ + P.c + R. s + F.o
29. <i>P. capsici</i>	5 x 10 ⁴ zoosporas·mL ⁻¹ por planta
30. <i>R. solani</i>	2% de grano con R.s (v:v; grano:suelo) por planta
31. <i>F. oxysporum</i>	5 x 10 ⁶ conidios·mL ⁻¹ por planta
32. Mezcla de hongos	Inoculación de P. c + R. s. + F. o. al mismo tiempo por planta

* Dosis de producto comercial. Bio = Bioraíz® (*Bacillus subtilis*); Endo = Endo-Rhiza® (hongos micorrízicos arbusculares); T22 = T-22® (*Trichoderma harzianum*); 343 = Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas). P.c. = *Phytophthora capsici*; R.s. = *Rhizoctonia solani*; F.o. = *Fusarium oxysporum*.

2.3. Inoculación de los hongos fitopatógenos

Las inoculaciones (15 plantas por tratamiento) se realizaron al cuello de plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad con 1 mL⁻¹ de una solución de *P. capsici* a una concentración 5 x 10⁴ zoosporas·mL⁻¹, 2% de grano infectado con *R. solani* (v:v; grano:suelo), 1 mL de una solución de *F. oxysporum* a una

concentración de 5×10^6 conidios·mL⁻¹ y la mezcla de los tres hongos a la misma concentración. Las plantas (una planta por maceta) se transplantaron en bolsas de polietileno de color negro de dos kilogramos, las cuales contenían suelo de monte que se esterilizó con bromuro de metilo. Las plantas se mantuvieron en invernadero a una temperatura de 25 ± 5 °C y una humedad relativa de 80 ± 5 %. El riego de las plantas se mantuvo constante (cada 3 días) para todos los tratamientos.

2.4. Variables evaluadas

Las variables evaluadas fueron *Altura* y *Biomasa Seca Total* de las plántulas de jitomate al momento del transplante en las macetas e *Incidencia de la enfermedad*; la cual se consideró como el número de plantas muertas (marchitez) con respecto al número total de plantas por repetición. La altura se evaluó con una regla midiendo al azar 10 plántulas de jitomate por tratamiento y para la biomasa seca total, primero se colocó el follaje fresco en una estufa a 31°C, hasta que su peso se mantuvo constante, para realizar en ese momento el pesaje correspondiente con una balanza analítica.

2.5. Diseño experimental

Se usó un diseño completamente al azar con tres repeticiones por tratamiento, la unidad experimental estuvo constituida por cinco plantas por repetición (una planta por maceta).

2.6. Análisis estadístico

Los resultados de altura, biomasa seca e incidencia de enfermedad se sometieron a un análisis de varianza (ANOVA) y a una comparación de medias de Tukey ($P \leq 0.05$), utilizando el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System) for Windows v8. 12.

3. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

3.1. Influencia de los productos biológicos en el crecimiento de las plántulas de jitomate

El análisis de varianza para las variables altura y biomasa seca total de las plantas inoculadas con productos biológicos, mostró diferencias significativas entre los diferentes tratamientos (Cuadro 2), en donde se observó que la altura mayor de las plantas se logró con los tratamientos Bio, Bio+End y End+343, con incrementos de 162.7, 149.4 y 47% respectivamente con respecto a las plantas control (testigo sin tratar), mientras que para la variable biomasa seca total, los incrementos también fueron significativos, siendo los tratamientos mejores el Bio, Bio+End y End; en donde los incrementos fueron de 319, 313 y 57% respectivamente en comparación con las plantas control. Los incrementos observados en las plantas tratadas con los productos biológicos quizás se puedan atribuir a una absorción mayor de nutrientes minerales por parte de la planta, a través de un crecimiento mayor de las raíces inducido probablemente por los microorganismos benéficos introducidos, ya sea mediante la producción de algunas fitohormonas en el caso de las bacterias ó una exploración mayor del sustrato mediante las hifas de los hongos arbusculares. Algunos de los aspectos antes señalados, coinciden con lo indicado por Bashan *et al.* (1996a), quienes mencionaron que la incorporación de bacterias benéficas al sistema de raíces de las plantas puede modificar diversos parámetros del follaje y raíz. Dichos cambios son directamente atribuidos a efectos positivos en la absorción de minerales por parte de la planta, dentro de los cuales se han propuesto que la absorción de NO_3^- , NH_4^+ , PO_4^{2-} , K^+ , Rb^+ y Fe^{+2} es el factor responsable en incrementar la materia seca total. Así mismo, los resultados arriba discutidos concuerdan con los obtenidos por Díaz-Vargas *et al.* (2001), quienes observaron un incremento altamente significativo de 371% en el peso seco total de plantas de lechuga (*Lactuca sativa* L. var. Longifolia) inoculadas con bacterias promotoras del crecimiento, en comparación a las plantas testigo. Por otra parte Carreón *et al.* (2000), evaluaron la aplicación de hongos micorrízicos en plantas de zarzamora y encontraron un aumento en la altura de las plantas del 100% con respecto a las plantas sin inocular.

