

Universidad Autónoma de Sinaloa
Colegio de Ciencias Agropecuarias
Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte
Doctorado en Ciencias Agropecuarias



TESIS:

HONGOS CON ORIGEN EN EL SUELO ASOCIADOS A LA
MARCHITEZ EN TOMATILLO (*Physalis ixocarpa* Brot.) EN
SINALOA

**Que para obtener el grado de
Doctor en Ciencias Agropecuarias**

PRESENTA:

MC. QUINTÍN ARMANDO AYALA ARMENTA

DIRECTOR DE TESIS:


DR. HUGO BELTRÁN PEÑA

CULIACÁN, SINALOA, MÉXICO; NOVIEMBRE DE 2020

ESTA TESIS FUE REALIZADA POR EL MC. **QUINTÍN ARMANDO AYALA ARMENTA**, BAJO LA DIRECCIÓN DEL CONSEJO PARTICULAR QUE SE INDICA, Y FUE APROBADA POR EL MISMO, COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE:

DOCTOR (A) EN CIENCIAS AGROPECUARIAS

CONSEJO PARTICULAR

DIRECTOR 


DR. HUGO BELTRÁN PEÑA

CO-DIRECTOR 

DR. JUAN MANUEL TOVAR PEDRAZA

ASESOR 

DR. MIGUEL ÁNGEL APODACA SÁNCHEZ

ASESOR 

DR. CARLOS PATRICIO SAUCEDA ACOSTA

CULIACÁN, SINALOA, NOVIEMBRE DE 2020



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA
COLEGIO DE CIENCIAS AGROPECUARIAS

**FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y
ZOOTECNIA**

FACULTAD DE AGRONOMÍA CULIACÁN
FACULTAD DE AGRICULTURA VALLE DEL FUERTE
FACULTAD DE CIENCIAS DEL MAR
FACULTAD DE AGRICULTURA VALLE DEL CARRIZO

En la ciudad de Culiacán Rosales, Sinaloa, el día 10 de noviembre del año 2020, el que suscribe Quintín Armando Ayala Armenta, alumno del Programa de Doctorado en Ciencias Agropecuarias, con número de cuenta 11093919, de la Unidad Académica Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la UAS, manifiesta que es autor intelectual del presente trabajo de Tesis bajo la dirección del Dr. Hugo Beltrán Peña y del Dr. Juan Manuel Tovar Pedraza y cede los derechos del trabajo intitulado "Hongos con origen en el suelo asociados a la marchitez en tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) en el norte de Sinaloa", a la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, del Colegio de Ciencias Agropecuarias de la Universidad Autónoma de Sinaloa, para su difusión, con fines académicos y de investigación por medios impresos y digitales, todo esto en apego al artículo 27 de la Ley Federal de Derechos de Autor.

La Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México) protege el contenido de la presente tesis. Los usuarios de la información contenida en ella deberán citar obligatoriamente la tesis como fuente, dónde la obtuvo y mencionar al autor intelectual. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

ATENTAMENTE

Quintín Armando Ayala Armenta

CORREO ELECTRÓNICO: qaaa-4@hotmail.com
CURP: AAAQ640704HSLYRN05



UAS- Dirección General de Bibliotecas

Repositorio Institucional

Restricciones de uso

Todo el material contenido en la presente tesis está protegido por la Ley Federal de Derechos de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

Queda prohibido la reproducción parcial o total de esta tesis. El uso de imágenes, tablas, gráficas, texto y demás material que sea objeto de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente correctamente mencionando al o los autores del presente estudio empírico. Cualquier uso distinto, como el lucro, reproducción, edición o modificación sin autorización expresa de quienes gozan de la propiedad intelectual, será perseguido y sancionado por el Instituto Nacional de Derechos de Autor.



Esta obra está bajo una Licencia Creative Commons Atribución-No Comercial-Compartir Igual, 4.0 Internacional.

DEDICATORIA

A MIS PADRES:

Lucas Ayala Ordoñez y Serafina Armenta Ayala quienes con la gracia de dios me dieron la oportunidad de vivir. Con el deseo de ser una persona con actitud de servir, trataron de educarme de acuerdo con sus posibilidades. Sabiendo que jamás existirá una forma de agradecer en esta vida, deseo expresarles que los logros obtenidos también son de ustedes.... ¡Muchas gracias!

A YULISA:

La madre de mis hijos, quien, aunque esté en el cielo le doy las gracias infinitas, ya que en vida supo darme amor y respeto incondicionalmente, quien, a pesar de su condición, me dio todo su apoyo para que estudiara el posgrado, Muchas gracias.

A MIS HIJOS:

Ricardo y Eduardo, quienes me han apoyado en todo momento en mi preparación profesional.

A MI ESPOSA:

Lidia Amanda, por todo el apoyo brindado en el Doctorado en Ciencias Agropecuarias.

A MIS HERMANOS:

Fernando, Rolando, Mirna Noemí Gabriela, Yesenia, María Dolores, Rosa Isela y Aleyda, muchas gracias por apoyarme con palabras y hechos en todo momento.

AGRADECIMIENTOS

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, por brindarme la oportunidad de realizar mis estudios de posgrado en uno de sus programas reconocidos por CONACYT. Así mismo, por el apoyo proporcionado mediante una beca, a través de la Dirección General de Investigación y Posgrado.

A CONACYT, le agradezco por la beca académica otorgada en mis estudios de posgrado.

Al Colegio de Ciencias Agropecuarias, por darme la oportunidad de estudiar el Doctorado en Ciencias Agropecuarias, incluido en el Programa Nacional de Posgrado de Calidad del CONACYT.

A la Facultad de Agricultura del Valle Fuerte, por facilitarme los medios para culminar mis estudios de posgrado.

Al Dr. Hugo Beltrán Peña, Dr. Juan Manuel Tovar Pedraza, Dr. Miguel Ángel Apodaca Sánchez y Dr. Calos Patricio Saucedo Acosta, por todos los apoyos que me proporcionaron durante mis estudios de Doctorado.

Al Dr. Fernando Alberto Valenzuela Escoboza y Dr. César Arturo Palacios Mondaca, a quienes siempre estaré agradecido.

A Ricardo Ulises Montes Nevárez, Licenciado en Computación, por todo su apoyo y asesoría en la elaboración de esta tesis.

CONTENIDO	PÁGINA
ÍNDICE DE CUADROS	x
ÍNDICE DE FIGURAS	xiv
RESUMEN GENERAL	xviii
ABSTRACT	xix
CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA	1
1.1. INTRODUCCIÓN	1
1.2. REVISIÓN DE LITERATURA	2
1.2.1. El tomatillo	2
1.2.1.1. Enfermedades del tomatillo	2
1.3. El género <i>Fusarium</i>	2
1.3.1. <i>Fusarium oxysporum</i>	3
1.3.2. <i>Fusarium nygamai</i>	5
1.3.3. <i>Neocosmospora falciformis</i>	6
1.4. <i>Macrophomina phaseolina</i> (Tassi) Goidanich	6
1.5. <i>Rhizoctonia solani</i> Kühn	7
1.5.1. Características morfológicas	7
1.5.2. Anastomosis	8
1.6. Caracterización e identificación de las especies fúngicas	8
1.7. LITERATURA CITADA	9
CHAPTER 2. SOIL-BORNE FUNGI ASSOCIATED TO HUSK TOMATO WILT (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) IN NORTHERN SINALOA	15
2.1. ABSTRACT	15
CAPÍTULO 2. HONGOS CON ORIGEN EN EL SUELO ASOCIADOS A LA MARCHITEZ EN TOMATILLO (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) EN EL NORTE DE SINALOA	16
2.2. RESUMEN	16
2.3. INTRODUCCIÓN	17
2.4. MATERIALES Y MÉTODOS	18
2.4.1. Obtención de aislados	18
2.4.2. Patogenicidad	18
2.4.3. Caracterización morfológica	19
2.4.4. Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación	20
2.4.5. Análisis filogenético	21
2.5. RESULTADOS	22
2.5.1. Patogenicidad	22
2.5.2. Caracterización Morfológica	25
2.5.3. Secuenciación	33

2.5.4. Análisis filogenético	38
2.6. DISCUSIÓN	42
2.7. CONCLUSIÓN	49
2.8. LITERATURA CITADA	50
CHAPTER 3. SUSCEPTIBILITY OF HUSK TOMATO CULTIVARS (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) TO WILT IN NORTHERN SINALOA.....	59
3.1. ABSTRACT	59
CAPÍTULO 3. SUSCEPTIBILIDAD DE CULTIVARES DE TOMATILLO (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) A LA MARCHITEZ EN EL NORTE DE SINALOA	60
3.2. RESUMEN	60
3.3. INTRODUCCIÓN	61
3.4. MATERIALES Y MÉTODOS	62
3.4.1. Tratamientos	62
3.4.2. Inoculación y desarrollo del ensayo	63
3.4.3. Variables evaluadas y su análisis estadístico	64
3.5. RESULTADOS	65
3.5.1. Síntomas generales	65
3.5.2. Híbrido Dalí	66
3.5.2.1. <i>Fusarium oxysporum</i>	66
3.5.2.2. <i>Macrophomina phaseolina</i>	67
3.5.2.3. <i>Rhizoctonia solani</i>	67
3.5.3. Variedad Gabriela	69
3.5.3.1. <i>Fusarium oxysporum</i>	69
3.5.3.2. <i>Macrophomina phaseolina</i>	69
3.5.3.3. <i>Rhizoctonia solani</i>	70
3.5.4. Variedad Puebla	70
3.5.4.1. <i>Fusarium oxysporum</i>	70
3.5.4.2. <i>Macrophomina phaseolina</i>	72
3.5.4.3. <i>Rhizoctonia solani</i>	72
3.5.5. Variedad San Miguel	73
3.5.5.1. <i>Fusarium oxysporum</i>	73
3.5.5.2. <i>Macrophomina phaseolina</i>	74
3.5.5.3. <i>Rhizoctonia solani</i>	74
3.5.6. Híbrido Siqueiros	76
3.5.6.1. <i>Fusarium oxysporum</i>	76
3.5.6.2. <i>Macrophomina phaseolina</i>	77
3.5.6.3. <i>Rhizoctonia solani</i>	77
3.5.7 Híbrido Tamayo	78
3.5.7.1. <i>Fusarium oxysporum</i>	78
3.5.7.2. <i>Macrophomina phaseolina</i>	79
3.5.7.3. <i>Rhizoctonia solani</i>	79
3.5.8. Variedad Tecozautla	81

3.5.8.1. <i>Fusarium oxysporum</i>	81
3.5.8.2. <i>Macrophomina phaseolina</i>	82
3.5.8.3. <i>Rhizoctonia solani</i>	82
3.6. DISCUSIÓN	88
3.7. CONCLUSIÓN	92
3.8. LITERATURA CITADA	93
CHAPTER 4. COMPARATIVE EFFECT OF PATHOGENIC ISOLATES OF <i>Fusarium oxysporum</i> AND <i>Rhizoctonia solani</i> OBTAINED FROM HUSK TOMATO ON SIX GREENHOUSE CULTIVARS.....	98
4.1. ABSTRACT	98
CAPÍTULO 4. EFECTO COMPARATIVO DE AISLADOS PATOGENICOS DE <i>Fusarium oxysporum</i> Y <i>Rhizoctonia solani</i> OBTENIDOS DE TOMATILLO SOBRE SEIS CULTIVOS EN INVERNADERO	99
4.2. RESUMEN	99
4.3. INTRODUCCIÓN	100
4.4. MATERIALES Y MÉTODOS	102
4.4.1. Preparación del inóculo de <i>F. oxysporum</i> y <i>R. solani</i>	102
4.4.2. Tratamientos y establecimiento del ensayo	102
4.4.3. Variables estimadas y análisis estadístico	104
4.5. RESULTADOS	105
4.5.1. Chile	105
4.5.2. Frijol	107
4.5.3. Maíz	110
4.5.4. Pepino	111
4.5.5. Tomate	113
4.5.6. Tomatillo	116
4.6. DISCUSIÓN	118
4.7. CONCLUSIÓN	130
4.8. LITERATURA CITADA	131
CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES GENERALES	138

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro	Título	Página
1	Efecto de <i>Fusarium</i> spp. en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Gran Esmeralda bajo invernadero.	23
2	Efecto de <i>Rhizoctonia</i> sp. en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i>) Brot.) cv. Gran Esmeralda bajo invernadero.	24
3	Efecto de <i>Macrophomina phaseolina</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Gran Esmeralda bajo invernadero.	26
4	Depósito en Genbank de números de acceso de secuencias de ADN de aislados fúngicos incluidos en los análisis filogenéticos.	33
5	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) híbrido Dalí en condiciones de invernadero.	67
6	Efecto de dos aislados de <i>Macrophomina phaseolina</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) híbrido Dalí en condiciones de invernadero.	68
7	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) híbrido Dalí en condiciones de invernadero.	68
8	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Gabriela en condiciones de invernadero.	69
9	Efecto de dos aislados de <i>Macrophomina phaseolina</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Gabriela en condiciones de invernadero	70
10	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Gabriela en condiciones de invernadero.	71

11	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Puebla en condiciones de invernadero.	71
12	Efecto de dos aislados de <i>Macrophomina phaseolina</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Puebla en condiciones de invernadero.	72
13	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Puebla en condiciones de invernadero.	73
14	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. San Miguel en condiciones de invernadero.	74
15	Efecto de dos aislados de <i>Macrophomina phaseolina</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. San Miguel en condiciones de invernadero	75
16	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. San Miguel en condiciones de invernadero.	75
17	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) híbrido Siqueiros en condiciones de invernadero.	76
18	Efecto de dos aislados de <i>Macrophomina phaseolina</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) híbrido Siqueiros en condiciones de invernadero	77
19	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) híbrido Siqueiros en condiciones de invernadero.	78
20	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) híbrido Tamayo en condiciones de invernadero.	79
	Efecto de dos aislados de <i>Macrophomina phaseolina</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis</i>	

21	<i>ixocarpa</i> Brot.) híbrido Tamayo en condiciones de invernadero.	80
22	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) híbrido Tamayo, en condiciones de invernadero.	80
23	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Tecozautla en condiciones de invernadero.	81
24	Efecto de dos aislados de <i>Macrophomina phaseolina</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Tecozautla en condiciones de invernadero.	82
25	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Tecozautla en condiciones de invernadero.	83
26	Porcentaje de severidad de aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre materiales comerciales de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) 30 días después de la siembra.	84
27	Porcentaje de emergencia de plántulas ocasionadas por <i>Fusarium oxysporum</i> sobre materiales comerciales de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.), nueve días después de la siembra.	85
28	Porcentaje de severidad de aislados de <i>Macrophomina phaseolina</i> sobre materiales comerciales de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.), 30 días después de la siembra.	85
29	Porcentaje de emergencia ocasionadas por <i>Macrophomina phaseolina</i> sobre plántulas de materiales comerciales de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.), nueve días después de la siembra	86
30	Porcentaje de severidad de aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre materiales comerciales de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.), 30 días después de la siembra.	87
31	Porcentaje de emergencia ocasionado por <i>Rhizoctonia solani</i> sobre plántulas de materiales comerciales de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.), nueve días después de la siembra.	88

32	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el desarrollo de chile (<i>Capsicum annuum</i>) serrano híbrido Camino Real, en condiciones de invernadero, 150 dds.	106
33	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre el desarrollo de chile (<i>Capsicum annuum</i>) serrano híbrido Camino Real, en condiciones de invernadero, 150 dds.	107
34	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el desarrollo del frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>) cv. Azufrado Higuera en condiciones de invernadero, 120 dds.	108
35	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre el desarrollo del frijol (<i>Phaseolus vulgaris</i>) cv. Azufrado Higuera, en condiciones de invernadero, 120 dds.	109
36	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el desarrollo del maíz (<i>Zea mays</i>) híbrido Armadillo en condiciones de invernadero, 120 dds.	110
37	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre el desarrollo del maíz (<i>Zea mays</i>) híbrido Armadillo en condiciones de invernadero, 120 dds.	111
38	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el desarrollo de pepino (<i>Cucumis sativus</i>) híbrido Paraíso, en condiciones de invernadero, 78 dds.	112
39	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre el desarrollo de pepino (<i>Cucumis sativus</i>) híbrido Paraíso en condiciones de invernadero, 78 dds.	113
40	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el desarrollo de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) híbrido Cuauhtémoc en condiciones de invernadero, 140 dds.	114
41	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre el desarrollo de tomate (<i>Solanum lycopersicum</i>) híbrido Cuauhtémoc en condiciones de invernadero, 140 dds.	115
42	Efecto de seis aislados de <i>Fusarium oxysporum</i> sobre el desarrollo de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i>) cv. Gran Esmeralda en condiciones de invernadero, 100 dds.	116
43	Efecto de tres aislados de <i>Rhizoctonia solani</i> sobre el desarrollo de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i>) cv. Gran Esmeralda en condiciones de invernadero, 100 dds.	118

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura	Título	Página
1	Plantas de tomatillo (<i>Physalis ixocarpa</i> Brot.) cv. Gran Esmeralda, a los 30 días de la inoculación con aislados obtenidos de plantas de tomatillo, procedentes de huertos del norte de Sinaloa. A) <i>Fusarium</i> F-141 pudrición de raíz y base del tallo de color café, clorosis y flacidez en las hojas; B) <i>Macrophomina</i> M-148 pudrición de raíz de color negro, desarrollo radicular reducido; C) <i>Rhizoctonia</i> R-124 pudrición de raíz y tallo, ahorcamiento en base de tallo, de color café, clorosis.	22
2	Aislado de <i>Fusarium oxysporum</i> F-145 obtenido de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez. A y B) colonia color violeta desarrollada sobre medio de cultivo PDA. Estructuras desarrolladas sobre medio CLA; C) macroconidios en forma de canoa con tres septos; D) microconidios ovales con un septo; E) fiálide corta con presencia de microconidios; F) clamidospora globosa, individual, rugosa y unicelular.	27
3	Aislado de <i>Fusarium nygamai</i> F-138 obtenido de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez. A y B) Colonia color blanco a gris y rosácea desarrollada en PDA; estructuras desarrolladas sobre medio CLA; C) macroconidios septados, semicurvado, 7.5 μm ; D) microconidios ovales con uno o ningún septo, 2.5 μm ; E) monofiálide corta, 5 μm ; F) clamidospora rugosa, bicelular.	28
4	Aislado de <i>Fusarium falciforme</i> F-133 obtenido de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez. A y B) colonia de color amarillo a café oscuro desarrollada en PDA; estructuras desarrolladas en CLA; C) macroconidios ligeramente curvos con tres septos, 5 μm ; D) microconidios ovales de cero a un septo; E y F) monofiálide larga; G) clamidospora globosa, rugosa y bicelular; C-D) escala de referencia = 7.5 μm .	28
5	Aislado M-150 de <i>Macrophomina phaseolina</i> obtenido de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez. A y B) colonia color negro y estructuras desarrolladas en medio PDA; C) micelio septado, 10 μm ; D) microesclerocios de color negro. Escala de referencia 200 μm .	29

- 6 Aislado de *Rhizoctonia solani* R-124 obtenido de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez. A y B) colonia color café marrón desarrollada en PDA. Estructuras desarrolladas en medio PDA: C) hifas jóvenes septadas dispuestas en ángulo de 90 °C; D) hifa multinucleada; E) micelio. Escala de referencia 20 μ m. 29
- 7 Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud, generado a partir del análisis secuencial del conjunto de datos del gen EF-1 α de las especies *Fusarium* y *Neocosmospora*. Los valores de soporte Bootstrap para Máxima Verosimilitud se indican en los nodos. Las cepas *Fusarium pseudocircinatum* y *Neocosmospora lichenicola* NRRL34123 se utilizaron como grupo externo. Los aislados en este estudio están en negrita. La barra de escala indica el número de cambios esperados por sitio. 39
- 8 Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud, generado a partir de la combinación de la alineación de secuencias ITS, EF-1 α , BT y ACT de especies de *Macrophomina*. Los valores de soporte Bootstrap para Máxima Verosimilitud se indican en los nodos. Los aislados que corresponden a este estudio se presentan en letra negrita. *Botryosphaeria dothidea* cepa CMW8000 se utilizó como grupo externo. La barra de escala indica el número de cambios esperados por sitio. 40
- 9 Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud, generado a partir del análisis de secuencias de la región ITS de *Rhizoctonia solani* AG-4. Los valores de soporte Bootstrap para Verosimilitud se indican en los nodos. Los aislados en este estudio están en negrita. La cepa *Athelia rolfsii* AY684917 se utilizó como grupo externo. La barra de escala indica el número de cambios esperados por sitio. 41
- 10 Sitios de recolección de especies fúngicas causantes de la marchitez del tomatillo, en tres municipios distribuidos en el estado de Sinaloa, México. Los círculos representan la frecuencia de asociación de cada especie en cada población muestreada, v = es el número de campos de tomatillo muestreados en cada población y n = es el número de aislados patogénicos analizados en cada población. 42
- 11 Plántulas de tomatillo con síntomas de marchitez por *Fusarium oxysporum*, a los 30 días después de la inoculación. A) Gabriela aislado F-131; B) Tamayo aislado F-140; C) Gabriela aislado F-145. 65