Cuadro 2. Influencia de la aplicación de cuatro productos biológicos comerciales en el crecimiento y biomasa de plantas de jitomate de 35 días de edad (sin inocular) en invernadero.

Tratamiento	Variable	
	Altura	Biomasa seca total
1. Bio	21.8 a ^z	0.345 a
2. 343	12.2 c	0.124 b
3. T22	9.8 e	0.104 bc
4. End	11.8 cd	0.129 b
5. End+Bio	20.7 b	0.340 a
6. End+ 343	10.9 d	0.115 b
7. End+T22	11.6 cd	0.111 b
8. Testigo	8.3 f	0.082 c

^z valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo a Tukey ($P \leq 0.05$).

3.2. Manejo biológico de *P. capsici* en plantas de jitomate

El uso de los productos biológicos comerciales Bioraíz®, Endo-Rhiza®, T-22® y Healthy Start® 3-4-3, no proporcionaron protección alguna contra la infección de *P. capsici* en plantas de jitomate de la var. Río Grande de 35 días de edad. Todas las plantas inoculadas con este hongo presentaron un obscurecimiento y constricción a nivel del cuello (base del tallo) a partir del cuarto día, ocasionando la caída y muerte de todas las plantas a los 7 días después de la inoculación (ddi). Algunas de las posibles explicaciones sobre el hecho de que ninguno de los productos biológicos utilizados en este bioensayo halla presentado efecto alguno sobre la incidencia de la marchitez ocasionada por *P. capsici* son: 1) que Bioraíz® (*B. subtilis*), Endo-Rhiza® (HMA), y Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas) son productos que principalmente promueven el crecimiento y/o desarrollo de las plantas, ya que no hay reportes que indiquen que dichos productos tengan actividad antagónica contra fitopatógenos habitantes del suelo; 2) que la cepa *T. harzianum* (T-22®) por ser una especie introducida, no halla colonizado eficientemente la rizosfera de las plantas de jitomate y por tanto, no existió parasitismo sobre el hongo fitopatógeno, o bien que la producción de sustancias antagónicas de *T. harzianum* no fueron suficientes para reducir el impacto de *P. capsici* en las plantas; 3) la cantidad evaluada de inóculo (5×10^4 zoosporas·mL⁻¹ por planta) fue demasiada para la inducción de

la enfermedad en las plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad; 4) que el aislamiento de *P. capsici* es muy patogénico, debido a que las dosis bajas de algunos fungicidas utilizados en trabajos previos, así como reportados por otros autores no fueron capaces de parar el daño por dicho hongo. Resultados similares fueron reportados Lagunas-Lagunas, *et al.* (2001), quienes evaluaron tres cepas de *B. subtilis* nativas contra la marchitez del jitomate (*P. capsici*) y observaron que ninguna de las cepas de *Bacillus* redujo la incidencia y severidad de la marchitez ocasionada por dicho hongo, atribuyendo esto, a que la bacteria no presento suficiente producción de sustancias antifúngicas o éstas se produjeron pero fueron degradadas o quedaron adsorbidas en las partículas del suelo. Por otro parte, Ezziyyani *et al.* (2004), reportaron que al inocular plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.) con *T. harzianum*, observaron una disminución de 56 % de la marchitez (*P. capsici*) en condiciones de invernadero y de 22% en campo, en comparación a las plantas no tratadas con *T. harzianum* e inoculadas con *P. capsici*. Algunos autores sugieren que para obtener un control biológico eficaz, se debe seleccionar y utilizar una mezcla de varios antagonistas con un espectro amplio de actividad antagónica, diferentes estrategias de colonización y mecanismos de supresión (Mathre *et al.*, 1999). Así mismo, quizás el control biológico de *P. capsici* se puede realizar utilizando una mezcla de diferentes microorganismos benéficos, a los cuales se les deberá proporcionar las condiciones idóneas para que las poblaciones se incrementen y aumenten su potencial antagónico, a través de la incorporación de materia orgánica y labores culturales (Lagunas-Lagunas *et al.*, 2001).