- 12 Plántulas de tomatillo con síntomas de marchitez por *Macrophomina phaseolina* a los 30 días después de la inoculación. A) Tamayo aislado M-147; B) San Miguel aislado M-147; C) Tecozautla aislado M-147. 66
- 13 Plántulas de tomatillo con síntomas de marchitez por *Rhizoctonia solani*, a los 30 días después de la inoculación. A) Dalí aislado R-116; B) San Miguel aislado R-118; C) Puebla Aislado R-118. 66
- 14 Efecto de *Fusarium oxysporum* en chile híbrido Camino Real: A) pudrición de semillas y/o muerte de plántulas. B) desarrollo de raíces reducido. C) testigo. 105
- 15 Efecto de *Rhizoctonia solani* en chile tipo serrano híbrido Camino Real: A) pudrición de semillas, ahorcamiento en la base del tallo y muerte de plántulas; B) marchitez; C) testigo. 107
- 16 Efecto de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de frijol cv. Azufrado Higuera. A) disminución de emergencia de plántulas. B) plantas sin síntomas. C) testigo. 108
- 17 Efecto de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de frijol cv. Azufrado Higuera. A) ahorcamiento de base de tallo y muerte prematura de plántulas. B) clorosis y marchitez de plantas adultas. C) testigo. 109
- 18 Efecto de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* en maíz híbrido Armadillo. A y B) semillas germinadas o plántulas sin síntomas. C) testigo. 110
- 19 Efecto de *Fusarium oxysporum* en pepino híbrido Paraíso. A) semillas no germinadas o plántulas muertas. B) plantas adultas con marchitez, clorosis de hojas y tallo. C) testigo. 111
- 20 Efecto de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de pepino híbrido Paraíso. A) marchitez y muerte prematura de plántulas. B) marchitez y muerte de plantas adultas. C) testigo. 113
- 21 Efecto de *Fusarium oxysporum* en tomate híbrido Cuauhtémoc. A) pudrición de raíz, desarrollo radical reducido, marchitez y muerte de plántulas. B) pudrición de tallo, ramas y muerte de plantas adultas. C) testigo. 114
- 22 Efecto de *Rhizoctonia solani* en tomate híbrido Cuauhtémoc. A) pudrición de semilla, clorosis en hojas y muerte de plántulas. B) ahorcamiento en la base del tallo. C) testigo. 115

- 23 Efecto de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de tomatillo cv. Gran Esmeralda. A) pudrición de semillas y raíces y clorosis. B) pudrición de tallos, hojas y ramas y muerte de plantas adultas. C) testigo. 116
- 24 Efecto de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de tomatillo cv. Gran Esmeralda. A) pudrición de semilla, marchitez y muerte de plántulas. B) ahorcamiento de base de tallo y muerte de plantas. C) testigo. 118

RESUMEN GENERAL

La marchitez o secadera es una de las enfermedades más importantes del tomatillo (*Physalis ixocarpa*) en Sinaloa, México. Los síntomas de la enfermedad incluyen pudrición de la raíz-cuello, marchitez, crecimiento reducido, decoloración de los tejidos vasculares, flacidez del follaje y muerte de las plantas. Con el objetivo de determinar la etiología de la marchitez, 88 aislados fúngicos fueron obtenidos de plantas sintomáticas, en 19 campos de tomatillo de Sinaloa. En invernadero, semillas de tomatillo cv. Gran Esmeralda, se depositaron sobre discos de PDA + hongo de cada uno de los 88 aislados, por separado; luego se sembraron en macetas con arena-peat moss (1:3 v/v) pasteurizados (Ensayo 1, E1). A los 9 días después de la siembra (dds) se estimó la emergencia de plántulas; 30 dds la severidad (escala de 0-5) y parámetros de vigor de las plantas. Un subgrupo de 37 aislados con severidad ≥ 50 , fueron identificados mediante morfología y análisis filogenético de Máxima Verosimilitud; 14 de *Fusarium* (EF-1 α), cinco de *Macrophomina* (ITS, EF-1 α , BT y ACT); tres de *Neocosmospora* (EF-1 α) y 15 de *Rhizoctonia* (ITS). Los análisis filogenéticos identificaron a *Fusarium oxysporum* en 29.8%, *F. nygamai* 8.1%, *Macrophomina phaseolina* 13.5%, *Neocosmospora falciformis* 8.1% y *R. solani* AG-4 HGI 40.5% de los aislados. El objetivo del segundo ensayo 2 (E2) fue determinar la respuesta de las cultivares híbrido Dalí, cv. Gabriela, cv. Puebla, cv. San Miguel, híbrido Siqueiros, híbrido Tamayo y cv. Tecozautla, hacia aislados patogénicos de *F. oxysporum*, *M. phaseolina* y *R. solani*, obtenidos de tomatillo. En macetas se colocó por separado arena-peat moss (1:3 v/v) pasteurizados y después inoculado con cada uno de seis aislados de *F. oxysporum* 1.6×10^5 UFC; dos de *M. phaseolina* y tres de *R. solani* (16 granos de sorgo infestados / maceta). En cada una de tres macetas (repetición) se depositaron cinco semillas del cultivar de tomatillo correspondiente; luego se taparon con el mismo sustrato e incubaron por 30 días en invernadero en un diseño completamente al azar; en el testigo las semillas se sembraron sobre suelo sin hongo. A los 9 dds se estimó la emergencia de plántulas; 30 dds, la severidad (escala de 0-5) y parámetros de vigor de las plantas. Los datos se analizaron mediante estadística no paramétrica. Las siete variedades probadas fueron susceptibles a *F. oxysporum*, *M. phaseolina* y *R. solani*; algunos de los aislados probados ejercieron un significativo ($P \leq 0.05$) efecto diferencial de virulencia, en algunas de las variedades estudiadas. El objetivo del tercer ensayo (E3), fue comparar la virulencia de seis aislados patogénicos de *F. oxysporum* y tres de *R. solani*, obtenidos de tomatillo, en chile híbrido Camino Real, frijol cv. Azufrado Higuera, maíz híbrido Armadillo, pepino híbrido Paraíso, tomate híbrido Cuauhtémoc y tomatillo cv. Gran Esmeralda. Cada cultivar se inoculó por separado con seis aislados de *F. oxysporum* o tres de *R. solani*, como se hizo en E2. Las macetas con 3 kg de sustrato se incubaron en invernadero en un diseño completo al azar, durante 120-150 dds. En E3 los datos se analizaron como en E2. En E3, en todos los cultivos, excepto maíz, los aislados de *F. oxysporum* y *R. solani* fueron patogénicos, ya que disminuyeron de forma significativa ($P \leq 0.05$) la emergencia de plántulas o parámetros de vigor de las plantas o ejercieron efectos significativos en la severidad de los síntomas.

Palabras clave: tomatillo, marchitez, patógenos, filogenia, susceptibilidad

ABSTRACT

Wilt is one of the most important diseases of husk tomato (*Physalis ixocarpa*) in Sinaloa, México. Disease symptoms include root-neck rot, overall wilting, stunting, discoloration of vascular tissues, foliage sagging and death of plants. With the objective of determining the etiology of wilt, 88 fungal isolates were obtained of symptomatic plants from 19 fields of Sinaloa. Under greenhouse conditions, seeds of husk tomato cv. Gran Esmeralda were deposited on discs with PDA+Fungus from each of the 88 isolates, then they were planted on pots with pasteurized sand+peat moss (1:3 v/v) (trial 1, E1). Seedling emergence was measured at 9 days after planting (DAP), severity at 30 DAP (scale 0-5) and parameters of plant vigor. A subgroup of 37 isolates with severity ≥ 50 , were identified through morphology and phylogenetic analysis, 14 from *Fusarium* (EF-1 α), five from *Macrophomina* (ITS, EF-1 α , BT and ACT), three from *Neocosmospora* (EF-1 α), and 15 from *Rhizoctonia* (ITS). Phylogenetic analysis identified *Fusarium oxysporum* with 29.8%, *F. nygamai* with 8.1%, *Macrophomina phaseolina* with 13.5%, *Neocosmospora falciformis* 8.1% and *R. solani* AG-4 HGI 40.5% from all isolates. The objective of the second trial (E2) was to determine the response of varieties Dalí, Gabriela, Puebla, San Miguel, Siqueiros, Tamayo and Tecozautla, to pathogenic isolates of *F. oxysporum*, *M. phaseolina* and *R. solani*, obtained from husk tomato. Pots of pasteurized sand-peat moss (1:3 v/v) were separately placed and then inoculated with six isolates of *F. oxysporum* 1.6×10^5 CFU; two of *M. phaseolina* and three of *R. solani* (16 sorghum-infested grains/pot). Five seeds of husk tomato cultivar were deposited on each of three pots (replicate). Thereafter, they were covered with the same substrate and incubated for 30 days at greenhouse conditions on a completely block design. All seeds on the check plot were planted on the soil without fungus. Seedling emergence was measured at 9 dap, severity at 30 dap (scale 0-5) and parameters of plant vigor. All data were analyzed with non-parametric statistics. All varieties tested were susceptible to *F. oxysporum*, *M. phaseolina* and *R. solani*; some of the isolates tested exerted a significant different virulence effect ($P \leq 0.05$) in some varieties. The objective of the third trial (E3) was to compare the virulence of six pathogenic isolates from *F. oxysporum* and three of *R. solani*, obtained from husk tomato, chili hybrid Camino Real common bean cv. Azufrado Higuera, maize hybrid Armadillo, cucumber hybrid Paraíso, tomato hybrid Cuauhtémoc and husk tomato cv. Gran Esmeralda. Each cultivar was inoculated with six isolates of *R. solani* (as described in experiment 2). Pots with 3 kg of substrate were inoculated from 120 to 150 dap at greenhouse conditions on a completely block design. All data were properly analyzed as in trial 2. The isolates of *F. oxysporum* and *R. solani* were pathogenic in all crops except for maize. They decreased seedling emergence, plant vigor and exerted significant effects on the severity of symptoms.

Keywords: husk tomato, wilt, pathogens, phylogeny, susceptibility

CAPÍTULO 1. INTRODUCCIÓN Y REVISIÓN DE LITERATURA

1.1. INTRODUCCIÓN

El tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) se cultiva en 25 estados del país, con una superficie de 18,806 ha sembradas, Sinaloa es el principal estado productor de esta solanácea con 140,752 t sobre una superficie cultivada de 6,114 ha y rendimiento promedio de 23 t ha⁻¹ (SIAP, 2020), el cual puede ser superado mediante el uso de semillas mejoradas hasta 45 t ha⁻¹ (Peña-Lomelí *et al.*, 2014), aunque diversas investigaciones realizadas reportan que mediante paquete de fertirriego puede alcanzar 80 t ha⁻¹ (Castro-Brindis *et al.*, 2000). En cuanto a importancia, a Sinaloa le siguen Jalisco 4,928 ha; Puebla con 4,150; Zacatecas 4,172; Nayarit con 2,438 ha; y Guanajuato 2,580 ha sembradas (SIAP, 2020).

La producción de tomatillo en México es afectada por hongos (Soto-Zarazúa *et al.*, 1998), virus (Gámez-Jiménez *et al.*, 2009; González-Pacheco y Silva-Rosales, 2013) y fitoplasmas (Santos-Cervantes *et al.*, 2006; Mauricio-Castillo *et al.*, 2018). Las enfermedades fúngicas más importantes que afectan al cultivo son el carbón blanco (*Entyloma australe*) (Moncayo-Pérez *et al.*, 2020), mancha foliar (*Cercospora physalidis*), cenicilla (*Podosphaera xanthii*) (Félix-Gastélum *et al.*, 2007), mancha de la hoja (*Alternaria* sp.) (Soto-Zarazúa *et al.*, 1998) y marchitamiento inducido por *F. oxysporum* (Gómez-Camacho *et al.*, 2006). La marchitez del tomatillo es una enfermedad de importancia económica en Sinaloa y está asociada a un complejo de hongos con origen en el suelo, como *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, entre otros; sin embargo, se desconoce con certeza el agente causal de la marchitez en el tomatillo ya que en México se carece de información que sustente la identificación de los patógenos asociados a la enfermedad, la cual es necesaria para asumir medidas de combate eficientes que permitan mejorar la sanidad del cultivo e incrementar la producción. El objetivo de la presente investigación fue determinar la etiología de la marchitez ocasionada por aislados fúngicos obtenidos de plantas sintomáticas de tomatillo en Sinaloa e identificación molecular de los mismos.

1.2. REVISIÓN DE LITERATURA

1.2.1. El tomatillo

El tomatillo tiene su centro de origen en México, donde se encuentra de manera silvestre, cultivada o doméstica. Esta solanácea se clasifica dentro del género *Physalis*, que comprende más de 80 especies, distribuidas en su mayoría en América; el resto en Asia, Europa, Australia y África tropical. En México existen 70 especies de las cuales, 36 se encuentran distribuidas en 26 estados del país (Peña-Lomelí y Santiaguillo-Hernández, 1999). Por su constante aumento en el consumo *per cápita* y superficie cultivada, el tomatillo se considera una de las principales hortalizas en México y se ubica como la quinta hortaliza cultivada: después del chile (*Capsicum annuum* L.), papa (*Solanum tuberosum* L.), tomate (*Solanum lycopersicum* L.) y cebolla (*Allium cepa* L. (SIAP, 2020).

Los problemas principales, además de problemas de comercialización, son las plagas y enfermedades (Soto-Zarazúa *et al.*, 1998).

1.2.1.1. Enfermedades del tomatillo

Las enfermedades más importantes del cultivo son causadas por virus (De La Torre-Almaraz *et al.*, 2003; Gámez-Jiménez *et al.*, 2009; González-Pacheco y Silva-Rosales, 2013). También se han reportado fitoplasmas (Santos-Cervantes *et al.*, 2006; Mauricio-Castillo *et al.*, 2018). Los hongos le siguen en importancia a los virus: carbón blanco (*Entyloma australe*) (Moncayo-Pérez *et al.*, 2020); mancha foliar (*Cercospora physalidis*), cenicilla (*Podosphaera xanthii*) (Félix-Gastélum *et al.*, 2007); mancha de la hoja (*Alternaria* sp.) y la marchitez causada por un complejo de hongos con origen en el suelo, con predominio de *Fusarium oxysporum* y *F. solani* (Soto-Zarazúa *et al.*, 1998).

1.3. El género *Fusarium*

El género *Fusarium* pertenece al Reino Fungi, Phylum Ascomycota, Clase Sordariomycetes, Orden Hypocreales, Familia Nectriaceae (Michielse y Rep, 2009). El hongo *Fusarium*, descrito por primera vez por Link en 1809, en la actualidad es uno de los más importantes debido a su distribución mundial y por su impacto económico.

Martius realizó los primeros estudios, a mediados del XIX, sobre los problemas producidos por *Fusarium*; sin embargo, su patogenicidad en plantas vivas se publicó entre los años 1892 y 1899 (Booth, 1984). Las especies de *Fusarium* están distribuidas en todo el mundo y son patógenos de animales, humanos y plantas. Debido a su abundancia y su frecuente asociación con las raíces, las especies de *Fusarium* se pueden comportar como parásitos o saprófitos. La mayoría de las especies de *Fusarium* producen tres tipos de esporas: macroconidios, microconidios y clamidosporas (Nelson *et al.*, 1994). La clasificación de *Fusarium* se complica por el hecho de que existen especies cuyas formas con reproducción sexual son incluidas en un grupo taxonómico diferente y con un nombre distinto de las que presentan reproducción asexual (Samuels y Blackwell, 2001).

1.3.1. *Fusarium oxysporum*

La especie *F. oxysporum* se considera un hongo imperfecto, por la aparente pérdida del estado perfecto (sexual). La reproducción asexual se lleva a cabo por medio de conidios, esporas formadas en el extremo de una hifa (fiálide). El hongo se puede presentar como saprófito, sobrevive por largos periodos en el suelo como clamidosporas. Algunas poblaciones de *F. oxysporum* funcionan como patógenos vasculares especializados, denominados con el término “forma especial” (f. sp.), según la planta hospedante u hospedantes relacionados que afecte (Garcés *et al.*, 2001). El micelio por lo general es aéreo, algodónoso, de color blanco, pero de manera común adopta un tinte púrpura, más intenso en la superficie del agar. Esta especie produce tres tipos de esporas: microconidios, macroconidios y clamidosporas. Los microconidios que son esporas de 0 a 1 septo (Booth, 1971), hialinas, de forma variable, formadas sobre fiálides laterales o sobre conidióforos poco ramificados; miden de 5-12 μm de largo y anchura de 2.5-3.5 μm (Nelson, 1981). Los macroconidios miden 27-60 μm de largo por 3.0-5.0 μm de ancho; son fusiformes, largos, curvados o en forma de hoz; poseen de tres a cinco septos transversales, con la célula basal elongada y la célula apical atenuada. Las clamidosporas miden 5.0-15.0 μm de diámetro, de aspecto globoso y con doble pared celular gruesa; se encuentran

solitarias o en pares; se forman a partir de la condensación del contenido de las hifas y los conidios (Leslie y Summerell, 2006).

En la taxonomía tradicional, la identificación de las especies de *Fusarium* considera las características morfológicas de los macroconidios y de las clamidosporas. Los microconidios de *F. oxysporum* se producen en el interior de los haces vasculares de las plantas infectadas (Nelson, 1981; Leslie y Summerell, 2006). Los macroconidios se desarrollan sobre los tejidos del hospedante (Kranz, 1982). La fase perfecta del hongo es aún desconocida (Nelson *et al.*, 1983).

En *F. oxysporum* se han identificado más de 120 formas especiales en función de las especies vegetales hospedantes (Michielse y Rep, 2009), las cuales son difíciles de diferenciar con base en su morfología o por las características culturales de las colonias; sin embargo, son diferentes a nivel fisiológico, por su capacidad de parasitar y ocasionar enfermedades en plantas hospedantes específicas (Nelson *et al.*, 1983). Las cepas de *F. oxysporum* pueden dividirse de acuerdo a su forma de interactuar con las plantas hospedantes en cepas patogénicas y no patogénicas (Gordon y Martyn, 1997), las cuales se distribuyen a nivel mundial en suelos dedicados a la agricultura, asociadas a plantas de interés comercial. Las cepas no patogénicas de *F. oxysporum* se encuentran dentro de los hongos de aislados de plantas cultivadas sanas; son incapaces de producirles enfermedad, pero son colonizadoras efectivas de la epidermis y el córtex de la raíz (Schneider, 1984). El hecho de que estas cepas no produzcan marchitamiento se atribuye a su incapacidad para penetrar en los tejidos del haz vascular, o al hecho de que éstas generen una rápida respuesta del huésped a la infección (Gao *et al.*, 1995). Los estudios realizados en comunidades de plantas silvestres asociadas a suelos no agrícolas, aunque escasos, siempre muestran una asociación muy estrecha de cepas de *Fusarium* en las raíces de dichas plantas; en ningún caso esa asociación conduce al desarrollo de patologías, independiente de que en muchos casos dichas poblaciones sean altas (Burgess *et al.*, 1989).

La mayoría de las especies del género *Fusarium* se transmiten por semilla cosechada de frutos cortados de plantas enfermas o frutos que están en contacto con el suelo infestado. Estos hongos se localizan por lo general sobre las semillas, aunque también se pueden encontrar en su interior (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2004).

La supervivencia de *F. oxysporum* ocurre en diversos sustratos en forma de clamidosporas, mientras que la propagación es facilitada por la producción de conidios sobre el cuello de las plantas infectadas. El inóculo se puede dispersar también en forma de polvo de suelo contaminado, agua de riego, salpicaduras y las corrientes de aire (Blancard, 2005).

Fusarium spp. infectan las raíces de las plantas, previa penetración del sistema radicular, de manera directa o a través de heridas (Kranz, 1982). La incidencia de la marchitez ocasionada por *F. oxysporum* en tomate se incrementa por el ataque de nematodos fitoparásitos presentes en el suelo, lo cual se debe a que éstos provocan heridas que facilitan la penetración del patógeno (Jarvis y Thorpe, 1976).

1. 3. 2. *Fusarium nygamai*

La especie *F. nygamai*, se ha reportado asociada a plantas de la familia Poaceae, que incluye a *Sorghum bicolor*, *Zea mays* y *Pennisetum typhoides* (Farr y Rossman, 2019). En México, este patógeno se ha asociado con necrosis de raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos (Martínez-Fernández *et al.*, 2015).

La especie *F. nygamai* produce micelio aéreo abundante; es blanco en su inicio y se torna violeta con el tiempo, debido a la producción de pigmentos violáceos, en el medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA). Los microconidios son ovales, elípticos o reniformes (en forma de riñón), unicelulares, algunos uniseptados; de 4.0-17 μm de largo por 2.0-3.5 μm de ancho, formados en falsas cabezas o en su mayoría en cadenas cortas de menos de diez conidios, a partir de monofiálides en conidióforos. Los macroconidios son delgados, rectos, con tendencia curvada, en su mayoría de tres septos, la célula apical es corta y aguda, mientras que la célula basal posee forma de pie; miden 12-45 μm de largo x 3.0-4.5 μm de ancho, formados en conidióforos ramificados. Las clamidosporas son lisas o rugosas y se forman en dos a cuatro semanas en medio agar hojas de clavel (CLA); en agar nutriente sintético (SNA) en cuatro a seis semanas (Burgess y Trimboli 1986; Leslie y Summerell, 2006). La especie *F. nygamai* comparte características morfológicas con *F. verticillioides* y *F.*

thapsinum, pero se distingue de éstas por la presencia de clamidosporas y la formación de microconidios en cadenas cortas (Leslie y Summerell, 2006).

1.3.3. *Neocosmospora falciformis*

El género *Neocosmospora* (como complejo de especies de *Fusarium solani*, FSSC) se considera un grupo fúngico importante desde hace más de 100 años, porque contiene especies patógenas significativas, e incluye agentes que causan pudrición de frutas y plántulas; dañan diversos hospedantes (Leslie y Summerell, 2006; Domsch *et al.*, 2007; Nalim *et al.*, 2011).

La especie *N. falciformis* se incluye dentro del complejo de especies de *Neocosmospora solani* (antes *F. solani*) y en la actualidad comprende más de 15 especies filogenéticas (Sandoval-Denis y Crous, 2018). El nombre *F. solani*, de manera tradicional, se utiliza por microbiólogos clínicos y fitopatólogos como comodín, para tratar con aislados que pertenecen a este complejo, cuando no se dispone de herramientas moleculares (Zhang *et al.*, 2006; Bachmeyer, 2007; Nakamura *et al.*, 2007; O'Donnell *et al.*, 2016).

1.4. *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goidanich

El género *Macrophomina*, se clasifica en el Reino Fungi, Phylum Ascomycota, Clase Dothideomycetes, Orden Botryosphaerales de la Familia Botryosphaeriaceae, (Chattopadhyay *et al.*, 2016). La especie hoy conocida como *Macrophomina phaseolina*, se nominó hace muchos años como *Rhizoctonia bataticola* y también como *Sclerotium bataticola*; después se denominó como *Macrophomina phaseoli* y luego como se conoce hoy (*M. phaseolina*) (Mihail 1992).

Es un hongo cuya fase sexual no se conoce; puede desarrollar micelio en forma saprofítica, para luego formar microesclerocios (Dhingra y Sinclair, 1973). Las infecciones pueden ocurrir a partir de micelio o microesclerocios presentes en el suelo (Ammon *et al.*, 1975). En los tejidos infectados se pueden desarrollar nuevas generaciones de microesclerocios y en ocasiones se producen picnidios (Gupta *et al.*, 2012). La amplia variación de este hongo puede explicarse por la presencia de micelio heterocariótico (Beas-Fernández *et al.*, 2006; Reyes-Franco *et al.*, 2006).

La pudrición carbonosa de la raíz y del tallo en general es provocada por este patógeno, el cual es devastador (Babu *et al.*, 2007). Se encuentra reportado como patógeno en cerca de 500 especies de plantas cultivadas (Khan, 2007), muchas de ellas de importancia económica, debido a que es un patógeno no específico (Singh y Nene, 1990). En cuanto a las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad, se pueden destacar los periodos prolongados con déficit hídrico, junto con temperaturas superiores a los 32 °C (Clafin y Giorda, 2002). Los síntomas generales, en sus distintos hospedantes, incluyen clorosis, pudrición severa de raíces y cuello, marchitez temprana o muerte de plantas adultas (Kaur *et al.*, 2012).

1.5. *Rhizoctonia solani* Kühn

Según Ajayi-Oyetunde y Bradley (2017), *R. solani* pertenece al Reino Fungi, Phylum Basidiomycota, Clase Agaricomycetes, Orden Cantharellales de la Familia Ceratobasidiaceae.

El patógeno *R. solani* es un habitante natural del suelo que causa síntomas diversos de enfermedad, en diversas familias de plantas como Solanaceae, en donde causa enfermedades como la secadera (damping-off), tizón foliar, así como pudrición en raíces y coronas (Farr *et al.*, 1989; Sneh *et al.*, 1991; González, 2013; Ajayi-Oyetunde y Bradley, 2017). El hongo es una especie heterogénea conformada por numerosas cepas, que difieren en sus características de crecimiento *in vitro* y en patogenicidad (Ogoshi, 1987).

1.5.1. Características morfológicas

Las colonias de *R. solani* desarrollan micelio color marrón que forma ramificaciones en ángulo recto, hifas de 5.0-8.0 µm de ancho y esclerocios de 1.0-6.0 µm de diámetro (Watanabe, 2002). Los esclerocios son irregulares, no se forman esporas asexuales (conidios) y su estado sexual es poco común en la naturaleza (Ogoshi, 1987).

Las características morfológicas específicas que distinguen a *R. solani* son: hifas septadas de color café, ramificación próxima al septo distal de células en hifas

vegetativas jóvenes, septo doliporo; células multinucleadas en hifas vegetativas jóvenes, además de una constricción en la base de cada hifa (Parmeter, 1970).

1.5.2. Anastomosis

El análisis con base en la compatibilidad de fusión hifal (anastomosis) permite la separación de las cepas de *R. solani* en 14 grupos anastomóticos (AG), designados desde AG-1 hasta AG-13 más AG-BI (Carling *et al.*, 2002; Ajayi-Oyetunde y Bradley, 2017). Las cepas son separadas en grupos de anastomosis (AGs) con base en la ocurrencia o ausencia de compatibilidad vegetativa (anastomosis), los cuales con algunas excepciones (AG-BI y AG-8), pueden ser considerados como poblaciones distintas (McCabe *et al.*, 1999). La independencia genética de los AGs se comprueba mediante análisis bioquímicos y moleculares (Kuninaga y Yokosawa, 1983; Vilgalys y González, 1990; Sneh *et al.*, 1991; Laroche *et al.*, 1992).

1.6. Caracterización e identificación de las especies fúngicas

La primera forma de identificar las especies se dio a través de la caracterización cultural y morfológica, con el auxilio de claves taxonómicas ya descritas (Sneh *et al.*, 1991; Watanabe, 2002; Leslie y Summerell, 2006;), la cual hasta hoy no es suficiente debido a la variabilidad genética (Gutiérrez-Cedeño *et al.*, 2014). Para tener una taxonomía más completa sobre las especies, es necesario complementar los estudios morfométricos con los análisis moleculares del ADN, amplificado mediante reacción en cadena de la polimerasa (PCR) y secuenciación mediante cebadores específicos para tener una identificación precisa (Leyva-Mir *et al.*, 2014). En la actualidad el análisis filogenético con estudios moleculares y secuencias de hongos puede demostrar relaciones entre las especies (Morrone, 2001; García-Núñez *et al.*, 2017).

1.7. LITERATURA CITADA

- Ajayi-Oyetunde, O. O., and Bradley, C. A. 2017. Identification and characterization of *Rhizoctonia* species associated with soybean seedling disease. *Plant Disease* 101:520–533. doi:10.1094/pdis-06-16-0810-re.
- Ammon, V., Wyllie, T. D., and Brown, M. F. 1975. Investigation of the infection process of *Macrophomina phaseolina* on the surface of soybean roots using scanning electron microscopy. *Mycopathologia* 55:77–81.
- Apodaca-Sánchez, M. A., Zavaleta M. E., García, E. R., Osada, K. S., y Valenzuela, U. J. G. 2004. Hospedantes asintomáticos de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *radicis-lycopersici* W.R. Jarvis y Shoemaker en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 2:7–13.
- Babu, B. K., Rivastava, A. K., Saxeva, A. K., and Arora, D. K. 2007. Identification and detection of *Macrophomina phaseolina* by using species-specific oligonucleotide primers and probe. *Mycology* 99:733–739.
- Bachmeyer, C. 2007. Deep cutaneous infection by *Fusarium solani* in a healthy child. *Journal of the American Academy of Dermatology* 57:1095–1096.
- Beas-Fernández, R., De Santiago, A., Hernández-Delgado, S., and Mayek-Pérez, N. 2006. Characterization of mexican and non-mexican Isolates of *Macrophomina phaseolina* based on morphological characteristics pathogenicity on bean seeds and endoglucanase genes. *Journal of Plant Patology* 88:53–60.
- Blancard, D. 2005. Enfermedades del tomate. Observar, identificar, luchar. Grupo Mundi-Prensa. España 679 p.
- Booth, C. 1971. The genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute. Kew, Surrey, 237 p.
- Booth, C. 1984. The *Fusarium* problem: historical, economic, and taxonomic aspects. in: M. O. Moss, and J. E. Smith (eds). *The applied mycology of Fusarium*. Press Syndicate of the University of Cambridge. Vol. 7 pp: 1–13.
- Burgees, L. W., Nelson, P. E., and Summerell., B. A. 1989. Variability and stability of morphological characters of *Fusarium oxysporum* isolated from soils in Australia. *Mycologia* 96:780–784.
- Burgess, L. W., and Trimboli, D. 1986. Characterization and distribution of *Fusarium nygamai*, sp. *Mycologia* 78:223–229.
- Carling, D. E., Kuninaga, S., and Brainard, K. A. 2002. Hyphal anastomosis reactions, rDNA internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group 2 (AG2) and AG-BI. *Phytopathology* 92:43–50. <https://doi.org/10.1094/Phyto.2002.92.1.43>.

- Castro-Brindis, R., Sánchez-García, P., Peña-Lomelí, A., Alcantar-González, G., Baca-Castillo, G., y López-Romero, R. M. 2000. Niveles, críticos de suficiencia y toxicidad de N-NO₃ en el extracto celular de peciolas de tomate de cáscara. *Revista Terra* 182:141–146.
- Chattopadhyay, C., Kolte, S. J., and Waliyar, F. 2016. *Diseases of edible oilseed crops*. CRC Press Taylor and Francis group Boca Raton London, New York 421 p.
- Clafin, L. E., and Giorda, L. M. 2002. Stalk rots of sorghum. *In*: Leslie J. F. (ed.). *Sorghum and Millet Diseases*: Iowa State Press. Ames, USA. Cap. 33 pp: 185–190.
- De la Torre-Almaraz, R. 1996. Caracterización histológica y molecular de un complejo de virus en el tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en los valles altos de México. Tesis de Doctorado en Ciencias. Fitopatología. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Estado de México. 93 p.
- Dhingra, O. D., and Sinclair, J. B. 1973. Variation among isolates of *Macrophomina phaseoli* (*Rhizoctonia bataticola*) from different regions. *Journal of Phytopathology* 76:200–204.
- Domsch, K. H., Gams, W., and Anderson, T. H. 2007. *Compendium of soil fungi*. 2nd ed. IHW Verlag, Eching, Germany 672 p.
- Farr, D. F., Bill, S. G. F., Chamuris, G. P., and Rossman, A. Y. 1989. *Fungi on plants and plant production in the United States*. APS Press. St. Paul, Minn. 1252 p.
- Farr, D. F., and Rossman, A. Y. 2019. *Fungal Databases*, U.S. National Fungus Collections, ARS, USDA. Retrieved June 17, 2019, from <https://nt.ars-grin.gov/fungaldatabases/>.
- Félix-Gastélum, R., Ávila-Díaz, J. A, Valenzuela-Cota, B. O., Trigueros-Salmerón, J. A., y Longoria-Espinoza, R. M. 2007. Identificación y control químico de los agentes causales de la mancha foliar y la cenicilla del tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) en el norte de Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Fitopatología* 25:1–10.
- Gámez-Jiménez, C., Romero-Romero J. L., Santos-Cervantes, M. E., Leyva-López, N. E., and Méndez-Lozano, J. 2009. Tomatillo (*Physalis ixocarpa*) as a natural new host for *Tomato yellow leaf curl virus* in Sinaloa, Mexico. *Plant Disease* 93:545.
- Gao, H., Beckman, C. H., and Mueller, W. C. 1995. The rate of vascular colonization as a measure of the genotypic interaction between various cultivars of tomato and 64 various formae speciales of *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology* 46:29–43.

- Garcés Granada, E., Orozco Amézquita, M., Bautista, G. R., y Valencia, H. 2001. *Fusarium oxysporum* El hongo que nos falta conocer. Acta Biológica Colombiana 6:7–25.
- Gómez-Camacho, R., Rodríguez-Mendoza, M. N., Cárdenas-Soriano, E., Sandoval-Villa, M., y Colinas-León, M. T. 2006. Fertilización foliar con silicio como alternativa contra la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* (Sheld) en tomate de cáscara. Revista Chapingo Serie Horticultura 12:69–75.
- González, D. 2013. Identification, molecular characterization, and evolution of group I introns at the expansion segment D11 of 28S rDNA in *Rhizoctonia* species. Fungal Biology 117:623–637. <https://doi.org/10.1016/j.funbio.2013.06.006>.
- González-Pacheco, B. E., and Silva-Rosales, L. 2013. First report of *Impatiens necrotic spot virus* in Mexico in tomatillo and pepper plants. Plant Disease 97:1124.
- Gordon, T. R., and Martyn, R. D. 1997. The evolutionary biology of *Fusarium oxysporum*. Annual Review of Phytopathology 35:111–128.
- Gupta, G. K., Sushil, K. S., and Rajkumar R. 2012. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean (*Glycine max* (L.) Merrill). Journal of Phytopathology 160:167–180.
- Gutiérrez-Cedeño, B. J., Molina-Moret, S. L., Alvarado-Capó, Y., y Pérez- Martínez, S. 2014. Caracterización de aislados de *Macrophomina phaseolina* por su respuesta a diferentes potenciales osmóticos y mediante AFLP. Biotecnología Vegetal 14:45–53.
- Jarvis, W. R., and Thorpe, H. 1976. Susceptibility of *Lycopersicon* species and hybrids to the foot and root rot pathogen *Fusarium oxysporum*. Plant Disease Reports 60:1027–1031.
- Kaur, S., Dhillon, G. S., Brar, S. K., Vallad, G. E., Chand, R., and Chauhan V. B. 2012. Emerging phytopathogen *Macrophomina phaseolina*: biology, economic importance and current diagnostic. Trends Critical Reviews in Microbiology 38:136–151.
- Khan, S. N. 2007. *Macrophomina phaseolina* as causal agent for charcoal rot of sunflower. Mycopathology 5:111–118.
- Kranz, J. 1982. Enfermedades de los cultivos tropicales. Deuteromycotina. Primera edición. Paul Parey. Berlin y Hamburgo 213–214 p.
- Kuninaga, S., and Yokosawa, R. 1983. DNA base sequence homology in *Rhizoctonia solani* Kühn. III. Genetic relatedness within AG-3, AG-5 and AG-BI. Annual Phytopathology Society Japan 49:647–652.

- Laroche, J. P., Jabaji-Hare, S. H., and Charest, P. M. 1992. Differentiation of two anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* by isozyme analysis. *Phytopathology* 82:1387–1393.
- Leslie, J. F., and Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium laboratory manual*. Blackwell Publishing, Ames. 388 p.
- Leyva-Madriral, K. Y., Larralde-Corona, C. P., Apodaca-Sánchez, M. A., Quiroz-Figueroa, F. R., Mexia-Bolaños, P. A., Portillo-Valenzuela, S., Ordaz-Ochoa, J., and Maldonado-Mendoza, I. E. 2014. *Fusarium* Species from the *Fusarium fujikuroi* Species complex involved in mixed infections of maize in northern Sinaloa, Mexico. *Journal of Phytopathology* 163:486-497. <https://doi.org/10.1111/jph.12346>.
- Martínez-Fernández, E., Martínez-Jaimes, P., Guillén-Sánchez, D., Peña-Chora, G., y Hernández-Hernández, V. M. 2015. Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Micología* 42:33–43.
- Mauricio-Castillo, J. A., Reveles-Torres, L. R., Salas-Luévano, M. A., Franco-Bañuelos, A., Salas-Marina, M. A., and Salas-Muñoz, S. 2018. First report of ‘*Candidatus* Phytoplasma *trifolii*’-related strain associated with a new disease in tomatillo plants in Zacatecas, Mexico. *Plant Disease* 102:1653.
- McCabe, P. M., Gallacher, M. P., and Deacon, J. W. 1999. Evidence for segregation of somatic incompatibility during hyphal tip subculture of *Rhizoctonia solani* AG 4. *Mycological Research* 103:1323–1331.
- Michielse, C. B., and Rep, M. 2009. Pathogen profile update: *Fusarium oxysporum*. *Molecular Plant Pathology* 10:311–324. doi:10.1111/j.1364-3703.2009.00538.x
- Mihail, J. D. 1992. *Macrophomina*. In: L. L. Singleton, J. D. Mihail, and C. M. Rush (eds). *Methods for research on soil-borne phytopathogenic fungi*. American Phytopathological Society Press, St. Paul, MN p:134
- Moncayo-Pérez, C. D., Magaña-Lira, N., Peña-Lomelí, A., Leyva-Mir, S. G., Sahagún-Castellanos, J., and Pérez-Grajales, M. 2020. White smut (*Entyloma australe*) resistance in tomatillo (*Physalis* spp.) germplasm. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 26:65–77. doi: 10.5154/r.rchsh.2019.09.016.
- Nakamura, Y., Xu, X., Saito, Y., Tateish, I. T., Takahashi, T., Kawachi, Y., and Otsuka, F. 2007. Deep cutaneous infection by *Fusarium solani* in a healthy child: successful treatment with local heat therapy. *Journal of the American Academy of Dermatology* 56:873–877.
- Nalim, F. A., Samuels, G. J., Wijesundera, R. L., and Geiser, D. M. 2011. New species from the *Fusarium solani* species complex derived from perithecia and soil in the old world tropics. *Mycologia* 103:1302–1330.

- Nelson, P. E. 1981. Life cycle and epidemiology of *Fusarium oxysporum*. In: Mace M. E., Bell A. A., and Beckman C. H. (eds.). *Fusarium wilt diseases of plants*. Academic Press, New York. Cap. 3 pp: 51–80.
- Nelson, P. E., Dignani, M. C., and Anaissie, E. J. 1994. Taxonomy, biology, and clinical aspects of *Fusarium* species. *Clinical Microbiology Reviews* 7:479–505.
- Nelson, P. E, Toussoun, T. A., and Marasas, W. F. O. 1983. *Fusarium* species and illustrated manual for identification. The Pennsylvania University Press. 302p.
- O'Donnell K, Sutton, D. A., Wiederhold, N., Robert V. A. R. G., and Crous, P. W., and Geiser, D. M. 2016. Veterinary fusarioses within the United States. *Journal of Clinical Microbiology* 54:2813–2819.
- Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. *Annual Review of Phytopathology* 25:125–143.
- Parmeter, J. R. 1970. *Rhizoctonia solani*: biology and pathology. University of California Press. Berkeley 255 p.
- Peña-Lomelí, A., Ponce-Valerio, J. J., Sánchez-del Castillo, F., y Magaña-Lira, N. 2014. Desempeño agronómico de variedades de tomate de cáscara en invernadero y campo abierto. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34:381–391.
- Peña-Lomelí, A., y Santiaguillo-Hernández, J. F. 1999. Variabilidad genética del tomate de cáscara en México. *Boletín Técnico No. 3*. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México. 16 p.
- Reyes-Franco, M. C, Hernández-Delgado, S., Beas-Fernández, R., Medina-Fernández, M., Simpson, J., and Mayek-Pérez, N. 2006. Pathogenic and genetic variability within *Macrophomina phaseolina* from Mexico and other countries. *Journal of Phytopatology* 54:447–453.
- Samuels, G. J., and Blackwell, M. 2001. Pyrenomycetes fungi with perithecia. In: D. J. McLaughlin, E. G. McLaughlin, P. A. Lemke, (eds). *Systematics and evolution*. Springer-Verlag. Berlin Heidelberg. Vol. 7 pp: 221-250.
- Sandoval-Denis, M., and Crous, P. W. 2018. Removing chaos from confusion: assigning names to common human and animal pathogens in *Neocosmospora*. *Persoonia* 41:109–129.
- Santos-Cervantes, M. E., Chávez-Medina, J. A., Fierro-Coronado, J. A, Ruelas-Ayala, R. D., Barreras-Soto, M. A., Méndez-Lozano, J., and Leyva-López, N. E. 2006. First report of a *Candidatus* Phytoplasma *asteris* infecting tomatillo (*Physalis ixocarpa*) in Sinaloa, México. *New Disease Reports* 14:29.