3.3. Manejo biológico de *R. solani* en plantas de jitomate

La aplicación del producto T-22® (*T. harzianum*) en plantas de jitomate de 35 días de edad var. Río Grande, redujo significativamente la incidencia de la marchitez ocasionada por *R. solani*, la cual fue diferente estadísticamente a los demás tratamientos (Cuadro 3), ya que mostró un 100% de protección de las plantas contra la infección de dicho hongo (Figura 1A) con respecto al testigo(Figura 1G). La protección lograda con el producto a base de *T. harzianum* se puede deber a la cualidad que tiene esta especie para producir

enzimas como celulasas, β -1,3- glucanasa y quitinasas, las cuales degradan la pared celular de los fitopatógenos (Kücük y Kivanc, 2003), así como al parasitismo directo que ejerce *Trichoderma harzianum* sobre los hongos fitopatógenos (Kücük y Kivanc, 2004; Ozbay *et al.*, 2004). Resultados similares fueron obtenidos por Aziz *et al.* (1997), quienes al evaluar el hongo *Trichoderma lignorum* para el manejo del ahogamiento (*R. solani*) en semillas de frijol, observaron que las semillas no tratadas con *T. lignorum* sembradas en suelo infestado con el hongo, mostraron una incidencia de ahogamiento de 91%, mientras que en las semillas revestidas con *T. lignorum* (8×10^6 conidia/semilla) desarrollaron una incidencia de la enfermedad de 6%. Así mismo, la utilización de *T. harzianum* en plantas de lechuga contra el hongo *Sclerotinia minor*, disminuyó la incidencia de la enfermedad en un 50% en comparación con las plantas del tratamiento testigo, lo cual fue estadísticamente igual al tratamiento químico con carbendazim, que mostró una reducción de la enfermedad de un 57% en relación al tratamiento testigo (Jones y Stewart, 1997).

Cuadro 3. Control de *R. solani* con cuatro productos biológicos comerciales en plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad en condiciones de invernadero.

Tratamiento	Incidencia de enfermedad	Reducción de la enfermedad
1. Bio	26.7 bc ^z	73.3 b
2. 343	26.7 bc	73.3 b
3. T22	0.0 c	100.0 a
4. End	26.7 bc	73.3 b
5. End + Bio	33.3 b	66.7 bc
6. End + 343	33.3 b	66.7 bc
7. End + T22	26.7 bc	73.3 b
8. <i>R. solani</i>	100.0 a	0.0 c
9. Testigo (sin <i>R. solani</i>)	0.0 c	100.0 a

^z valores con la misma letra dentro de la misma columna son iguales estadísticamente de acuerdo a Tukey ($P \leq 0.05$).

La aplicación individual de los productos biológicos comerciales Bioraíz®, Endo-Rhiza® (Figura 1B) y Healthy Start® 3-4-3 (Figura 1C) redujeron en un 73.3% la incidencia de la marchitez ocasionada por *R. solani*, lo cual fue estadísticamente igual a la aplicación de Endo-Rhiza® con cada uno de ellos (tratamientos

End+T22, End+343 y End+Bio (Figura 1D)), los cuales mostraron reducciones en la incidencia de 73.3, 66.7 y 66.7% respectivamente, con respecto al tratamiento testigo inoculado. La disminución de la enfermedad observada con los productos a base de bacterias benéficas y hongos formadores de micorriza arbuscular se puede deber a que estos microorganismos estimularon eficientemente el crecimiento y sanidad de las plantas de jitomate, a través de la producción de sustancias promotoras del crecimiento y un mejoramiento en la nutrición de las plantas, obteniendo así plantas de vigor mayor que resistieron mejor la infección del hongo. El efecto benéfico proporcionado por estos microorganismos al crecimiento y desarrollo de las plantas ha sido ampliamente documentado por Azcón (2000); Bloemberg y Lugtenberg (2001); Hernández-Díaz y Chailloux-Laffita (2001); Escalona *et al.* (2002); Bashan *et al.* (1996b), quienes además mencionaron que *B. subtilis* y los HMA incrementan la disponibilidad de nutrientes para la planta, así como la producción de compuestos como vitaminas, reguladores del crecimiento y antibióticos que contribuyen en la sanidad y en la obtención de rendimientos altos en los cultivos agrícolas.

El hecho de que los tratamientos End+T22, End+343 y End+Bio, mostraran una eficacia menor en el control de *R. solani* con respecto a la aplicación individual de cada uno de ellos, se puede deber a un posible antagonismo entre ambos simbiontes, debido a una competencia por el espacio en la rizosfera o bien por las fuentes de carbono entre los microorganismos (Gryndler y Vosátka, 1996).

3.4. Manejo biológico de *F. oxysporum* en plantas de jitomate

Los productos biológicos comerciales Bioraíz®, Endo-Rhiza®, T-22® y Healthy Start® 3-4-3, no proporcionaron una protección adecuada contra la inoculación de *F. oxysporum* en plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad. Todas las plantas de jitomate inoculadas con este hongo presentaron a los 20 ddi amarillamiento de la hojas inferiores de un sólo lado de la planta, marchitez generalizada, xilema con coloración café oscuro, raíces con zonas necrosadas y finalmente colapso y muerte de la planta a los 35 ddi. Las posibles explicaciones sobre la nula eficacia de estos productos en el control de *F. oxysporum* se

pueden deber a: 1) la cantidad alta de inóculo utilizado (5×10^6 conidios·mL⁻¹ por planta), lo cual pudo haber sido demasiado para la inducción de la enfermedad en las plantas de jitomate; 2) que las bacterias y hongos benéficos de los productos Bioraíz®, Endo-Rhiza®, T-22® y Healthy Start® 3-4-3 no tenga cualidades antagónicas hacia fitopatógenos del suelo como *Fusarium oxysporum* y que sólo promuevan el crecimiento y desarrollo de las plantas (Kloepper y Schroth, 1978); 3) que *T. harzianum* (T-22®) no halla producido las enzimas antagónicas suficientes como para inhibir el crecimiento de *F. oxysporum*; y 4) por la existencia de una mejor adaptación de *F. oxysporum* a las condiciones ambientales de la rizosfera de las plantas, lo que permitió el desplazamiento de los microorganismos benéficos. Al respecto Bashan *et al.* (1996b), mencionaron que una de las características más importantes que deben tener los microorganismos que se pretenden utilizar con fines prácticos en la agricultura, es que alcancen una biomasa significativa en la raíz, es decir, que sean colonizadores efectivos. Por tanto, al evaluar la capacidad de colonización de las raíces por las bacterias, es necesario distinguir entre la capacidad para adaptarse a la rizosfera y la habilidad para continuar desarrollándose a la par con las raíces en proceso de desarrollo, ya que solamente aquellos microorganismos que sean capaces de incrementar su biomasa en esta zona podrán ser considerados como colonizadores efectivos de raíces. No obstante a estos resultados, algunos autores han evaluado la aplicación "*In Vivo*" de microorganismos benéficos (bacterias y hongos micorrízicos) para el control de *Fusarium oxysporum* en cultivos como papaya (Hernández-Montiel y Escalona, 2003), garbanzo (Ramos-Barraza *et al.*, 2005), maíz (Mao, *et al.*, 1998) y jitomate (Sivan *et al.*, 1987; Khalil-Gardezi *et al.*, 1998; Khalil-Gardezi *et al.*, 1999), reduciendo así la incidencia de la enfermedad hasta en un 50 % con respecto al testigo (sin organismos benéficos).

3.5. Manejo biológico de la inoculación en mezcla de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* en plantas de jitomate

Ninguno de los tratamientos evaluados proporciono protección a las plantas de jitomate contra la infección por estos tres hongos inoculados al mismo tiempo

(Figura 1E, 1F). Todas las plantas inoculadas con la mezcla de hongos murieron a los 6 días después de la inoculación, presentando como primer síntoma ennegrecimiento y constricción de la base de los tallos, y posteriormente caída y muerte de las plantas. De las plantas muertas se realizó el reaislamiento de los hongos y se obtuvo una frecuencia de reaislamiento de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* de 80, 10 y 10% respectivamente. Los síntomas indicados y la frecuencia alta de reaislamiento de *P. capsici*, indican que probablemente el hongo que más influyó en la decadencia y muerte de las plantas fue este mismo, ya que los síntomas iniciales mostrados por la inoculación conjunta de estos hongos, fueron muy semejantes a los mostrados por la inoculación individual de *P. capsici*. Las posibles explicaciones sobre la nula eficacia de estos productos biológico en el manejo de los hongos se pueden deber a: 1) que la inoculación conjunta de *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum* fue muy agresiva para las plantas, ya que presento el periodo de incubación más corto (2 días) con respecto a la inoculación individual de cada uno de ellos; 2) la existencia de una mejor adaptación de dichos hongos a las condiciones ambientales de la rizosfera de las plantas de jitomate, lo que permitió el desplazamiento de los microorganismos benéficos.