- Schneider, R. W. 1994. Effects of nonpathogenic strains of *Fusarium oxysporum* on celery root infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* and a novel use of the lineweaver-Burk double reciprocal plot technique. *Phytopathology* 74:646–53.
- Singh, S. K., and Nene, Y. L. 1990. Cross inoculation studies on *Rhizoctonia bataticola* isolates from different crops. *Indian Phytopathology* 43:446–448.
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP) 2020. Anuario estadístico de la producción agrícola. Consultado 03/2020. <https://www.gob.mx/siap>.
- Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS Press. St. Paul, Minnesota. 133 p.
- Soto-Zarazúa G. M., Peña-Lomelí A., Santiaguillo-Hernández J. F., Rodríguez-Pérez J. E., y Palacios-Espinoza, A. 1998. Resistencia a *Fusarium* sp. de 95 colectas de tomate de cáscara (*Physalis* spp.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 4:51–55.
- Vilgalys, R., and González, D. 1990. Ribosomal DNA restriction fragment length polymorphisms in *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 80:151–158.
- Watanabe, T. 2002. Pictorial atlas of soil and seed fungi. Morphologies of cultures fungi and key to species. Second edition. CRC Press. New York. 500 p.
- Zhang, N., O'Donnell K., Sutton, D. A., Nalim, F. A., Summerbell, R. C., Padhye, A. A., and Geiser, D. M. 2006. Members of the *Fusarium solani* species complex that cause infections in both humans and plants are common in the environment. *Journal of Clinical Microbiology* 44:2186–2190.

CHAPTER 2. SOIL-BORNE FUNGI ASSOCIATED TO HUSK TOMATO WILT (*Physalis ixocarpa* Brot.) IN NORTHERN SINALOA

2.1. ABSTRACT

Wilt is one of the most important diseases of husk tomato (*Physalis ixocarpa* Brot.) in Sinaloa, México. Disease symptoms include root-neck rot, overall wilting, stunting, discoloration of vascular tissues, foliage sagging and death of plants. The objectives of this study were to determine pathogenicity and virulence as well as to identify fungal species associated to wilt disease of this crop in Sinaloa. 88 fungal isolates were obtained of symptomatic plants from 19 husk tomato fields of Sinaloa. They were morphologically identified and corresponded to *Fusarium*, *Macrophomina* and *Rhizoctonia* genera. Under greenhouse conditions, pathogenicity test was realized by inoculating seeds of husk tomato (cv. Gran Esmeralda) with mycelium or conidia of each isolate. Seedling emergence was measured at 9 days after planting (DAP), severity at 30 DAP (scale 0-5) and parameters of plant vigor. All isolates were pathogenic in seedlings, but their virulence differed significantly among them. Thereafter, a subgroup of 37 isolates with severity $\geq 50\%$ was selected for identification purpose. The specific fungal identity was determined by morphology and phylogenetic analysis: 14 of *Fusarium* (ITS and EF-1 α and sequence), five of *Macrophomina* (ITS, EF-1 α , BT and a set of data ACT); three of *Neocosmospora* and 15 of *Rhizoctonia* (both with ITS data sequence). Phylogenetic analysis of 37 isolates identified *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI (40.5%), *Fusarium oxysporum* (29.8%), *Macrophomina phaseolina* (13.5%), *F. nygamai* (8.1%) and *Neocosmospora falciformis* (8.1%). As far as it is known, *F. nygamai*, *M. phaseolina* and *N. falciformis* were registered for the first time as causal agents of wilt in husk tomato worldwide.

Keywords: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Neocosmospora*, pathogenicity, phylogeny

CAPÍTULO 2. HONGOS CON ORIGEN EN EL SUELO ASOCIADOS A LA MARCHITEZ EN TOMATILLO (*Physalis ixocarpa* Brot.) EN EL NORTE DE SINALOA

2.2. RESUMEN

La marchitez es una de las enfermedades más importantes del tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. Los síntomas se manifiestan como una pudrición de raíz, crecimiento reducido, decoloración de los tejidos vasculares, marchitez y muerte de las plantas. Los objetivos de este estudio fueron determinar la patogenicidad y virulencia, así como identificar a la (s) especie (s) de hongos asociados a la enfermedad de la marchitez del tomatillo, en Sinaloa. En 19 campos de tomatillo del norte de Sinaloa, de plantas sintomáticas se obtuvieron 88 aislados fúngicos, los cuales, identificados de forma preliminar por morfología, correspondieron a los géneros *Fusarium*, *Macrophomina* y *Rhizoctonia*. En invernadero, las pruebas de patogenicidad se realizaron inoculando semillas de tomatillo (cv. Gran Esmeralda) con micelio o conidios de cada uno de los aislados. A los 9 días después de la siembra (dds) se estimó la emergencia de las plántulas y 30 dds, los parámetros de vigor, así como la severidad (escala de 0-5). Todos los aislados resultaron patogénicos en plántulas de tomatillo, pero su virulencia varió de forma significativa entre ellos. Enseguida, se seleccionó un subgrupo de 37 aislados cuya severidad fue $\geq 50\%$, con fines de identificación. La identidad específica de los hongos, se determinó mediante morfología y con un análisis filogenético de Máxima Verosimilitud en los aislados: 14 de *Fusarium* (datos de secuencia ITS y EF-1 α); cinco de *Macrophomina* (ITS, EF-1 α , BT y conjunto de datos ACT); tres de *Neocosmospora* y 15 de *Rhizoctonia* (ambos con datos de secuencia ITS). Los análisis filogenéticos de los 37 aislados permitieron identificar a *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI (40.5%), *Fusarium oxysporum* (29.8%), *Macrophomina phaseolina* (13.5%), *F. nygamai* (8.1%) y *Neocosmospora falciformis* (8.1%). Hasta donde sabemos, *F. nygamai*, *M. phaseolina* y *N. falciformis* se registraron por primera vez como agentes causales de la marchitez de tomatillo en el mundo.

Palabras clave: *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Macrophomina*, *Neocosmospora*, patogenicidad, filogenia

2.3. INTRODUCCIÓN

El tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) también llamado tomate de cáscara (Peña-Lomelí, 2001), se cultiva en 25 estados de México, en una superficie de 39,865 ha sembradas. Sinaloa es el principal estado productor con 138,452 t, sobre una superficie cultivada aproximada de 6,114 ha, con un rendimiento promedio de 23 t ha⁻¹ (SIAP, 2020). Sin embargo, el potencial productivo es de 40 t ha⁻¹ (Peña-Lomelí, 2001) mediante la tecnología de producción convencional, aunque se estima que puede alcanzar 80 t ha⁻¹ mediante fertirriego (Castro-Brindis *et al.*, 2000).

En México, las plantas de tomatillo son afectadas por diversas especies de virus (De La Torre-Almaraz *et al.*, 2003; Gámez-Jiménez *et al.*, 2009; González-Pacheco y Silva-Rosales, 2013) fitoplasmas (Santos-Cervantes *et al.*, 2006; Mauricio-Castillo *et al.*, 2018), bacterias, hongos y nematodos (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008). Entre las enfermedades causadas por hongos destaca el carbón blanco (*Entyloma australe*) (Moncayo-Pérez *et al.*, 2020), mancha foliar (*Cercospora physalidis*), cenicilla (*Podosphaera xanthii*) (Félix-Gastélum *et al.*, 2017), mancha de la hoja (*Alternaria* sp.) (Soto-Zarazúa *et al.*, 1998) y la marchitez.

Los síntomas de la marchitez se manifiestan como amarillamiento del follaje y marchitez de la planta. Los frutos son flácidos y se desprenden con facilidad. Las raíces muestran una pudrición color café claro a café oscuro; pueden presentar tonos rosáceos, rojizos o violáceos que pueden extenderse hacia el cuello y base del tallo (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008). En estudios preliminares, esta enfermedad se ha asociado con hongos con origen en el suelo, como *Fusarium oxysporum*, *F. solani*, *Rhizoctonia solani*, *Pythium* sp., *Macrophomina phaseolina* y *Sclerotium rolfsii* (Apodaca-Sánchez, 2005). En Sinaloa en los últimos 15 años se ha observado la presencia de enfermedades en tomatillo, dentro de la que destaca la marchitez inducida por hongos que viven en el suelo, pero solo había observaciones y experiencias empíricas en las que los estudios de laboratorio señalaban una estrecha asociación de *Fusarium* y *Rhizoctonia* (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

En Sinaloa durante los últimos años se ha observado un incremento de las enfermedades como la marchitez con síntomas de amarillamiento del follaje, pudrición de raíz y muerte de plantas; sin embargo, se carece de información concerniente a su

incidencia, distribución e impacto. En muestreo realizado en una sola plantación (0.5 ha) del Valle del Fuerte, Sinaloa, a partir de plantas marchitas se logró aislar a *F. oxysporum*, *F. solani* y a *R. solani*, cuya patogenicidad fue comprobada de forma experimental y su identidad determinada solo mediante características morfométricas (Flores, 2009).

Los objetivos de este estudio fueron determinar la patogenicidad y virulencia, así como identificación morfológica y molecular, a la (s) especie (s) de hongos asociados a la enfermedad de la marchitez del tomatillo en Sinaloa.

2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

2.4.1. Obtención de aislados.

En cada una de 19 plantaciones de tomatillo, distribuidas en los municipios de Ahome, El Fuerte y Guasave, estado de Sinaloa, se colectaron siete plantas con síntomas de marchitez, durante los ciclos agrícolas otoño invierno 2015-2016 y 2016-2017. Trozos de raíz, cuello y base de tallo, se desinfectaron en NaClO 2% durante 30 s y enseguida se lavaron tres veces con agua destilada estéril. Los trozos se sembraron en cajas Petri con medio papa dextrosa agar (PDA), luego se incubó a temperatura ambiente (22-24 °C) y luz difusa, durante 48 h. Los aislados puros (88) se obtuvieron mediante transferencias de punta de hifa o cultivos monoconidiales (Fernández-Herrera *et al.*, 2013); con base en morfología se ubicaron en los géneros *Fusarium* (49 aislados), *Rhizoctonia* (23) y *Macrophomina* (16). Los aislados se preservaron a 4 °C; los monoconidiales (*Fusarium*) en tubos de cultivo con arena de río esterilizada, mientras que los monomiceliales (*Macrophomina* y *Rhizoctonia*) en tubos con PDA, cubiertos con aceite mineral.

2.4.2. Patogenicidad.

Los 88 aislados fúngicos se reactivaron mediante siembra en cajas Petri con PDA; se incubaron en laboratorio por cinco días en la oscuridad a 20-24 °C, con el fin de someterlos a pruebas de patogenicidad en invernadero. En cada maceta de poliestireno expandido (EPS) con capacidad de 500 mL, se depositaron 200 g de

sustrato estéril compuesto por arena de río y peat moss (1:3 v/v); sobre el sustrato se colocaron cuatro rodajas de PDA-hongo y sobre cada una de ellas se depositaron dos semillas de tomatillo cv. Gran Esmeralda (HM Clause[®]), con previa desinfección en NaClO 2% durante 60 s, seguido de lavado con agua destilada estéril. Las semillas sembradas se cubrieron con una capa aproximada de 2.0 cm del mismo sustrato. Cada maceta se cubrió con una tapa plástica perforada para mantener la humedad y permitir la ventilación. En el testigo, las semillas se sembraron sobre rodajas de PDA. Las macetas sembradas se incubaron durante cinco días a temperatura de laboratorio (20-24 °C). Enseguida, a las macetas con plántulas emergidas se les retiró la tapa y fueron llevadas al invernadero, donde se incubaron a 15-30 °C.

El porcentaje de emergencia se evaluó a los nueve días después de la siembra (dds); 30 dds se midió la altura de plántula, diámetro de tallo, volumen de raíz y peso seco de tallo y follaje. La severidad de los síntomas se estimó mediante la escala de Correll *et al.* (1986) modificada, con las siguientes categorías: 0= planta sana; 1= ligera decoloración de la raíz; 2= decoloración extensiva del tejido vascular de la raíz; 3= ligera pudrición de la raíz; 4= pudrición extensiva de la raíz; 5= semilla no germinada y/o planta muerta. La prueba de Shapiro y Wilk (1965) se utilizó para constatar la normalidad de los datos y la prueba de Bartlett para la homogeneidad de varianzas (Bartlett, 1937). El análisis de varianza fue no paramétrico y los datos se compararon con la prueba Conover (Conover *et al.* 1981) con un nivel de significancia ($P \leq 0.05$). En el caso de los valores promedio de severidad para cada tratamiento, cuando fue conveniente fueron convertidos a porcentaje, mediante simple regla de tres, tomando como 100% el valor máximo de la escala.

El análisis estadístico para todas las variables se realizó con el programa Infostat 2018 (Di Rienzo *et al.*, 2018). De cada uno de los tratamientos se tomaron trozos de raíz y cuello del tallo para reaislar al patógeno en PDA, observar sus características y cumplir con los postulados de Koch.

2.4.3. Caracterización morfológica

Los aislados de *Fusarium*, *Macrophomina* y *Rhizoctonia* que indujeron una severidad $\geq 50\%$ en las plántulas de tomatillo, se seleccionaron para identificarlos, con

base en su morfología, a nivel de especie. Los aislados se cultivaron en PDA con el fin de determinar el color del micelio (10 dds) y tasa de crecimiento de las colonias (cada 24 h hasta llenar la caja Petri). Los aislados monoconidiales de *Fusarium* spp. se sembraron en medio agar hoja de clavel (CLA), para determinar (10 dds) la forma, número de septos, largo y ancho de macroconidios y microconidios; tipo de fiálides y formación de clamidosporas (Leslie y Summerell, 2006; O'Donnell *et al.*, 2008).

En los aislados de *Macrophomina* sp. cultivados en PDA, se registró el ancho de micelio y diámetro de microesclerocios (Watanabe, 2002; Leyva-Mir *et al.*, 2015). En los aislados de *Rhizoctonia* sp. cultivados en PDA, también se registró el ancho del micelio y se buscó confirmar una constricción, cerca de la base de la ramificación de la hifa dispuesta en ángulo recto. En colonias de cinco días de crecimiento se tiñó el micelio con KOH 3% y safranina 'O' 0.03% y en 20 células se contabilizó el número de núcleos por célula de *Rhizoctonia* (Sneh *et al.*, 1991).

2.4.4. Extracción de ADN, amplificación por PCR y secuenciación.

La identificación molecular se realizó en 37 aislados fúngicos. La extracción de ADN fúngico se realizó con base en el protocolo de Rojas-Martínez *et al.* (2016), con modificaciones. El micelio aéreo de colonias de cinco días de edad, fue raspado en forma directa del medio, mediante una espátula estéril y fue colocado en microtubos de 2 mL. El ADN genómico total se extrajo utilizando el Mini Kit Plant Dneasy (Qiagen, Valencia, CA, USA) siguiendo los protocolos proporcionados por el fabricante. Las concentraciones de ADN se cuantificaron utilizando un Nanodrop One (Thermo Fisher Scientific, Madison, WI, EE.UU.) y las muestras se diluyeron a 100 ng μL^{-1} para la reacción en cadena de la polimerasa (PCR). La PCR se realizó para amplificar fragmentos de ADN en los hongos caracterizados. Para los aislados de *Fusarium* ($n = 17$), el gen de la traducción del factor de elongación 1-alfa (EF-1 α) fue amplificado con los cebadores EF1-728F/EF1-986R (Carbone y Kohn 1999). En el caso de los aislados de *Macrophomina* ($n = 5$), la región ITS y parte de EF-1 α , β -tubulina (BT2), y los genes de actina (ACT), se amplificaron mediante los cebadores ITS5/ITS4, EF1-688F/EF1-1251R (Alves *et al.*, 2008), Bt2A/Bt2B (Glass y Donaldson 1995) y ACT-512F/ACT-783R (Carbone y Kohn 1999), de forma respectiva. Para *Rhizoctonia* ($n = 15$), la región

del ADN ribosomal del espaciador transcrito interno (ITS) fue amplificada con el uso de los cebadores ITS5/ITS4 (White *et al.*, 1990).

Las amplificaciones de PCR se realizaron en un termociclador Bio-Rad CFX96 (Laboratorios Bio-Rad, Hércules, CA, USA), programado de manera diferente para cada juego de cebadores.

Los productos de la PCR fueron separados por electroforesis en geles de agarosa 1%, teñidos con bromuro de etidio y las imágenes fueron documentadas con el Gel Doc XR + System (Laboratorios Bio-Rad, Hércules, CA, USA). Los amplicones fueron purificados usando QIAquick PCR Purification Kit (Qiagen, Valencia, CA, USA) y ambos filamentos fueron secuenciados por Macrogen (Macrogen Inc., Seúl, Corea) en ambas direcciones, con los mismos cebadores que fueron usados para amplificación. Todas las secuencias generadas en este estudio fueron depositadas en el GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank).

2.4.5. Análisis filogenético

La identidad de los 37 aislados a nivel de especie, se obtuvo mediante análisis filogenéticos. La filogenia fue reconstruida mediante análisis de secuencias: EF-1 α para *Fusarium*; ITS, EF-1 α , BT2, y ACT para *Macrophomina* e ITS para *Rhizoctonia*. Las secuencias delanteras y reversas se montaron en el Staden Package (Staden *et al.*, 1998). Las alineaciones de secuencia múltiple para cada locus se realizaron de forma independiente con ClustalX v.1.83 (Thompson *et al.* 1997), con los siguientes parámetros: alineación de pares (apertura de brecha = 10; extensión de brecha = 0.1) y varios parámetros de alineación (apertura de brecha = 10, extensión de brecha = 0.2, peso de transición = 0.5, secuencias de retardo divergentes = 25%). Los alineamientos se ajustaron de forma manual cuando fue necesario. Los eventos de los indels (brechas) fueron considerados en el análisis filogenético (Young y Healy, 2003). En los análisis se incluyeron secuencias de nucleótidos de cepas de referencia para cada género obtenido de GenBank. La historia evolutiva fue inferida mediante el método de Máxima Verosimilitud y realizada con el programa MEGA 7 (Kumar *et al.*, 2016).

2.5. RESULTADOS

2.5.1. Patogenicidad.

De los 88 aislados inoculados en invernadero, 37 fueron los más virulentos, con criterio de severidad $\geq 50\%$; de éstos, 17 correspondieron a *Fusarium*, cinco a *Macrophomina* y 15 a *Rhizoctonia* (Cuadros 1, 2 y 3). Las plantas control se mantuvieron sanas hasta el final del ensayo (30 dds). Las características de los hongos reaislados coincidieron con los respectivos patógenos inoculados en las semillas.

Los síntomas inducidos por *Fusarium* fueron pudrición de semillas y raíces, desarrollo radical reducido, marchitez y muerte de plántulas (Figura 1A). No hubo diferencias estadísticas significativas en la emergencia de plántulas, altura de planta, diámetro de tallo (datos no mostrados), peso seco de tallo y follaje. En cuanto al volumen de raíz, los aislados F-131, 138, 139, 140, 141, 142, 143 y F-146 presentaron un menor volumen de raíz ($P \leq 0.05$) con respecto al testigo. En el testigo, la severidad fue diferente a los aislados fúngicos ($P \leq 0.05$), excepto F-132 que no tuvo la suficiente virulencia para diferenciarse del testigo (Cuadro 1).



Figura 1. Plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Gran Esmeralda, a los 30 días de la inoculación, con aislados obtenidos de plantas de tomatillo, procedentes de huertos del norte de Sinaloa. A) *Fusarium* F-141: pudrición de raíz y base del tallo de color café, clorosis y flacidez en las hojas; B) *Macrophomina* M-148: pudrición de raíz de color negro, desarrollo radical reducido; C) *Rhizoctonia* R-124: pudrición de raíz y tallo, ahorcamiento en base de tallo, de color café, clorosis.