4. CONCLUSIONES

La aplicación de Bioraíz® (*Bacillus subtilis*), Bioraíz® + Endo-Rhiza® (hongos micorrízicos arbusculares) y Endo-Rhiza® + Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas), al momento de la siembra de las semillas en charolas y al transplante de las plántulas de jitomate, favoreció el crecimiento de las plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad. La altura la incrementaron en 162.7, 149.4 y 47% respectivamente, mientras que la biomasa seca total en 319, 313 y 57% respectivamente, con respecto al tratamiento testigo.

Los productos biológicos Bioraíz® (2 g·L⁻¹), Endo-Rhiza® (6.3 g·L⁻¹), Healthy Start® 3-4-3 (5 g·L⁻¹), y T-22® (3 g·L⁻¹), no protegieron a las plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad de la infección ocasionada por los hongos *P. capsici*, *F. oxysporum* y la inoculación conjunta de los tres.

El producto biológico T-22® (*Trichoderma harzianum*) protegió en un 100% a las plantas de jitomate var. Río Grande de 35 días de edad de la infección ocasionada por *Rhizoctonia solani*, mientras que el Bioraíz®, Endo-Rhiza® y Healthy Start® 3-4-3 la redujeron la marchitez en un 73.3%.

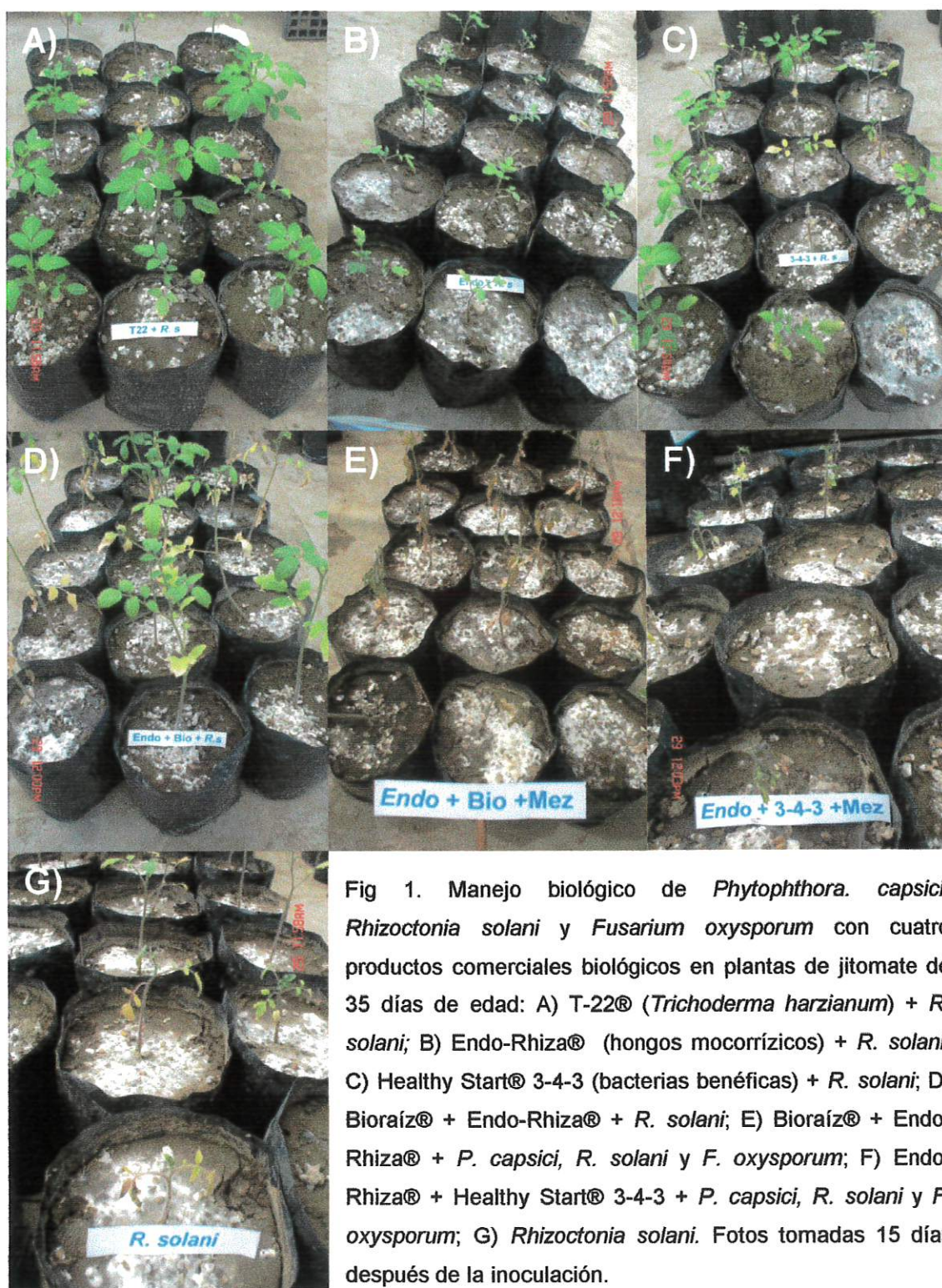


Fig 1. Manejo biológico de *Phytophthora. capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Fusarium oxysporum* con cuatro productos comerciales biológicos en plantas de jitomate de 35 días de edad: A) T-22® (*Trichoderma harzianum*) + *R. solani*; B) Endo-Rhiza® (hongos micorrízicos) + *R. solani*; C) Healthy Start® 3-4-3 (bacterias benéficas) + *R. solani*; D) Bioraíz® + Endo-Rhiza® + *R. solani*; E) Bioraíz® + Endo-Rhiza® + *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*; F) Endo-Rhiza® + Healthy Start® 3-4-3 + *P. capsici*, *R. solani* y *F. oxysporum*; G) *Rhizoctonia solani*. Fotos tomadas 15 días después de la inoculación.

5. LITERATURA CITADA

- Aceves-Alejandro, M. 2002. Antibiosis y micoparasitismo de *Trichoderma* spp. sobre *Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*. En Memorias del XXVIII Simposio Nacional de Parasitología Agrícola. Del 25 al 27 de septiembre. Acapulco, Guerrero, México. pp. 207-211.
- Aranda, S., y Fucikovsky, L. 1996. Evaluación del efecto de *Bacillus subtilis* en la producción del cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) bajo condiciones de invernadero. Revista Mexicana de Fitopatología 14:166.
- Azcón, R. 2000. Papel de la simbiosis micorrízica y su interacción con otros microorganismos rizosféricos en el crecimiento vegetal y sostenibilidad agrícola. In: Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular. Alarcón A. y R. Ferrera-Cerrato (eds.). Colegio de Postgraduados. Ediciones Mundi-Prensa Montecillo, Edo. de México, México. pp 1-15; 251 p.
- Azíz, N. H., El-Fouly, M. Z., El-Essawy, A. A., y Khalaf, M. A. 1997. Influence of bean seedling root exudates on the rhizosphere colonization by *Trichoderma lignorum* for the control of *Rhizoctonia solani*. Botanical Bulletin Academia Sinica 38:33-39.
- Bashan, Y., Holguin, G., y Ferrera-Cerrato R. 1996a. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. I. *Azospirillum*. Terra 14(2):159-194.
- Bashan, Y., Holguin G., y Ferrera-Cerrato R. 1996b. Interacciones entre plantas y microorganismos benéficos. II. Bacterias asociativas de la rizosfera. Terra 14(2):195-210.
- Bloemberg, V.G., y Lugtenberg, J.J. B. 2001. Molecular basis of plant growth promotion and biocontrol by rhizobacteria. Biotic interactions 4:343-350.
- Budi, S.W., Tuinen, D., Martinotti, G., y Gianinazzi, S. 1999. Isolation from the *Sorghum bicolor* mycorrhizosphere of a bacteria compatible with arbuscular

mycorrhiza development and antagonistic towards soilborne fungal pathogens. *Applied and Environmental Microbiology* 65(11):5148-5150.

Carreón, Y., Ballesteros, L., Salgado, R., y Alarcón, A. 2000. Inoculación de hongos micorrízicos arbusculares en plantas de zarzamora (*Rubus* sp.) micropropagadas. *In: Ecología, fisiología y biotecnología de la micorriza arbuscular*. Alarcón A. y R. Ferrera-Cerrato (eds.). Colegio de Postgraduados. Ediciones Mundi-Prensa. Montecillo, Edo. de México, México. pp. 141-148. 251 p.

Dávila-González, E., y Navarrete-Maya, R. 2005. Desarrollo de *Phymatotrichopsis omnivora* "In Vitro" y antagonismos de *Trichoderma* spp. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. pp. C-76.

Díaz-Vargas P., Ferrera-Cerrato, R., Almaraz-Suárez, J.J., y González, G.A. 2001. Inoculación de bacterias promotoras de crecimiento en lechuga. *Terra* 19:327-335.

Escalona, M., Hernández-Montiel, L.G., López M.G., y Fernández-Herrera, E. 2002. Influencia de la inoculación de *Pseudomonas* sp. y hongos micorrízicos en el crecimiento de plantas de jitomate (*Lycopersicon esculentum*). Memorias del IV Congreso Nacional de Biotecnología Agropecuaria y Forestal. Chapingo, México. S-P.