Cuadro 1. Efecto de *Fusarium* spp. en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Gran Esmeralda bajo invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Volumen raíz		Peso seco		Severidad	
	(%)		(cm)		(mL)		(g)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-130	37.5	26.7	55.8	34.5	5.3	23.7 ^{ae}	0.5	37.5	3.1	37.0 ^b
F-131	29.2	20.0	46.0	23.7	4.7	21.7 ^{ad}	0.4	26.5	3.5	43.2 ^b
F-132	50.0	36.7	51.7	30.8	8.0	36.8 ^{ce}	0.5	40.8	2.5	26.8 ^{ab}
F-133	41.7	30.2	59.7	35.8	8.0	37.2 ^{ce}	0.4	26.7	2.9	33.8 ^b
F-134	25.0	17.3	49.3	29.0	7.3	33.0 ^{be}	0.5	35.7	3.8	46.2 ^b
F-135	33.3	24.2	49.5	27.7	8.3	38.7 ^{ce}	0.5	30.5	3.3	39.5 ^b
F-136	41.7	30.3	58.3	36.3	9.7	45.5 ^{de}	0.5	35.7	2.9	33.5 ^b
F-137	41.7	30.3	59.2	38.0	6.3	30.2 ^{be}	0.4	22.7	2.9	33.5 ^b
F-138	50.0	36.7	54.0	33.2	3.3	14.0 ^{ac}	0.5	37.5	2.7	30.2 ^b
F-139	45.8	33.0	35.2	20.7	2.7	10.3 ^{ab}	0.5	35.7	2.7	30.3 ^b
F-140	25.0	17.3	31.7	16.0	5.3	24.7 ^{ad}	0.3	12.5	4.0	49.0 ^b
F-141	41.7	29.8	39.3	22.5	3.3	13.7 ^{ac}	0.3	12.5	2.9	33.7 ^b
F-142	45.8	31.5	48.3	28.3	5.3	24.7 ^{ad}	0.4	27.2	2.7	32.2 ^b
F-143	25.0	17.3	29.5	14.8	2.7	10.3 ^{ab}	0.3	14.3	3.8	46.2 ^b
F-144	29.2	20.3	34.2	17.8	8.7	40.5 ^{de}	0.4	27.2	3.3	40.2 ^b
F-145	37.5	26.7	39.3	21.7	8.3	38.2 ^{ce}	0.3	16.3	3.1	36.8 ^b
F-146	20.8	13.7	15.8	11.2	0.8	3.8 ^a	0.2	8.3	4.4	54.0 ^b
Testigo	100.0	53.0	119.0	53.0	10.3	48.2 ^e	0.6	47.5	0.0	6.5 ^a
Media	40.0	27.5	48.7	27.5	6.0	27.5	0.4	27.5	2.6	32.0
C.V.	58.9	56.2	56.2	57.0	54.2	56.9	34.0	55.7	59.6	56.5

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis y comparación de medias con la prueba Conover con un nivel de significancia ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. Peso seco (tallo y follaje). * Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Columnas de medias que no muestran supra índices, no hubo diferencias significativas entre sí.

La identidad de los aislados de *Fusarium*, a nivel de género se determinó con en base a morfología. Después al correr las pruebas moleculares y los estudios de filogenia; se logró diferenciar de forma específica a *F. oxysporum* (F-

130,131,135,137,140,141,142,143,144,145 y F-146), *F. nygamai* (F-132,134 y F-138) y *Neocosmospora falciformis* (F- 133,136 y F-139)

Para el caso de *Macrophomina* se observó pudrición de semillas y raíces de color negro, mientras que el follaje presentó marchitez y una coloración que varió del amarillo al café, así como la muerte prematura de las plántulas (Figura 1C). En el porcentaje de emergencia de plántulas no se detectaron diferencias significativas con respecto al testigo (Cuadro 3). En la altura de planta, el testigo presentó diferencias ($P \leq 0.05$) con respecto a los aislados M-147, 149 y M-150, mientras que para el volumen de raíz este mismo se diferenció de los aislados M-147 y M-150. No hubo diferencias para la variable diámetro de tallo, entre aislados y el testigo (datos no mostrados). El peso seco de tallo y follaje mostró diferencia ($P \leq 0.05$) entre los aislados y el testigo, la mayor reducción de la biomasa la indujo el aislado M-150. En cuanto a severidad, todos los aislados fueron virulentos y diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 3).

Cuadro 2. Efecto de *Macrophomina phaseolina* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Gran Esmeralda bajo invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Volumen raíz		Peso seco		Severidad	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
M-147	58.3	8.8	46.0	5.3 ^a	4.3	6.7 ^a	0.3	5.5 ^{ab}	3.3	17.8 ^b
M-148	50.0	6.5	82.7	11.0 ^{ab}	6.7	10.2 ^{ab}	0.5	9.2 ^{ac}	2.7	14.7 ^b
M-149	45.8	6.0	62.3	7.7 ^a	6.3	9.3 ^{ab}	0.5	12.2 ^{bc}	2.7	15.8 ^b
M-150	70.8	11.0	44.2	4.0 ^a	1.7	2.8 ^a	0.2	3.0 ^a	4.6	22.0 ^b
M-151	54.2	7.7	82.5	12.0 ^{ab}	7.0	11.0 ^{ab}	0.5	12.0 ^{bc}	2.7	14.7 ^b
Testigo	100.0	17.0	119.0	17.0 ^b	10.3	17.0 ^b	0.6	15.2 ^c	0.0	5.0 ^a
C.V.	39.3	55.5	42.5	56.2	50.8	55.5	40.3	54.9	91.9	54.8

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis y comparación de medias con la prueba Conover con un nivel de significancia ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. Peso seco (tallo y follaje). * Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Columnas de medias que no muestran supra índices, no fueron significativamente diferentes entre sí.

Los aislados en estudio del género *Rhizoctonia* indujeron pudrición de semilla y raíces de color café; ahorcamiento en la base del tallo con desprendimiento de la epidermis; marchitez y clorosis en hojas y ramas; muerte prematura de plántulas (Figura 1B). El porcentaje de emergencia de plántulas fue nulo en los aislados R-115, 116, 118, 120, 122 y R-126, a diferencia de los aislados R-119 y 128 con media de 50%, mientras que en el testigo se registró 100% de emergencia de plántulas. Así también, para altura de planta, diámetro de tallo y volumen de raíz, hubo diferencias estadísticas significativas ($P \leq 0.05$) entre los aislados mencionados y el testigo. El peso seco de tallo y follaje mostró diferencia entre los aislados ($P \leq 0.05$) R-115, 116, 118, 120, 122, 126, 125 y R-127, con respecto al testigo. En cuanto a la severidad, 12 aislados mostraron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) con respecto al testigo (Cuadro 2).

2.5.2. Caracterización Morfológica.

De los 37 aislados más virulentos, 17 correspondieron a *Fusarium*, con los cuales se formaron tres grupos con base en características morfológicas y culturales. Para el crecimiento micelial de *Fusarium* no hubo diferencias significativas (datos no mostrados) entre los 17 aislados. El grupo A conformado por 11 aislados, en PDA presentó crecimiento micelial promedio de 2.0 cm por día, así como colonias de color violeta, púrpura y rosácea por la parte superior. En CLA se observaron microconidios ovales con una o dos células que midieron $5.0-9.0 \times 3.0-4.0 \mu\text{m}$; macroconidios en forma de canoa con cuatro células que midieron $20-41 \times 3.0-5.0 \mu\text{m}$, con tres septos transversales. Las monofiálides fueron cortas y las clamidosporas eran individuales y globosas (Figura 2), características propias de *F. oxysporum* (Leslie y Summerell, 2006).

El grupo B, representado por tres aislados, en PDA presentó colonias color blanco a gris y rosáceo al centro, con un crecimiento micelial promedio de 2.0 cm por día; en CLA desarrollaron microconidios ovales de una o dos células que midieron $4.0-13 \times 1.6-5.7 \mu\text{m}$; macroconidios ligeramente curvados de $10.5-53 \times 1-8 \mu\text{m}$ con tres septos transversales; monofiálides cortas y clamidosporas globosas

individuales o en pares (Figura 3), características reportadas para *F. nygamai* (Leslie y Summerell, 2006).

Cuadro 3. Efecto de *Rhizoctonia* sp. en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Gran Esmeralda bajo invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Volumen raíz		Peso seco		Severidad	
	%		(cm)		(mL)		(g)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	0.0	4.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.5 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	53.5 ^b
R-116	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.5 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	53.5 ^b
R-117	16.7	32.3 ^{ac}	30.0	33.0 ^{ac}	3.7	33.7 ^{ac}	0.5	39.5 ^{bc}	4.2	35.7 ^b
R-118	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.5 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	53.5 ^b
R-119	50.0	40.3 ^{bc}	76.3	42.3 ^{bc}	6.7	39.7 ^{bc}	0.4	37.7 ^{bc}	2.5	27.7 ^{ab}
R-120	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.5 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	53.5 ^b
R-121	8.3	25.0 ^{ac}	14.2	24.0 ^{ac}	2.7	28.0 ^{ac}	0.1	24.0 ^{ac}	4.6	42.8 ^b
R-122	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	14.5 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	53.5 ^b
R-123	37.5	32.7 ^{ac}	45.2	32.0 ^{ac}	3.3	25.0 ^{ac}	0.3	30.5 ^{ac}	3.1	35.2 ^b
R-124	4.2	19.5 ^{ab}	9.8	20.3 ^{ab}	0.7	20.2 ^{ab}	0.2	24.5 ^{ac}	4.8	48.2 ^b
R-125	8.3	21.3 ^{ab}	10.7	20.7 ^{ab}	2.7	23.8 ^{ab}	0.1	21.2 ^{ab}	4.6	46.3 ^b
R-126	0.0	14.0 ^a	0.0	14.0 ^a	0.0	4.5 ^a	0.0	14.0 ^a	5.0	53.5 ^b
R-127	8.3	21.3 ^{ab}	11.8	21.0 ^{ab}	2.7	23.2 ^{ab}	0.1	21.2 ^{ab}	4.6	46.3 ^b
R-128	50.0	41.7 ^{bc}	68.3	41.7 ^{bc}	6.7	39.2 ^{bc}	0.4	37.7 ^{bc}	2.5	26.3 ^{ab}
R-129	12.5	26.8 ^{ac}	21.7	26.7 ^{ac}	1.0	25.0 ^{ac}	0.2	26.2 ^{ac}	2.7	27.0 ^{ab}
Testigo	100.0	47.0 ^c	119.0	46.3 ^c	10.3	46.7 ^c	0.6	45.7 ^c	0.0	11.5 ^a
C.V.	160.8	51.7	147.3	51.8	143.4	51.1	124.5	51.6	77.5	54.4

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Análisis de varianza no paramétrico de Kruskal-Wallis y comparación de medias con la prueba Conover con un nivel de significancia ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. Peso seco (tallo y follaje). * Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación.

El grupo C, también con tres aislados, formó colonias color amarillento a café oscuro con crecimiento promedio de 2.0 cm por día (PDA); en CLA presentaron microconidios ovales con una o dos células con variación en tamaño de 6.0-21 × 2.0-

5.0 μm ; macroconidios ligeramente curvados con tres septos y medidas de 23-37 \times 4.5-5.0 μm , monofiálides relativamente largas; clamidosporas globosas de una o dos células (Figura 4), características similares a *Neocosmospora falciformis*, sinónimo de *F. falciforme* (Sousa *et al.*, 2017).

Los cinco aislados de *Macrophomina*, en PDA, presentaron hifas hialinas en un principio que luego se tornaron oscuras; desarrollaron microesclerocios negros y globosos de forma irregular, con diámetro de 13 a 40 μm (Figura 5), característico de *M. phaseolina* (Watanabe, 2002).

Quince aislados del género *Rhizoctonia* desarrollaron colonias color café claro a marrón y crecimiento micelial medio de 2.0 cm por día (PDA). El micelio presentó ramificaciones con célula basal de la hifa constreñida, la cual formó un ángulo recto de 90°, dando una apariencia de "T". El micelio teñido mostró hifas multinucleadas, que midieron de 5-11 μm de ancho (Figura 6), propias de *R. solani* (Sneh *et al.*, 1996).

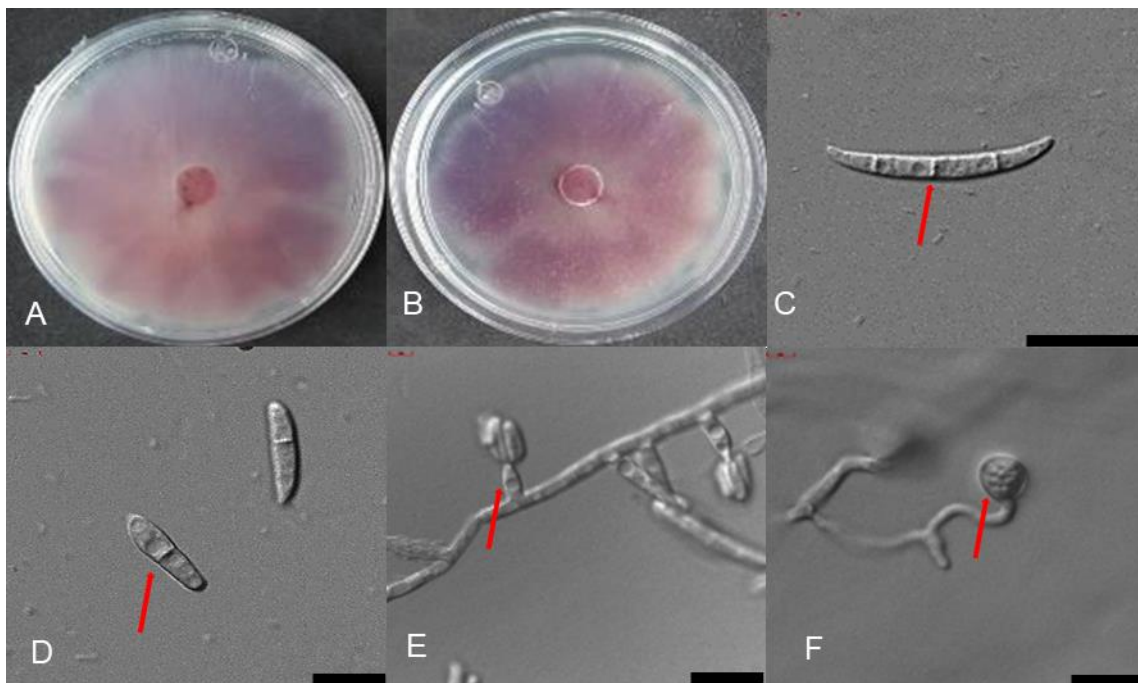


Figura 2. Aislado de *Fusarium oxysporum* F-145 obtenido de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez. A y B) colonia color violeta desarrollada sobre medio de cultivo PDA. Estructuras desarrolladas sobre medio CLA; C) macroconidios en forma de canoa con tres septos, 20 μm ; D) microconidios ovales con un septo, 7.5 μm ; E) fiálide corta con presencia de microconidios; F) clamidospora globosa, individual, rugosa y unicelular, 5 μm .

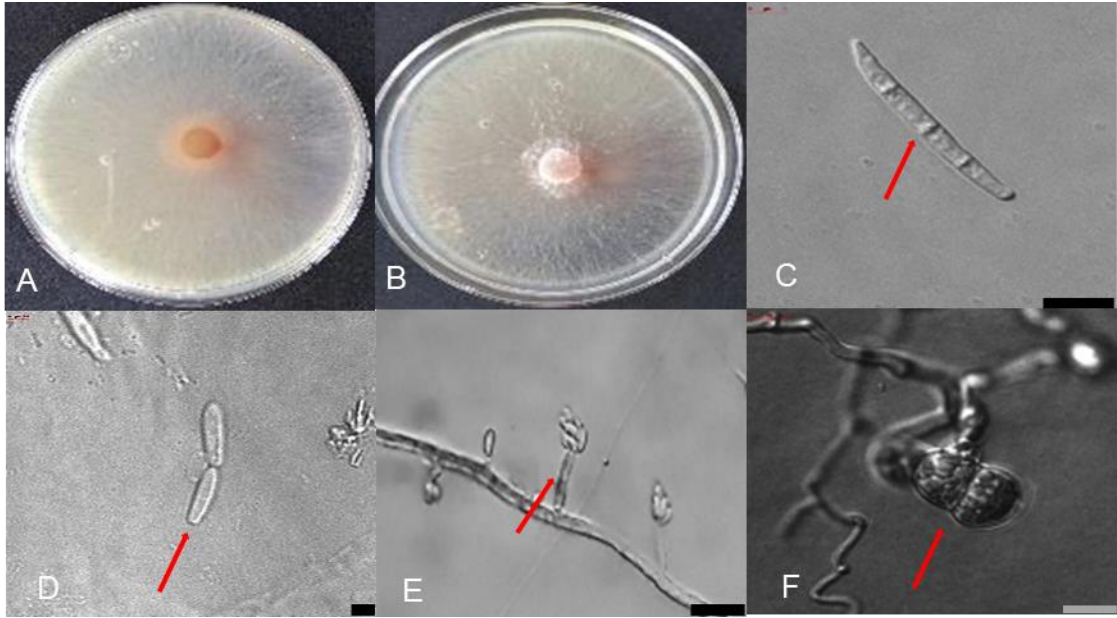


Figura 3. Aislado de *Fusarium nygamai* F-138 obtenido de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez. A y B) Colonia color blanco a gris y rosácea desarrollada en PDA; estructuras desarrolladas sobre medio CLA; C) macroconidios septados, semicurvado, 7.5 μm ; D) microconidios ovales con uno o ningún septo, 2.5 μm ; D) monofiálide corta, 5 μm ; F) clamidospora rugosa, bicelular.

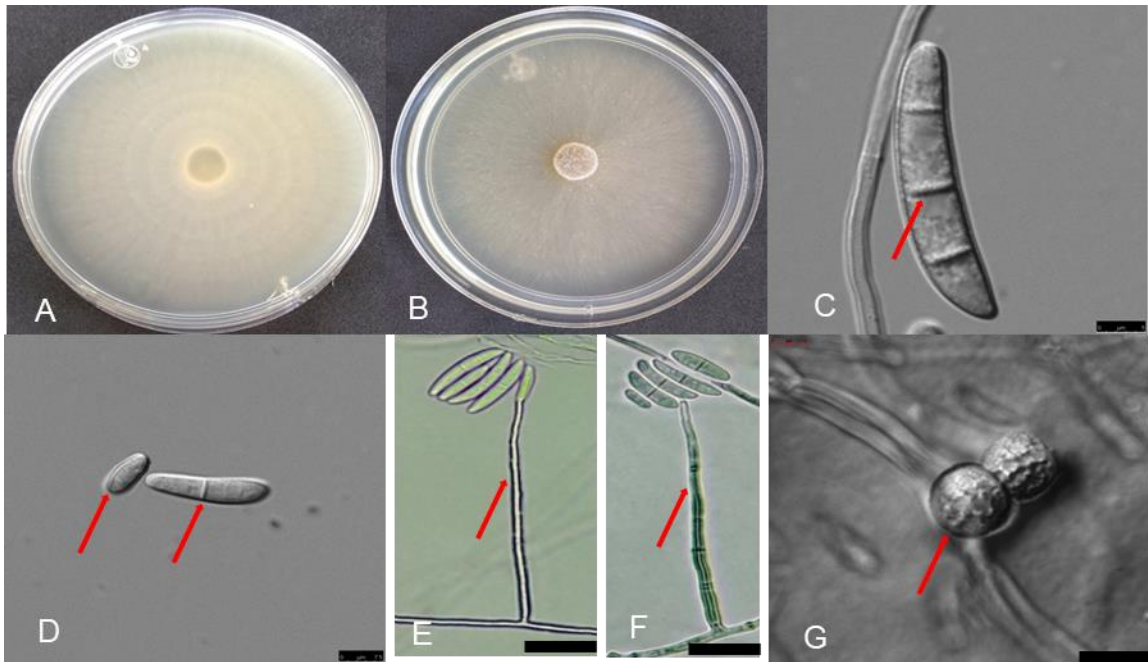


Figura 4. Aislado de *Fusarium falciforme* F-133 obtenido de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez. A y B) Colonia de color amarillo a café oscuro desarrollada en PDA; estructuras desarrolladas en CLA; C) macroconidios ligeramente curvos con tres septos, 5 μm ; D) microconidios ovales de cero a un septo; E y F) monofiálide larga; G) clamidospora globosa, rugosa y bicelular; C-D) escala de referencia = 7.5 μm .