Elías-Ogaz, L., Murillo-Donato, V. A., y Avitia-Talamantes, M. C. 2005. Evaluación *in vitro* de *Trichoderma* spp. contra *Macrophomina phaseolina* y *Fusarium* spp. causantes de pudriciones radicales de chile. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. pp. S-P.

Ezziyyani, M., Pérez-Sánchez, C., Sid-Ahmed, A., Emilia-Requena, M., y Emilia-Candela, M. 2004. *Trichoderma harzianum* como biofungicida para el biocontrol

de *Phytophthora capsici* en plantas de pimiento (*Capsicum annuum* L.). *Anales de Biología* 26:35-45.

Farías-Rodríguez, R., Godínez, R., Zamora, E., y Peña-Cabriales, J. J. 1997a. *Pseudomonas* fluorescentes como agentes de control de bacterias patógenas de plantas. II. Selección de cepas de *Pseudomonas* productoras de sideroforos. *Terra* 15(4):383-389.

Farías-Rodríguez, R., Zamora, E., y Peña-Cabriales, J. J. 1997b. *Pseudomonas* fluorescentes como agentes de control de bacterias patógenas de plantas. II. Inoculación en planta. *Terra* 15(4):391-396.

Fernández-Herrera, E., y Acosta-Ramos, M. 2005. Síntomas y patogenicidad de hongos causantes de la pudrición de raíz y cuello en jitomate. *Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*. Chihuahua, Chih., México. pp. L-69.

Fernández-Herrera, E., Acosta-Ramos, M., y Ponce-González, F. 2005. Manejo químico de la marchitez del jitomate (*Phytophthora capsici* Leo.) en condiciones de invernadero. *Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología*. Chihuahua, Chih. México. pp. L-75.

Fernández-Larrea, O. 2001. Microorganismos antagonistas para el control fitosanitario. *Manejo Integrado de Plagas*. CATIE. 62:96-100.

Gryndler, M., y Vosátka, M. 1996. The response of *Glomus fistulosum* maize micorriza to treatments with culture fractions from *Pseudomonas putida*. *Mycorrhiza* 6(3):207-211.

Hernández-Díaz, M.I., y Chailloux-Laffita, M. 2001. La nutrición mineral y la biofertilización en el cultivo del tomate. *Temas de Ciencia y Tecnología: Ensayos* 5(13):11-27.

Hernández-Montiel, L. G., y Escalona, A. M. 2003. Uso de rizobacterias y hongos micorrízicos como agentes de control biológico de *Fusarium oxysporum*

en plántulas de *Carica papaya* L. En memorias de la Décima Sexta Reunión Científica, Tecnológica, Forestal y Agropecuaria del Estado de Veracruz. Ver. México. S-P.

Jones, E. E., y Stewart, A. 1997. Biological control of *Sclerotinia minor* in lettuce using *Trichoderma* species. 50th Conference Proceedings of New Zealand Plant Protection Conference. 154-158.

Khalil-Gardezi, A., García-Espinoza, R., Ferrera-Cerrato, R., Aguilar-Acuña, J. L., y Larqué-Saavedra, M. 1998. La micorriza (V-A) y materia orgánica como componentes del control biológico de *Fusarium oxysporum* f.sp. *lycopersici* 3 (FOLR₃) en tomate. Revista Mexicana de Fitopatología 16(2):79-83.

Khalil-Gardezi, A., García-Espinoza, R., Ferrera-Cerrato, R., y Larqué-Saavedra, M. 1999. Effect of arbuscular mycorrhizae on tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill) in naturally infested soil with *Fusarium oxysporum* f.sp. *radicis-lycopersici*. Revista Mexicana de Fitopatología 17(1):23-28.

Kloepper, J.W., y Schroth, M.N. 1978. Plant growth promoting rhizobacteria on radishes. Plant Pathogenic Bacteria Angers 2:879-882.

Kücük, C., y Kivanc, M. 2003. Isolation of *Trichoderma* spp. and determination of their antifungal, biochemical and physiological features. Turkish Journal of Biology 27:247-253.

Kücük, C., y Kivanc, M. 2004. *In vitro* antifungal activity of strains of *Trichoderma harzianum*. Turkish Journal of Biology 28:111-115.

Lagunas-Lagunas, J., Zavaleta-Mejía, E., Osada-Kawasoe, S., y Aranda-Ocampo, S. 2001. *Bacillus firmus* como agente de control biológico de *Phytophthora capsici* Leo. en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista Mexicana de Fitopatología 19(1):57-65.