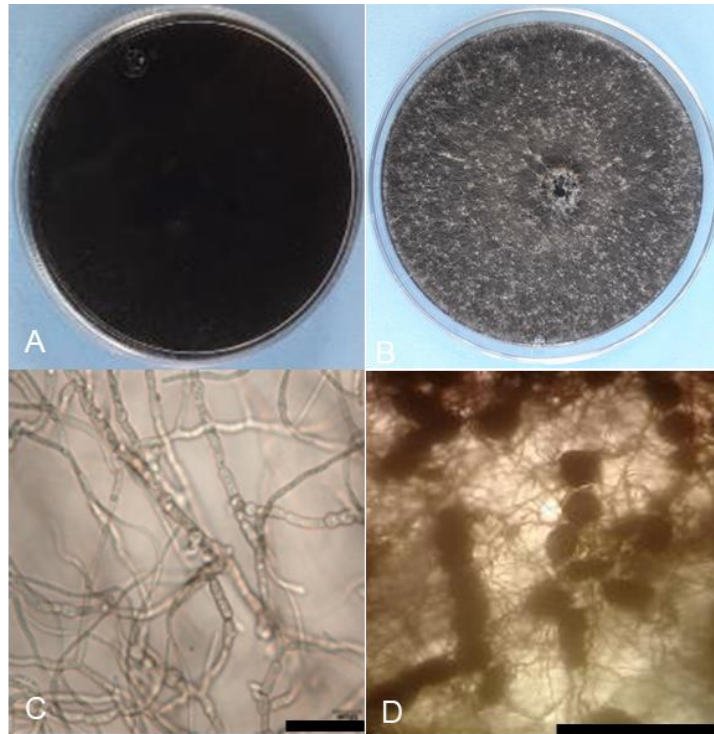


Figura 5. Aislado M-150 de *Macrophomina phaseolina* obtenido de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez. A y B) Colonia color negro y estructuras desarrolladas en medio PDA; C) micelio septado, 10 μm ; D) microesclerocios de color negro. Escala de referencia 200 μm .

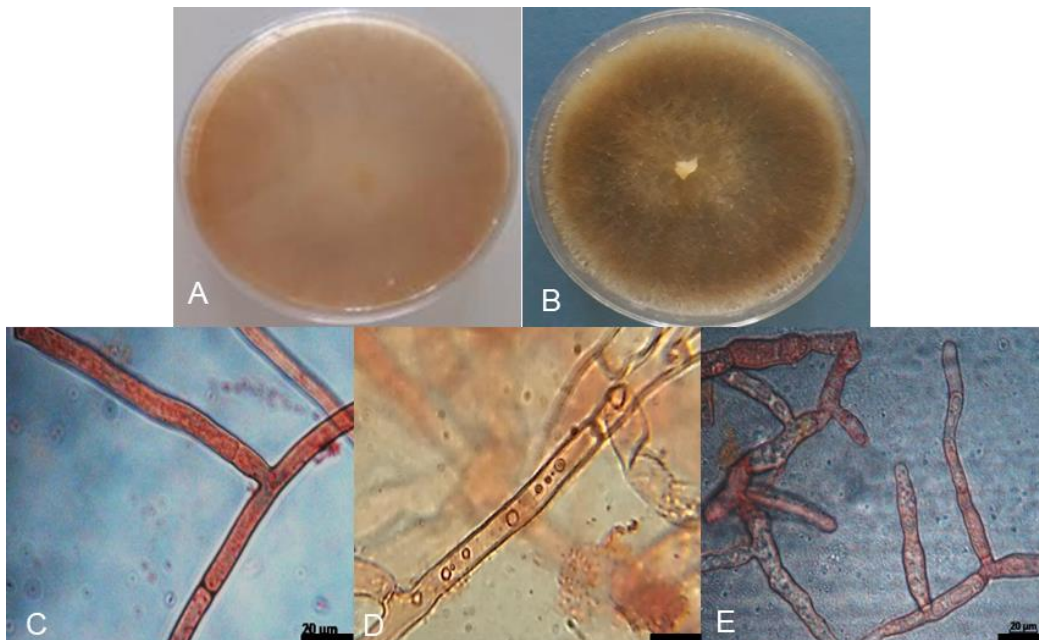


Figura 6. Aislado de *Rhizoctonia solani* R-124 obtenido de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez. A y B) Colonia color café marrón desarrollada en PDA. Estructuras desarrolladas en medio PDA; C) hifas jóvenes septadas dispuestas en ángulo de 90 °C; D) hifa multinucleada; E) micelio septado. Escala de referencia 20 μm .

2.5.3. Secuenciación

Secuencias generadas de los aislados en este estudio que fueron depositadas en el GenBank (Cuadro 4).

Cuadro 4. Número de accesión del GenBank de secuencias de ADN en aislados fúngicos incluidos en los análisis filogenéticos. Las secuencias recién depositadas correspondientes al presente trabajo, se muestran en negrita.

	Código de aislado	Cultivo	País	Numero de acceso GenBank			
				ITS	EF1	BT	ACT
<i>B. dothidea</i>	CMW8000	<i>Prunus</i> sp.	Suiza	AY236949	AY236898	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF145	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270358	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF146	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270362	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF144	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270361	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF143	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270360	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF142	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270359	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF141	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270357	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF140	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270356	----	----
<i>F. oxysporum</i>	NRRL26406	<i>Cucumis melo</i>	----	----	AF008504	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF130	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270352	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF131	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270353	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF135	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270354	----	----
<i>F. oxysporum</i>	NRRL38445	<i>Solanum lycopersicum</i>	USA	----	FJ985395	----	----
<i>F. oxysporum</i>	NRRL26381	<i>Solanum lycopersicum</i>	----	----	AF008510	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF137	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270355	----	----

<i>F. pseudocircinatum</i>	NRRL22946	Desconocido	----	----	AF160271	----	----
<i>F. nygamai</i>	FRC M1374	Sorghum	Australia	----	AY337445	----	----
<i>F. nygamai</i>	FAVF138	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270365	----	----
<i>F. nygamai</i>	NRRL52708	Desconocido	----	----	JF740790	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF132	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270363	----	----
<i>F. oxysporum</i>	FAVF134	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	----	MN270364	----	----
<i>G. cicatricum</i>	CBS125552	<i>Buxus sempervirens</i>	Eslovenia	HQ728145	HM626644	----	----
<i>N. ambrosium</i>	NRRL20438	<i>Camellia sinensis</i>	India	AF178397	AF178332	----	----
<i>N. ambrosium</i>	NRRL22346	<i>Camellia sinensis</i>	India	EU329669	FJ240350	----	----
<i>N. cyanescens</i>	CBS518.82	Pie humano	Holanda	EU329684	FJ240353	----	----
<i>N. falciformis</i>	FAVF133	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MT151681	MN270366	----	----
<i>N. falciformis</i>	FAVF136	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MT151682	MN270367	----	----
<i>N. falciformis</i>	FAVF139	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MT151683	MN270368	----	----
<i>N. falciformis</i>	NRRL32542	Ojo humano	India	----	DQ247008	----	----
<i>N. falciformis</i>	CBS475.67	Humano	Puerto Rico	MG18993	LT906669	----	----
<i>N. falciformis</i>	CBS318.73	<i>Trichosanthes dioica</i>	India	JX435208	JX435158	----	----
<i>N. falciformis</i>	NRRL43441	Ojo humano	USA	DQ790522	DQ790478	----	----
<i>N. falciformis</i>	NRRL32928	Ojo humano	USA	DQ094630	DQ247176	----	----
<i>N. illudens</i>	NRRL22090	<i>Beilschmiedia tawa</i>	Nueva Zelanda	AF178393	AF178326	----	----
<i>N. keratoplastica</i>	CBS490.63	Humano	Japón	----	LT906670	----	----
<i>N. keratoplastica</i>	NRRL43373	Lentes de contacto	Malasia	EF453072	EF452920	----	----
<i>N. keratoplastica</i>	NRRL43458	Humano	Singapur	EU329686	DQ790511	----	----

<i>N. lichenicola</i>	NRRL34123	Ojo humano	India	DQ094645	DQ247192	----	----
<i>N. macrospora</i>	CBS142424	<i>Citrus sinensis</i>	Italia	LT746266	LT746218	----	----
<i>N. macrospora</i>	CPC28192	<i>Citrus sinensis</i>	Italia	LT746267	LT746219	----	----
<i>N. perseae</i>	CBS144142	<i>Persea americana</i>	Italia	LT991940	LT991902	----	----
<i>N. perseae</i>	CBS144143	<i>Persea americana</i>	Italia	LT991941	LT991903	----	----
<i>N. plagianthi</i>	NRRL22632	<i>Hoheria glabrata</i>	Nueva Zelanda	AF178417	AF178354	----	----
<i>N. pseudensiformis</i>	NRRL22354	Corteza	Guyana Francesa	AF178402	AF178338	----	----
<i>N. solani</i>	NRRL32741	Ojo humano	USA	DQ094522	DQ247061	----	----
<i>N. solani</i>	CBS140079	<i>Solanum tuberosum</i>	Eslovenia	KT313633	KT313611	----	----
<i>N. suttoniana</i>	CBS124892	Uña humana	Gabón	JX435189	JX435139	----	----
<i>N. suttoniana</i>	NRRL32316	Ulceras corneal humana	USA	DQ094413	DQ246944	----	----
<i>N. suttoniana</i>	CBS143214	Herida humana	USA	DQ094617	DQ247163	----	----
<i>N. suttoniana</i>	NRRL28001	Piel humana	USA	DQ094348	DQ246866	----	----
<i>N. vasinfecta</i>	CBS130182	Humano	USA	EF453092	EF452940	----	----
<i>R. solani</i> AG4 HGI	FAVF125	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264610	----	----	----
<i>R. solani</i> AG4 HGI	FAVF124	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264611	----	----	----
<i>R. solani</i> AG4 HGI	FAVF128	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264609	----	----	----
<i>R. solani</i> AG4 HGI	FAVF120	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264608	----	----	----
<i>R. solani</i> AG4 HGI	FAVF118	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264607	----	----	----
<i>R. solani</i> AG4 HGI	FAVF116	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264606	----	----	----
<i>R. solani</i> AG4 HGI	FAVF115	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264605	----	----	----
<i>R. solani</i> AG4 HGI	FAVF126	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264612	----	----	----

<i>R. solani</i> AG4 HGI	FAVF127	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264613	----	----	----
<i>R. solani</i> AG4 HGI	FAVF129	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264614	----	----	----
<i>R. solani</i> 4 HGI	FAVF117	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264600	----	----	----
<i>R. solani</i> 4 HGI	FAVF119	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264601	----	----	----
<i>R. solani</i> 4 HGI	FAVF121	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264602	----	----	----
<i>R. solani</i> 4 HGI	FAVF122	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264603	----	----	----
<i>R. solani</i> 4 HGI	FAVF123	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN264604	----	----	----
<i>R. solani</i> 4 HGI	CIMAP:Pyr	Pyrethrum	India	KU253633	----	----	----
<i>R. solani</i> 4 HGI	NPC-03-1	<i>Beta vulgaris</i>	China	EF679777	----	----	----
<i>R. solani</i> 4 HGII	F5	<i>Beta vulgaris</i>	USA	FJ492064	----	----	----
<i>R. solani</i> 4 HGII	F6	<i>Beta vulgaris</i>	USA	FJ492065	----	----	----
<i>R. solani</i> 4 HGIII	Rs20	Strawberry	Israel	DQ102449	----	----	----
<i>R. solani</i> 4 HGIII	Rh-81	<i>Solanum tuberosum</i>	Sudáfrica	KF712285	----	----	----
<i>Athelia rolfsii</i>	FSR-052	Lirio	Taiwán	AY684917	----	----	----
<i>M. phaseolina</i>	FAVF147	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN268731	MN270369	MN270374	MN270379
<i>M. phaseolina</i>	FAVF148	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN268732	MN270370	MN270375	MN270380
<i>M. phaseolina</i>	FAVF149	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN268733	MN270371	MN270376	MN270381
<i>M. phaseolina</i>	CPC21420	<i>Vigna unguiculata</i>	Senegal	KF951717	KF952088	KF952178	KF951857
<i>M. phaseolina</i>	CPC21416	<i>Arachis hypogaea</i>	Senegal	KF951715	KF952086	KF952176	KF951855
<i>M. phaseolina</i>	FAVF151	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN268735	MN270373	MN270378	MN270383
<i>M. phaseolina</i>	CBS205.47	<i>Phaseolus vulgaris</i>	Italia	KF951622	KF951997	----	KF951804
<i>M. phaseolina</i>	FAVF150	<i>Physalis ixocarpa</i>	México	MN268734	MN270372	MN270377	MN270382

<i>M. pseudophaseolina</i>	CPC21403	<i>Arachis hypogaea</i>	Senegal	KF951790	KF952152	KF952232	KF951917
<i>M. pseudophaseolina</i>	CPC21417	<i>Arachis hypogaea</i>	Senegal	KF951791	KF952153	KF952233	KF951918
<i>M. pseudophaseolina</i>	CPC21502	<i>Hibiscus sabdarifa</i>	Senegal	KF951797	KF952159	KF952239	KF951924
<i>M. euphorbicola</i>	CMM4045	<i>Jatropha gossypifolia</i>	Brasil	KU058928	KU058898	MF457657	MF457654
<i>M. euphorbicola</i>	CMM4134	<i>Ricinus communis</i>	Brasil	KU058936	KU058906	MF457658	MF457655
<i>M. euphorbicola</i>	CMM4145	<i>Ricinus communis</i>	Brasil	KU058937	KU058907	MF457659	MF457656
<i>M. vaccinii</i>	CGMCC 3.19503	<i>Vaccinium</i> spp.	China	MK687450	MK687426	MK687434	MK687442
<i>M. vaccinii</i>	CGMCC 3.19506	<i>Vaccinium</i> spp	China	MK687453	MK687429	MK687437	MK687445
<i>M. vaccinii</i>	CGMCC 3.19510	<i>Vaccinium</i> spp.	China	MK687457	MK687433	MK687441	MK687449

^aCMW = Instituto de Silvicultura y Biotecnología Agrícola, Universidad de Pretoria Sudáfrica; CCM= Colección de Cultivos de Hongos Fitopatógenos Profesora María Menezes', Universidad Federal Rural de Pernambuco, Recife, Brasil; FAVF = Colección de Cultivos de Hongos Fitopatógenos de la Facultad de Agricultura del Valle Fuerte, Universidad Autónoma de Sinaloa, Sinaloa, México; NRRL= Colección de cultivos de Investigación Agrícola (Centro Nacional de Investigación Agrícola, Peoria, IL, EE.UU.); CBS = Central bureau voor Schimmelcultures, Utrecht, Netherlands; CGMCC = Centro General de Recolección de Cultivos Microbiológicos de China, Beijing, China.

2.5.4. Análisis filogenético

Los análisis filogenéticos se infirieron mediante el criterio de Máxima Verosimilitud, ya que proporciona suficiente información para distinguir las especies de *Fusarium*, *Rhizoctonia*, *Neocosmospora* y *Macrophomina* que están asociadas a la marchitez de tomatillo en el norte de Sinaloa. El conjunto de datos de los aislados de *Fusarium* incluyó 23 taxones, incluidos tres de grupos salientes. Los análisis de la Máxima Verosimilitud mediante las secuencias del gen EF-1 α resultaron en tres clados bien soportados, correspondientes a la especie de *Fusarium*. En el primer clado 11 aislados (FAVF130, 131, 135, 137, 140, 141, 142, 143, 144, 145 y FAVF136) se agruparon con *F. oxysporum* [Agricultural Research Service Culture Collection, Philadelphia, USA (NRRL) 26406, 26381, y 38445], con 100% de soporte de arranque.

En el segundo clado tres aislados (FAVF132, 134 y FAVF138) se agruparon con *Fusarium nygamai* [NRRL52708 y Fusarium Research Center, Pennsylvania State University, USA (FRC) M1374], con 99% de soporte de arranque.

En el árbol filogenético generado con las secuencias del gen EF-1 α de los aislados de *Neocosmospora*, compuesto de 29 taxones (incluyendo 1 taxón de grupo), los tres aislados obtenidos en ese estudio agrupados con aislados de *N. falciformis* (NRL32542, CBS 47567 y CBS 31873) con más del 88% de soporte de arranque (Figura 7).

Los cinco aislados de *Macrophomina* (FAVF147, 148, 149, 150 y FAVF140) se agruparon con *M. phaseolina* [Culture Collection of Pedro Crous, housed at Utrecht, The Netherlands (CPC) 21416 y 21420, y Centraalbureau voor Schimmelcultures, Utrecht, The Netherlands (CBS) 20547, 26381 y 38445], con 99% de soporte (Figura 8).

El análisis filogenético de la región ITS permitió la identificación de los aislados de *Rhizoctonia*. Los conjuntos de datos utilizados para el análisis filogenético de los aislados de *Rhizoctonia* consistieron en 75 taxones para *R. solani* y 76 taxones para *Rhizoctonia* binucleada (incluyendo un taxón de grupo saliente). Todos los aislados pertenecieron al grupo AG-4HGI (Figura 9). Para los análisis filogenéticos de aislados de *Macrophomina*, el conjunto de datos de ITS, EF-1 α , BT y ACT combinados consistieron en 15 taxones incluyendo un taxón fuera del grupo. La alineación contenía

1883 caracteres, de los cuales 309 correspondieron con el gen EF-1 α , 674 con el gen BT, 288 con el gen ACT, y 611 con la región ITS.

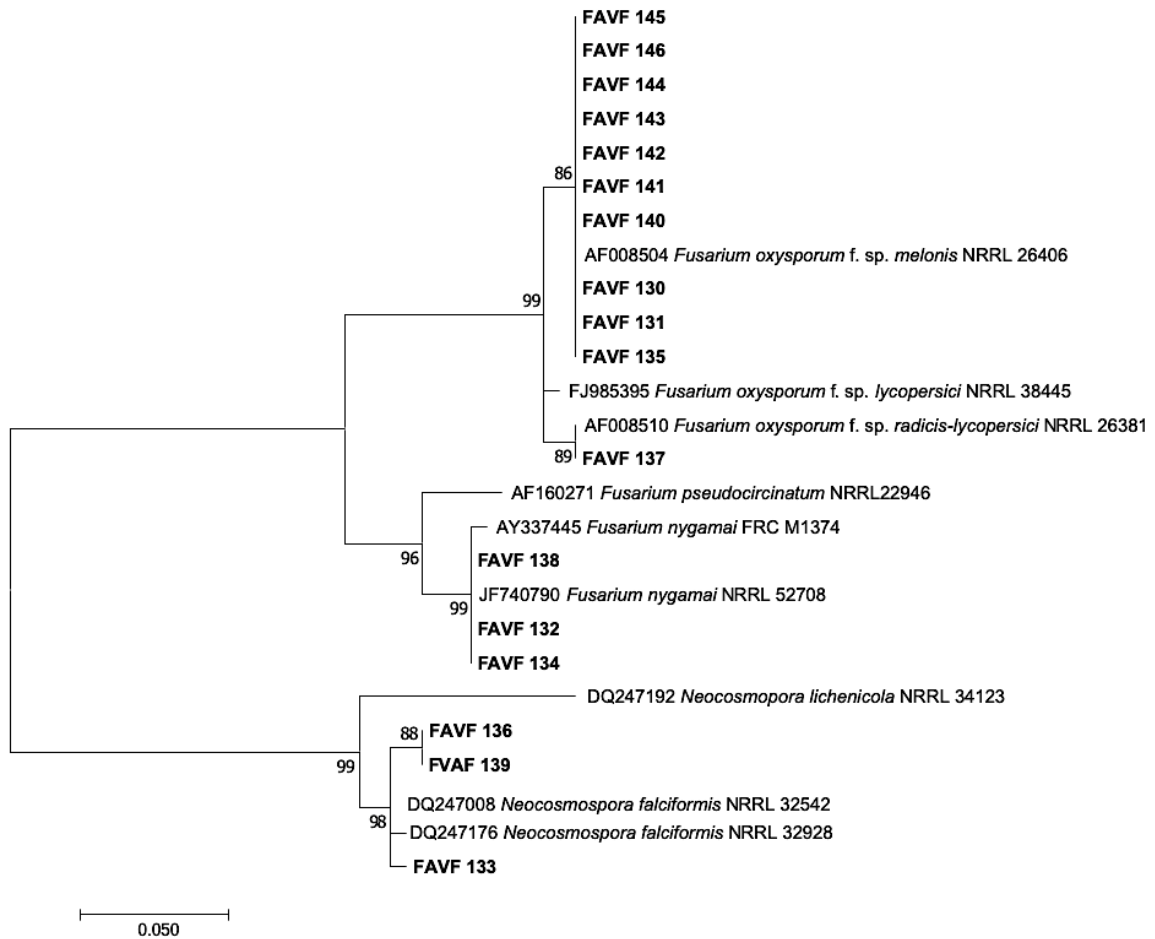


Figura 7. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud, generado a partir del análisis del conjunto de datos de secuencias del gen EF-1 α de las especies *Fusarium* y *Neocosmospora*. Los valores de soporte Bootstrap para Máxima Verosimilitud se indican en los nodos. Las cepas *Fusarium pseudocircinatum* y *Neocosmospora lichenicola* NRRL34123 se utilizaron como grupo externo. Los aislados en este estudio están en negrita. La barra de escala indica el número de cambios esperados por sitio.