Lewis, J. H., y Papavizas, G. C. 1991. Biocontrol of plant diseases: the approach for tomorrow. Crop Protection 10:95-105.

- Mahaffee, W.F., y Kloepper, J. W. 1994. Applications of plant growth-promoting rhizobacteria in sustainable agriculture. *Soil Biota*. pp. 23-31.
- Mao, W., Lumsden, R. D., Lewis, J. A., y Hebbar, P. K. 1998. Seed Treatment using pre-infiltration and biocontrol agents to reduce damping-off of corn caused by species *Pythium* and *Fusarium*. *Plant Disease* 82:294-299.
- Mathre, D. E., Cook, R. J., y Callan, N. W. 1999. Traversing the word of commercializing biocontrol agents for plant disease control. *Plant Disease* 83:972-983.
- Mendoza, Z.C. 1996. Enfermedades fungosas de hortalizas. Universidad Autonoma Chapingo. Chapingo, México. pp. 7-8, 21-24.
- Ozbay, N., Newman, S. E., y Brown, W. M. 2004. The effect of the *Trichoderma harzianum* strains on the growth of tomato seedlings. *Acta Horticulture* 635:131-135.
- Ramírez, V.J., y Romero, C.S. 1980. Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leo., agente causal de la marchitez del chile. *Agrociencia* 39:9-18.
- Ramos-Barraza, Y., Carrillo-Fasio, J. A., García-Estrada, R. S., Márquez-Zequera, I., Galindo-Fentanes, E., y Serrano-Carrión, L. 2005. Control biológico de la rabia del garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en el estado de Sinaloa, México. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. pp. L-15.
- Reddy, M.S., Hynes, R.K., y Lazarovits, G. 1994. Relationship between in vitro growth inhibition of pathogens and suppression of preemergence damping-off and postemergence root rot of white bean seedlings in the greenhouse by bacteria. *Canadian Journal of Microbiology* 40:113-119.
- Roman-García, F., Farías-Larios, J., y Yahuaca, P.M. 2001. Influencia de la colonización micorrízica en diferentes etapas del crecimiento y desarrollo de

plantas de chile (*Capsicum annuum* L.). 5^{ta} Jornada de investigación. Universidad Autónoma de Zacatecas. pp. 1-15.

Rowe. R. C. 1980. Comparative pathogenicity and host ranges of *Fusarium oxysporum* isolates causing crown and root rot of greenhouse and field-crown tomatoes in North America and Japan. *Phytopathology* 70:(12) 1143-1147.

Sandoval-Luna, R., Anchondo-Nájera, J. A., y González-García, J. 2005. Efecto de *Trichoderma* sp. en la marchitez y crecimiento de chile jalapeño en Delicias, Chihuahua, México. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. pp. C-59.

Sivan, A., Ucko, O., y Chet, I. 1987. Biological control of *Fusarium* crown rot of tomato by *Trichoderma harzianum* under field conditions. *Plant Disease* 71:587-592.

Tovar, A. R., y Gaona, H. 1993. Efecto de *Glomus* sp (MV-A) sobre la pudrición de la raíz por *Phytophthora* en naranjo. Memorias del XX congreso Nacional de Fitopatología. Cd. Obregón, Sonora, México. pp. 56.

Villanueva-Silva, O., Abato-Zárate, M., y Escalona-Aguilar, M. 2005. Efecto antagónico de rizobacterias nativas del género *Pseudomonas* sobre *Phytophthora parasitica in vitro*. Memorias del XXXII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Chihuahua, Chih., México. pp. C-7.

Virgen C. G., y López, J. N. 1992. Una bacteria antagónica a *Rhizoctonia solani in vitro*. Memorias del XIX Congreso Nacional de Fitopatología. Saltillo, Coahuila, México. S-P.

Zak, B. 1964. Role of mycorrhizae in roots diseases. *Annual Review of Phytopathology* 2:377-392.

Zavaleta-Mejía, E. 1994. Control biológico de fitopatógenos con origen en el suelo y perspectivas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 12(1):107-111.

Zavaleta-Mejía, E. 2000. Alternativa de manejo de las enfermedades de las plantas. *Revista Mexicana de Fitopatología* 17(3):201-207.

Zavaleta-Mejía, E., y Rojas, M. R. I. 1989. Antagonismos de *Serratia marcescens* Bizio (*Enterobacteriaceae*) sobre *Fusarium oxysporum* Sclect, f.sp. *lycopersici* (Sacc.) Snyd. y Hans. *Revista Mexicana de Fitopatología* 7:113-118.