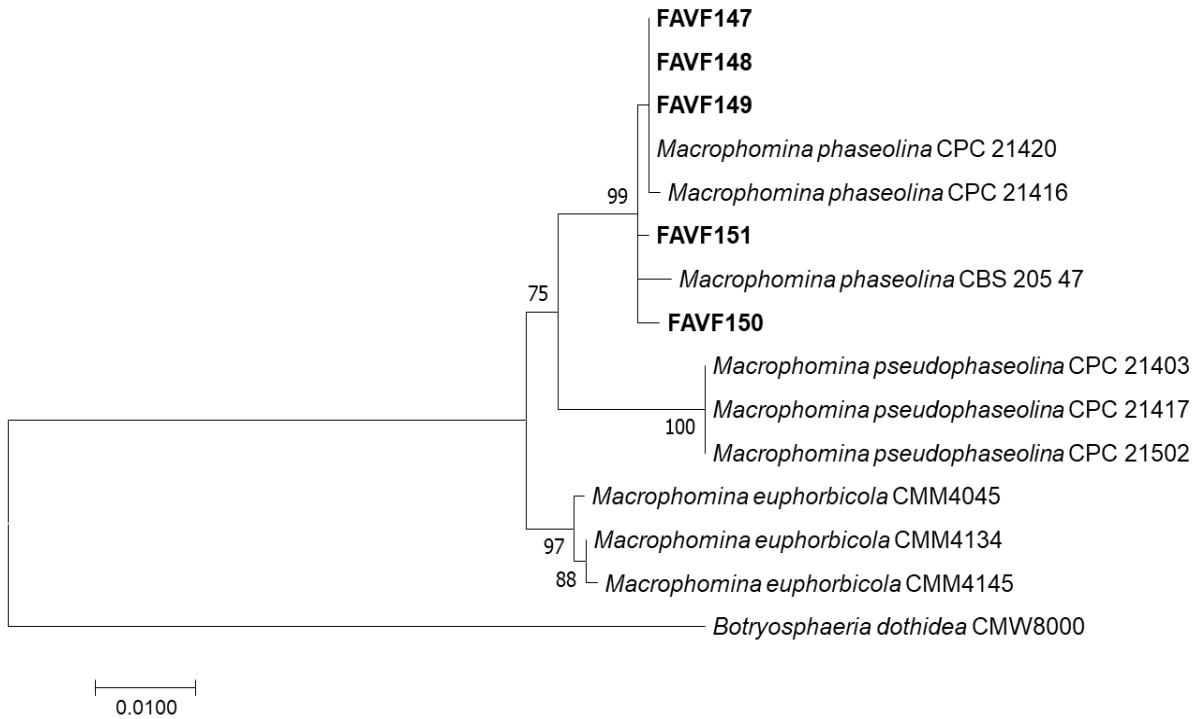


Figura 8. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud, generado a partir de la combinación de la alineación de secuencias ITS, EF-1 α , BT y ACT de especies de *Macrophomina*. Los valores de soporte Bootstrap para Máxima Verosimilitud se indican en los nodos. Los aislados que corresponden a este estudio se presentan en letra negrita. *Botryosphaeria dothidea* cepa CMW8000 se utilizó como grupo externo. La barra de escala indica el número de cambios esperados por sitio.

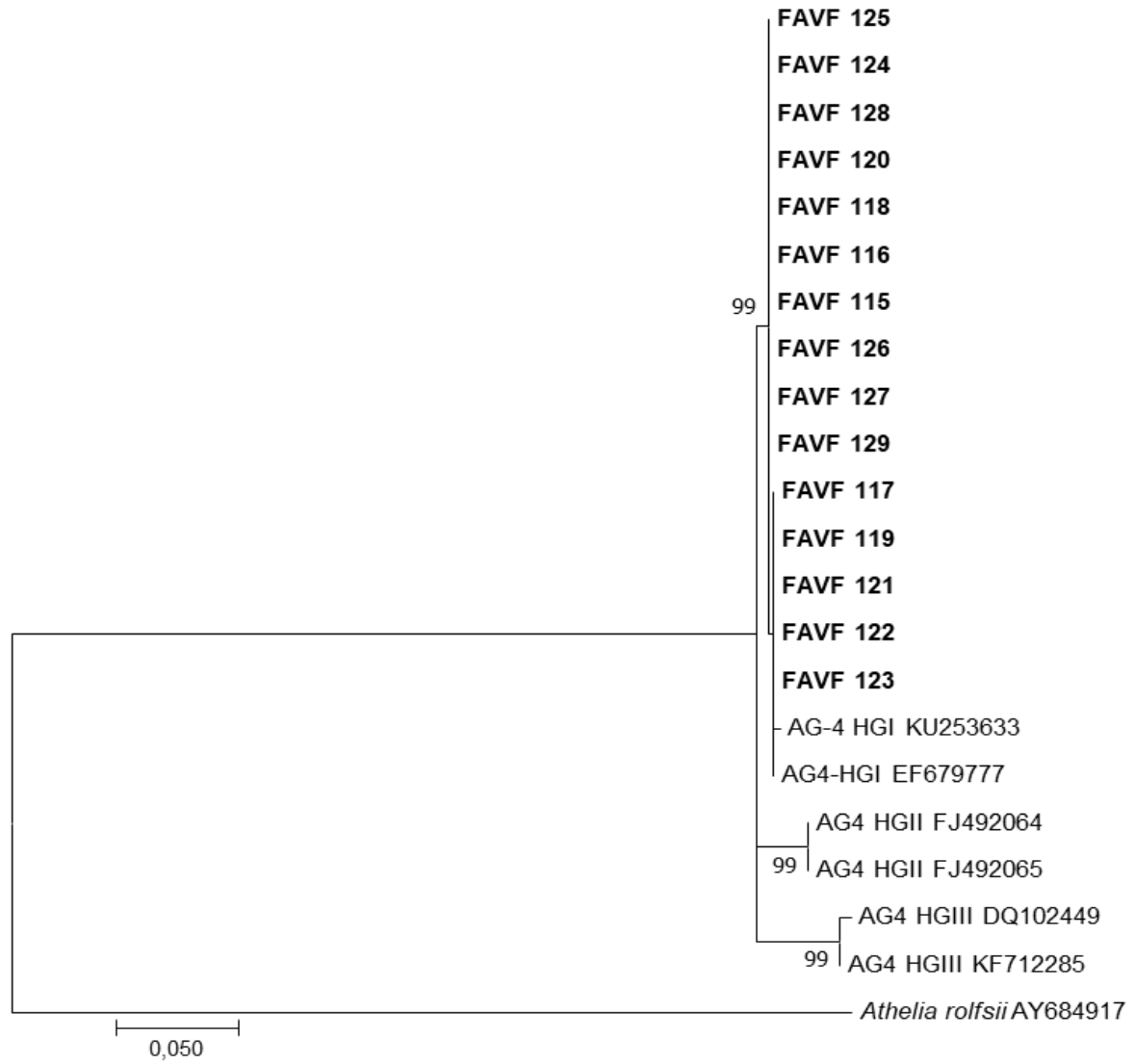


Figura 9. Árbol filogenético de Máxima Verosimilitud, generado a partir del análisis de secuencias de la región ITS de *Rhizoctonia solani* AG-4. Los valores de soporte Bootstrap para Máxima Verosimilitud se indican en los nodos. Los aislados en este estudio están en negrita. La cepa *Athelia rolfsii* AY684917 se utilizó como grupo externo. La barra de escala indica el número de cambios esperados por sitio.

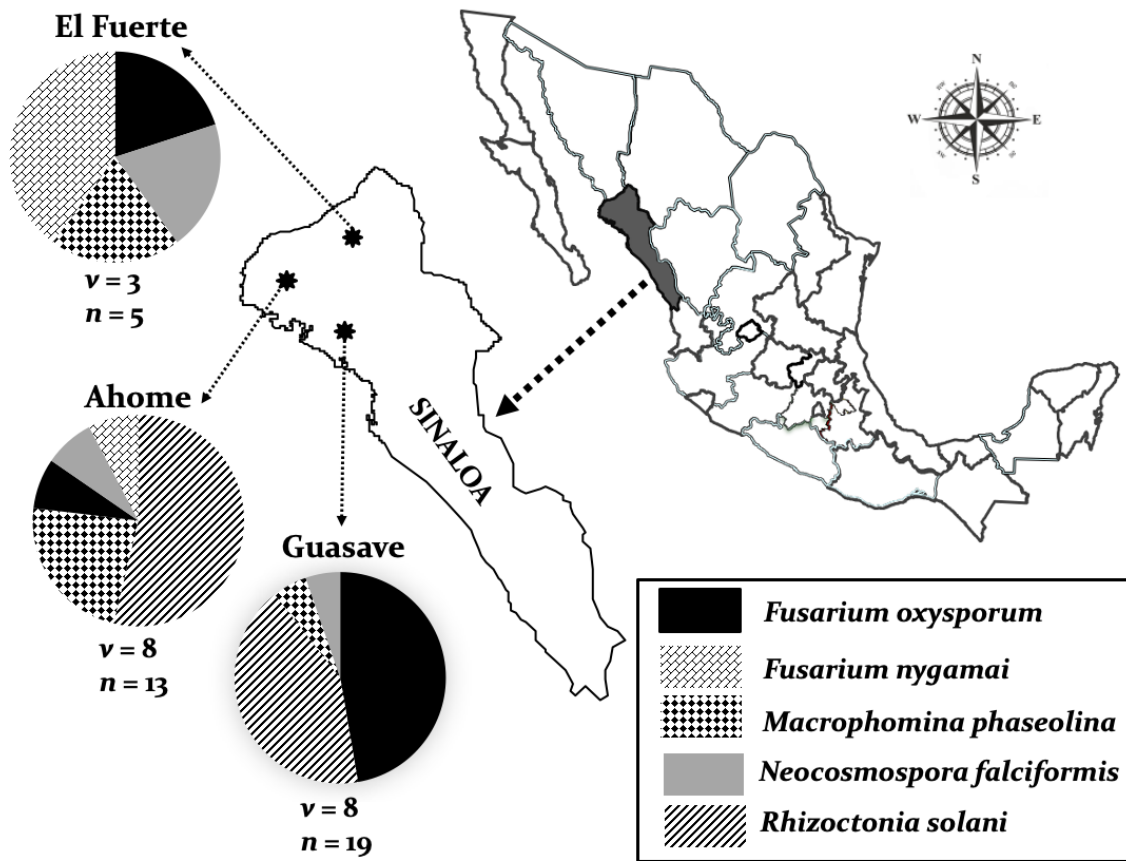


Figura 10. Sitios de recolección de especies fúngicas causantes de la marchitez del tomatillo, en tres municipios distribuidos en el estado de Sinaloa, México. Los círculos representan la frecuencia de asociación de cada especie en cada población muestreada, v = es el número de campos de tomatillo muestreados en cada población y n = es el número de aislados patogénicos analizados en cada población.

2.6. DISCUSIÓN

Los objetivos del presente estudio fueron determinar la patogenicidad y virulencia de los hongos con origen en el suelo asociados a la enfermedad de marchitez del tomatillo en Sinaloa, así como su identificación específica, mediante una caracterización morfológica en combinación con análisis filogenéticos. De los 88 aislados fúngicos obtenidos, todos fueron patogénicos en plántulas de tomatillo, pero con una amplia variación en cuanto a la severidad inducida en las plántulas de tomatillo

(Cuadros 1, 2 y 3; Figura 1), lo cual era de esperarse toda vez que se trataba de diferentes especies fúngicas, cada una de las cuales posee una aptitud patogénica distinta. Los síntomas ocasionados en las plantas emergidas de las semillas de tomatillo inoculadas con *F. oxysporum*, coinciden con los descritos para esta especie de hongo en sus diversos hospedantes: marchitez, necrosis y decoloración vascular, pérdida de turgencia y muerte de plantas, que se pueden presentar en cualquier etapa de desarrollo (Agrios, 2005). De los aislados probados para patogenicidad, 37 fueron escogidos para los procesos de identificación morfológica y molecular, sobre el criterio de $\geq 50\%$; 17 correspondieron al género *Fusarium*, cuya severidad varió de 50-88%, 30 dds (Cuadro 1).

En este trabajo se identificaron 14 aislados del género *Fusarium* a nivel de especie, mediante análisis filogenético de secuencias EF-1 α ; 11 de ellos pertenecieron a *F. oxysporum* y tres a *F. nygamai*. Los aislados de *F. oxysporum* obtenidos de tomatillo, presentaron pigmentaciones y estructuras morfométricas similares a las de reportes previos (Nelson *et al.*, 1983; Leslie y Summerell 2006; Vázquez-López *et al.*, 2009; Albañil-Juárez *et al.*, 2015; Chehri *et al.*, 2018).

Con respecto a *F. oxysporum*, esta especie se ha consignado causando síntomas de marchitez en plantas de tomatillo en el Estado de México (Gómez-Camacho *et al.*, 2006), sin embargo, en el trabajo citado no se mostraron evidencias sólidas sobre la identificación correcta del hongo. En otro trabajo, Soto-Zarazúa *et al.* (1998) reportaron diferencias en la susceptibilidad de 95 genotipos de tomatillo en México, a la infección natural por *Fusarium* sp. bajo condiciones de campo. *F. oxysporum* también es el causante de la marchitez vascular de la uchuva (*Physalis peruviana*), la cual es la enfermedad más devastadora que afecta a este cultivo en Sudamérica (Urrea *et al.*, 2011; Enciso-Rodríguez *et al.*, 2013; Osorio-Guarín *et al.*, 2016), con severidades de 80-100% (Rodríguez-Amézquita *et al.*, 2010). Así también, en Sinaloa, se ha asociado con la marchitez del tomatillo, principalmente a *F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani* (Apodaca-Sánchez, 2005; Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008), identificados solo por morfología. En un estudio posterior, en Sinaloa, se confirmó la patogenicidad en tomatillo de los tres agentes mencionados, pero también

quedó pendiente de confirmar su identidad a nivel molecular (Flores-Sánchez *et al.*, 2009).

En el presente estudio se determinó, mediante la combinación de pruebas de patogenicidad, caracterización morfológica y filogenética, que la enfermedad puede ser causada por un complejo de especies de hongos habitantes del suelo, entre las cuales destacó *F. oxysporum* y *R. solani* (Cuadro 1 y Cuadro 3; Figura 1). Lo anterior coincide con el hecho de que, en el presente estudio, muchas de las plantas enfermas analizadas presentaron dos o más especies fúngicas asociadas (datos no mostrados), lo cual ya había sido observado en trabajos de diagnóstico clínico de rutina, en la Universidad Autónoma de Sinaloa (Apodaca-Sánchez, comunicación personal 2019).

En el presente estudio, los síntomas ocasionados por *F. nygamai* en las plantas de tomatillo fueron similares a los presentados en otros hospedantes: marchitez en garbanzo (*Cicer arietinum*) (Duarte-Leal *et al.*, 2016); pudrición de raíces en caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) (Martínez-Fernández *et al.*, 2015) y maíz (*Zea mays*) (Velarde-Félix *et al.*, 2018); pudrición de raíz, marchitez y muerte de planta en haba (*Vicia faba*) (Kurmut *et al.*, 2002); muerte de plantas de lenteja (*Lens culinaris*), (Rauf *et al.*, 2016). *F. nygamai* se caracteriza por formar microconidios en cadenas cortas; también produce clamidosporas de paredes rugosas, solas, en cadenas y en grupos (Burguess y Trimboli 1986), lo cual fue confirmado en el presente estudio para F-132, 134 y F-138.

Asimismo, Leyva-Madrigal *et al.* (2015) registraron a *F. nygamai* como la especie que predomina y una de las más agresivas en las raíces de maíz en el norte de Sinaloa. Sin embargo, nuestros resultados mostraron que los aislados de *F. nygamai* fueron menos virulentos de manera significativa y poco abundantes en plantas de tomatillo en comparación con los de *F. oxysporum*. Para nuestro conocimiento, este es el primer reporte de *F. nygamai* asociados a síntomas de marchitez en tomatillo en México y a nivel mundial. Sin embargo, se requieren de más estudios para que sustenten su patogenicidad en tomatillo.

Por otra parte, los tres aislados de *Neocosmospora* incluidos en este estudio, se identificaron como *N. falciformis* en lugar de *F. falciforme* con base en la secuenciación de la región EF-1 α . Esta especie fúngica se encuentra incluida dentro

del complejo de especies de *Neocosmospora solani* en lugar de *F. solani* y que en la actualidad comprende más de 15 especies filogenéticas (Sandoval-Denis y Crous, 2018). Los síntomas observados en plantas de tomatillo inducidos por *N. falciformis* son similares a lo reportado en frijol lima (*Phaseolus lunatus*), donde ocasionó pudrición de raíz, en Brasil (Sousa *et al.*, 2017); pudrición basal de cebolla (*Allium cepa*) (Tirado-Ramírez *et al.*, 2018); pudrición de raíz de sandía (*Citrullus lanatus*) (Rentería-Martínez *et al.*, 2018); marchitez del tomate (Vega-Gutiérrez *et al.*, 2019a) en México; pudrición de raíz y tallo de papaya (*Carica papaya*) en México (Vega-Gutiérrez *et al.*, 2019b) e India (Gupta *et al.*, 2019). En Sinaloa se tienen reportes previos en los que se asoció a *F. solani* a la marchitez del tomatillo (Apodaca-Sánchez, 2005); luego se demostró su patogenicidad en plántulas de tomatillo, pero la identidad de los aislados tampoco fue confirmada de forma molecular (Flores-Sánchez *et al.*, 2009). Sin embargo, para nuestro conocimiento, este es el primer reporte de *N. falciformis* que infecta a *P. ixocarpa* en México y a nivel mundial.

En el presente trabajo, los síntomas observados por *M. phaseolina* en plantas de tomatillo, coinciden con lo reportado para la pudrición carbonosa de la raíz en numerosos hospedantes (Agrios, 2005). Este hongo causó en tomatillo una severa pudrición de la raíz en la base del tallo, además de disminuir de forma significativa el volumen de la raíz y el peso seco de las plántulas 30 dds. Los resultados antes citados, coinciden también con los síntomas reportados para girasol (*Helianthus annuus*) (Aboshosha *et al.*, 2007; Khan, 2007; Monaliza y Soares, 2014), maíz (Ortiz-Bustos *et al.*, 2015) y soya (*Glycine max*) (Ahmad *et al.*, 1997; Gupta *et al.*, 2012; Hemmati *et al.*, 2018). *M. phaseolina* se reportó también en algodón (*Gossypium hirsutum*), ajonjolí (*Sesamum indicum*) (Martínez-Hilders y Laurentin, 2012), cacahuete (*Arachis hypogaea*) y melón (*Cucumis melo*) (Cohen *et al.*, 2012).

El género *Macrophomina* pertenece a la familia Botryosphaeriaceae y comprende tres especies filogenéticas: *M. phaseolina*, *M. pseudophaseolina* y *M. euphorbiicola*; son patógenos necrotróficos relacionados de plantas de diversas familias en todo el mundo (Machado *et al.*, 2019). En México, *M. phaseolina* se ha detectado sobre plantas hospedantes de diversas familias (Muñoz-Cabañas *et al.*, 2005) y presenta amplia distribución en regiones áridas, subtropicales y tropicales

(Mayek-Pérez *et al.*, 2001). Se ha observado causando pudrición de raíz en plantas de caña de azúcar (Leyva-Mir *et al.*, 2015); garbanzo (Fierros-Leyva *et al.*, 2019); pudrición de raíz y base de tallo en sorgo (*Sorghum bicolor*) (Williams-Alanís *et al.*, 2004; Moreno-Gallegos *et al.*, 2017). En frijol exhibió marchitez y reducido crecimiento de plantas (Lira-Méndez *et al.*, 2012).

Las características observadas en PDA, de los aislados de *M. phaseolina* analizados en este estudio, corresponden a lo reportado por diferentes investigadores para esta especie (Watanabe, 2002; Sarr *et al.*, 2014; Leyva-Mir *et al.*, 2015). El análisis filogenético multilocus generado con el conjunto de datos de secuencias ITS, EF-1 α , BT, y ACT, indicó que los cinco aislados de *Macrophomina* de este estudio pertenecieron a la especie *M. phaseolina*. Aunque en Australia se ha reportado a *M. phaseolina* en *Physalis minima* (Fuhlbohms *et al.*, 2012), a nuestro conocimiento este es el primer reporte de *M. phaseolina* como patógeno de *P. ixocarpa* en México y a nivel mundial.

Por otra parte, no es de sorprender que *M. phaseolina* infecte tomatillo, si se toma en cuenta que se ha documentado en cientos de hospedantes de dicotiledóneas y monocotiledóneas. Es importante señalar que en Sinaloa son comunes las rotaciones del tomatillo con maíz, garbanzo, cucurbitáceas, tomate, chile, sorgo y frijol, entre otros cultivos susceptibles a este hongo con rango de hospedantes amplio. Aunque a la fecha *M. phaseolina* no se ha manifestado como una especie importante en esta solanácea, es de esperar que a futuro su incidencia pudiera incrementarse, tal y como sucede en cultivo de frijol y sorgo, en los cuáles puede haber pérdidas de 100%. Es un hongo de clima cálido, de ahí que el cambio climático, podría también ser un factor que ayude a incrementar su agresividad, sobre todo en siembras tempranas o tardías de tomatillo.

Por otra parte, en el presente trabajo, los síntomas observados en las plantas emergidas de semillas inoculadas con *R. solani*, concuerdan con los reportados en distintos cultivos, como lo son: pudrición de raíz, ahorcamiento en la base de tallo y marchitez general. En etapas tempranas provoca ahogamiento, muerte de plántulas, y en etapa adulta muerte de plantas (Agrios, 2005). En el presente trabajo los valores de severidad en las plántulas de tomatillo (30 dds) estuvieron en un rango de 50-100%;

sin embargo, seis aislados (R-115, 116, 118, 120, 122 y R-126) fueron tan virulentos que suprimieron en su totalidad la emergencia de plántulas (Cuadro 3), lo cual es propio de este hongo en muchos cultivos (Agrios, 2005).

Las características de *R. solani* desarrolladas en PDA, así como la presencia de células multinucleadas son similares a lo registrado por otros autores para esta especie (Sneh *et al.*, 1996; Fernández-Herrera *et al.*, 2013; Mariscal-Amaro *et al.*, 2017). Con base en el análisis filogenético de la región ITS de 15 aislados de *Rhizoctonia* analizados en este estudio, se determinó que todos pertenecieron a *R. solani* AG-4 HGI con afinidad del 99%. Estos aislados se obtuvieron a partir de campos de tomatillo distribuidos en los municipios de Ahome y Guasave, Sinaloa, en donde se siembran diversas especies de grano y hortalizas, con potencial susceptibilidad a *R. solani*. El hongo *R. solani* es un habitante del suelo con un amplio rango de plantas hospedantes y distribución cosmopolita (Koike *et al.*, 2007). La predominancia de aislados de *R. solani* AG-4 asociados a plantas de tomatillo en Sinaloa, coincidió con reportes previos en diversos estados de México donde se reportó la amplia distribución de este grupo anastomósico (Vásquez- López *et al.*, 2009).

Rhizoctonia solani AG-4 infecta a diversidad de especies de plantas, causando pudrición de semilla e hipocótilo en casi todas las angiospermas, así como lesiones en el cuello de la mayoría de las leguminosas, algodónero y remolacha (Agrios, 2005). El grupo AG-4 fue el más común en campos de chile (*Capsicum annuum*) en seis estados del centro y norte de México (Montero-Tavera *et al.*, 2013). Virgen-Calleros *et al.* (2000) encontraron que AG-4 fue el segundo grupo más encontrado después del AG-3 en campos de papa (*Solanum tuberosum*) en Guanajuato, México; mientras que, en Sinaloa, AG-4 fue el más frecuente después de AG-3 en el mismo cultivo (Fernández-López, 2011).

Rhizoctonia solani AG-4 HGI se ha reportado en ajonjolí (Cochran *et al.*, 2018), frijol (Çebi-Kiliçoğlu y Özkoç, 2010), melón (Kuramae *et al.*, 2003), papa (Kanetis *et al.*, 2016) y tomate (Kuramae *et al.*, 2003; Taheri, 2011); también se consignó en cacahuete, crisantemo, espinaca, melón, soya y remolacha (diversos autores, citados por González-Hernández, 2002). Algunos de los cultivos mencionados como papa y tomate son importantes en Sinaloa, por lo que es probable que *R. solani* AG-4 HGI

compartan al tomatillo como hospedantes cultivados, sin descartar que se albergue en plantas de maleza.

En Sinaloa se tienen reportes previos de *F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani* en asociación a la marchitez del tomatillo (Apodaca-Sánchez, 2005). En un estudio pionero tendiente a elucidar la etiología de la marchitez del tomatillo, se corrieron pruebas de patogenicidad en invernadero, con diez aislados de cada una de las especies *F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani*, inoculados por separados en semillas de tomatillo, previo a la siembra en macetas con suelo esterilizado. A los diez días de la siembra, los tres hongos decrementaron de forma significativa la altura de la planta, mientras que la severidad estimada para los diez aislados fue: *F. oxysporum* 25-52%, *F. solani* 18-58% y *R. solani* 17-100 (Flores-Sánchez, 2009). Aunque en el trabajo anterior quedó clara la alta virulencia de los tres hongos en esta solanácea (Flores-Sánchez *et al.*, 2009), persiste la incertidumbre de que la identidad de los aislados no fue confirmada de forma molecular, ni en *R. solani* se determinó el grupo de anastomosis. A nuestro conocimiento, a nivel mundial este es primer reporte formal de *R. solani* AG-4HGI en tomatillo.

Los resultados de las pruebas de patogenicidad de este estudio revelaron que los aislados de *R. solani* fueron más virulentos en tomatillo en comparación con los de *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *N. falciformis*, y *F. nygamai*. En un estudio similar, en plantas de chile inoculadas de forma artificial, no se detectaron diferencias significativas en la severidad de los síntomas foliares y pudrición de raíz inducidos por *R. solani*, *F. oxysporum*, *M. phaseolina* y *N. falciformis* (Güney y Güldür, 2018). Por su parte, Datnoff y Sinclair (1988) encontraron que la severidad de la pudrición de raíz en plantas de soya inoculadas con *F. oxysporum* y *R. solani* no presentó diferencias significativas, pero demostraron que existe una interacción aditiva, de tal modo que la severidad de la enfermedad aumentó en presencia de ambas especies. Entre tanto, Navarrete-Maya *et al.* (2009) reportaron que el ataque de *R. solani* fue menos severo que el de *Fusarium* spp. en plantas de frijol en condiciones de campo, mientras que en invernadero el ataque de *R. solani* fue más alto.

Al final, los hallazgos mostrados en este estudio pueden ser útiles, como base, para realizar futuros estudios epidemiológicos con la finalidad de establecer

estrategias efectivas de manejo de la marchitez del tomatillo en campos comerciales en México.

2.7. CONCLUSIÓN

Las pruebas de patogenicidad, así como la caracterización morfológica, molecular y análisis filogenético realizado a 37 aislados fúngicos, obtenidos de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez, permitieron identificar a las especies *F. nygamai*, *F. oxysporum*, *M. phaseolina*, *N. falciformis* y *R. solani* como los agentes causales de la marchitez del tomatillo en el norte de Sinaloa.

2.8. LITERATURA CITADA

- Aboshosha, S. S., Atta, A. S. I., El-Korany, A. E., and El-Argawy, E. 2007. Characterization of *Macrophomina phaseolina* isolates affecting sunflower growth in El-Behera Governorate, Egypt. *International Journal of Agriculture and Biology* 9:807–815.
- Agrios, G. N. 2005. *Plant pathology*. 5th ed. Elsevier Academic Press. Nueva York 922 p.
- Ahmad, S., Iqbal, S. H., and Khalid, A. N. 1997. *Fungi of Pakistan*. Mycological Society of Pakistan. 248 p.
- Albañil-Juárez, J. A., Mariscal-Amaro, L. A., Martínez-Martínez T. O., Anaya- López, J. L., Cisneros-López, H. C., y Pérez-Ramírez, H. A. 2015. Estudio general de fitopatógenos asociados a la secadera del chile en Guanajuato, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 11:2191–2197.
- Alves, A., Crous, P. W., Correia, A., and Phillips, A. J. L. 2008. Morphological and molecular data reveal cryptic speciation in *Lasiodiplodia theobromae*. *Fungal Diversity* 28:1–13.
- Apodaca-Sánchez, M. A. 2005. Enfermedades del tallo y de la raíz. En: Memoria de la Jornada de Tecnología de Producción de Tomatillo. Fundación Produce Sinaloa. Culiacán, México. 1–18 pp.
- Apodaca-Sánchez, M. A., Barreras-Soto, M. A., Cortez-Mondaca, E., y Quintero-Benítez, J. A. 2008. Enfermedades del tomate de cáscara en Sinaloa. Campo Experimental Valle del Fuerte, CIRNO, INIFAP. Folleto Técnico No. 31. Los Mochis, Sinaloa. 30 p.
- Bartlett, M. 1937. Properties of sufficiency and statistical tests. *Proceedings of the Royal Society of London. Series A. Mathematical and Physical Sciences* 160:268–282.
- Burgess, L. W., and Trimboli, D. 1986. Characterization and distribution of *Fusarium nygamai*, Sp. *Mycologia* 78:223-229. DOI: 10.1080/00275514.1986.12025233.
- Carbone, I., and Kohn, L. M. 1999. A method for designing primer sets for speciation studies in filamentous ascomycetes. *Micología* 91:553–556.
- Castro-Brindis, R., Sánchez-García, P., Peña-Lomelí, A., Alcantar-González, G., Baca-Castillo, G., y López-Romero, R. M. 2000. Niveles, críticos de suficiencia y toxicidad de N-NO₃ en el extracto celular de peciolo de tomate de cáscara. *Revista Terra* 182:141–146.

- Çebi-Kiliçoğlu, M., and Özkoç, I. 2010. Molecular characterization of *Rhizoctonia solani* AG4 using PCR-RFLP of the rDNA-ITS region. *Turkish Journal Biology* 34:261–269. doi:10.3906/biy-0812-14.
- Chehri, K., Salleh, B., and Zakaria, L. 2015. Morphological and phylogenetic analysis of *Fusarium solani* species complex in Malaysia. *Microbial Ecology* 69:457–471.
- Cochran, K. A., Tolbert, A. C., and Spurlock, T. N. 2018. First Report of *Rhizoctonia solani* AG4 causing stem necrosis in *Sesame* in Southwest Texas. *Plant Disease*, 110:2039–2039. doi:10.1094/pdis-02-18-0350-pdn.
- Cohen, R., Omari, N., Porat, A., and Edelstein, M. 2012. Management of *Macrophomina* wilt in melons using grafting or fungicide soil application: Pathological, horticultural and economical aspects. *Crop Protection* 35:58–63.
- Conover, W., Johnson, M. E., and Johnson, M. 1981. A comparative study of tests for homogeneity of variances, with applications to the outer continental shelf bidding data. *Technometrics* 23:351–361.
- Correll, J. C., Puhalla, J. C., and Schneider, R. W. 1986. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* on the basis of colony size and vegetative compatibility. *Phytopathology* 76:396–400.
- Datnoff, L. E., and Sinclair, J. B. 1988. The interaction of *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* in causing root rot of soybeans. *Phytopathology* 78:771–777.
- De la Torre-Almaráz, R., Salazar-Segura, M., and Valverde, R. 2003. Etiology of husk tomato (*Physalis ixocarpa* B.) yellow mottle in Mexico. *Agrociencia* 37:277–289.
- Di Rienzo, J. A., Casanoves, F., Balzarini, M. G., Tablado, M., y Roberto, C. W. 2018. InfoStat versión 2018. Centro de transferencia InfoStat, FCA, Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.nfostat.com.ar>.
- Duarte-Leal, Y., Echevarría-Hernández, A., y Martínez-Coca, B. 2016. Identificación y caracterización de aislamientos de *Fusarium* spp. presentes en garbanzo (*Cicer arietinum* L.) en Cuba. *Revista Protección Vegetal* 31:173–183.
- Enciso-Rodríguez, F. E., González, C., Rodríguez, E. A., López, C. E., Landsman, D., Barrero, L. S., and Mariño-Ramírez, L. 2013. Identification of immunity related genes to study the *Physalis peruviana*–*Fusarium oxysporum* pathosystem. *PLoS ONE* 8(7), e68500. doi:10.1371/journal.pone.0068500.
- Félix-Gastélum, R., Maldonado-Mendoza, I. E., Beltrán-Peña, H., Apodaca-Sánchez, M. A., Espinoza-Matías, S., Martínez-Valenzuela, M. C., Longoria-Espinoza, R.M., and Olivas-Peraza, N.G. 2017. Powdery mildews in agricultural crops of Sinaloa: current status on their identification and future research lines. *Revista Mexicana de Fitopatología* 35:106–129.

- Fernández-Herrera, E., Guerrero-Ruiz, J. C., Rueda-Puente, E. O., y Acosta-Ramos, M. 2013. Patógenos y síntomas asociados a la marchitez del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Texcoco, México. *Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud* 15:46–50.
- Fernández-López, L. A. 2011. Identificación molecular de grupos anastomóticos de *Rhizoctonia solani* asociados a la costra negra y cancro del tallo en el cultivo de papa en Sinaloa. Tesis de maestría. Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional (CIIDIR) Unidad Sinaloa del Instituto Politécnico Nacional (IPN), Guasave, Sinaloa. 51 pp.
- Fierros-Leyva, A. G., Acosta-Gallegos, J. A., Ortega-Murrieta, P. F., Padilla-Valenzuela I., Álvarez-Bravo, A., Milagros-Ramírez, M., y Velarde-Félix, S. S. 2019. Distribución de hongos asociados a pudriciones de raíz del garbanzo. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 10:131–142.
- Flores-Sánchez, J. L. 2009. Respuesta de 13 genotipos de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) a virosis y marchitamiento fungoso en Sinaloa, México. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte. Universidad Autónoma de Sinaloa. Juan José Ríos, Sinaloa. 79 pp.
- Fuhlboh, M. J., Ryley, M. J., and Aitken, E. A. B. 2012. New weed hosts of *Macrophomina phaseolina* in Australia. *Australasian Plant Disease Notes* 7:193–195.
- Gámez-Jiménez, C., Romero-Romero, J. L., Santos-Cervantes, M. E., Leyva-López, N. E., and Méndez-Lozano, J. 2009. Tomatillo (*Physalis ixocarpa*) as a natural new host for *Tomato yellow leaf curl virus* in Sinaloa, Mexico. *Plant Disease* 93:545.
- Glass, N. L., and Donaldson, G. C. 1995. Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied Environmental Microbiology* 61:1323–1330.
- Gómez-Camacho, R., Rodríguez-Mendoza, M. N., Cárdenas-Soriano, E., Sandoval-Villa, M., y Colinas-de León, M. T. 2006. Fertilización foliar con silicio como alternativa contra la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) en tomate de cáscara. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 12:69–75.
- González-Hernández, D. 2002. Estado actual de la taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20:200–205.
- González-Pacheco, B. E., and Silva-Rosales, L. 2013. First report of impatiens necrotic spot virus in Mexico in tomatillo and pepper plants. *Plant Disease* 97:1124.
- Güney, I. G., and Güldür, M. E. 2018. Inoculation techniques for assessing pathogenicity of *Rhizoctonia solani*, *Macrophomina phaseolina*, *Fusarium*

- oxysporum* and *Fusarium solani* on pepper seedlings. Turkey Journal of Agricultural Research 5:1–8.
- Gupta, A. K., Choudhary, R., Bashyal, B. M., Rawat, K., Singh, D., and Solanki, I. S. 2019. First report of root and stem rot disease on papaya caused by *Fusarium falciforme* in India. Plant Disease 103:2676. <https://doi.org/10.1094/PDIS-11-18-2118-PDN>.
- Gupta, G. K., Sharma, S. K., and Ramteke, R. 2012. Biology, epidemiology and management of the pathogenic fungus *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid with special reference to charcoal rot of soybean (*Glycine max* L.) Merrill. Journal Phytopathology 160:167–180.
- Hemmati, P., Zafari, D., Mahmoodi, S. B., Hashemi, M., Gholamhoseini, M., Dolatabadian, A., and Ataei, R. 2018. Histopathology of charcoal rot disease (*Macrophomina phaseolina*) in resistant and susceptible cultivars of soybean Rhizosphere 7:27–34.
- Kanetis, L., Tsimouris, D., and Christoforou, M. 2016. Characterization of *Rhizoctonia solani* associated with black scurf in Cyprus. Plant Disease 100:1591–1598. doi:10.1094/pdis-10-15-1238-re.
- Khan, S. N. 2007. *Macrophomina phaseolina* as causal agent for charcoal rot of sunflower. Mycopath 5:111–118.
- Koike, S. T., Gladders, P., and Paulus, A. O. 2007. Vegetable Diseases. A colour handbook. Manson Publishing. London, UK. 448 p.
- Kumar, S., Stecher, G., and Tamura, K. 2016. MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. Molecular Biology and Evolution 33:1870–1874.
- Kuramae, E. E., Buzeto, A. L., Ciampi, M. B., and Souza, N. L. 2003. Identification of *Rhizoctonia solani* AG 1-IB in lettuce, AG 4 HG-I in tomato and melon, and AG 4 HG-III in broccoli and spinach, in Brazil. European Journal of Plant Pathology 109:391–395. doi:10.1023/a:1023591520981.
- Kurmut, A. M., Nirenberg, H. I., Bochow, H., and Büttner, C. 2002. *Fusarium nygamai*, a causal agent of root rot of *Vicia faba* L. in the Sudan. Meded Rijksuniv Gent Fak Landbouwkd Toegep Biol Wet. 67:269–274.
- Leslie, F. J., and Summerell, A. B. 2006. The Fusarium laboratory manual. Blackwell Publishing. Iowa 388 p.
- Leyva-Madrigal, K. Y., Larralde-Corona, C. P., Apodaca-Sánchez, M. A., Quiroz-Figueroa, F. R., Mexia-Bolaños, P. A., Portillo-Valenzuela, S., Ordaz-Ochoa, J., and Maldonado-Mendoza, I. E. 2015. Fusarium Species from the *Fusarium*

fujikuroi species Complex involved in mixed infections of maize in northern Sinaloa, Mexico. *Journal of Phytopathology* 163:486–497.

- Leyva-Mir, S. G., Velázquez-Martínez, G. C., Tlapal-Bolaños, B., Tovar-Peraza, J. M., Rosas-Saito, H., y Alvarado-Gómez, O. G. 2015. Caracterización morfológica y molecular de aislados de *Macrophomina phaseolina* asociados a caña de azúcar en México. *Revista Argentina de Microbiología* 47:143–147.
- Lira-Méndez, K., Salinas-García, J. R., Arturo Díaz-Franco, A. y Mayek-Pérez, N. 2012. Efecto de labranza, humedad y fertilización en el rendimiento de frijol y la patogenicidad de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 3:365–371.
- Machado, A. R., Pinho, D. B., Soares, D. J., Gomes, A. A. M., and Pereira, O. L. 2019. Bayesian analyses of five gene regions reveal a new phylogenetic species of *Macrophomina* associated with charcoal rot on oilseed crops in Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 153:89–100.
- Mariscal-Amaro, L. A., Rivera-Yerena, A., Dávalos-González, P. A., y Ávila-Martínez, D. 2017. Situación actual de hongos asociados a la secadera de la fresa (*Fragaria x ananassa* Duch.) en Guanajuato, México. *Agrociencia* 51:673–681.
- Martínez-Fernández, E., Martínez-Jaimes, P., Guillén-Sánchez, D., Peña-Chora, G., y Hernández-Hernández, V. M. 2015. Diversidad de *Fusarium* en las raíces de caña de azúcar (*Saccharum officinarum*) en el estado de Morelos, México. *Revista Mexicana de Micología* 42:33–43.
- Martínez-Hilders, A. y Laurentin, E. 2012. Caracterización fenotípica y molecular de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. proveniente de la zona de producción de ajonjolí en Venezuela. *Bioagro* 24:187–196.
- Mauricio-Castillo, J. A., Reveles-Torres, L. R, Salas-Luévano, M. A., Franco-Bañuelos, A., Salas-Marina, M. A., and Salas-Muñoz, S. 2018. First report of *Candidatus* Phytoplasma *trifolii*-related strain associated with a new disease in tomatillo plants in Zacatecas, Mexico. *Plant Disease* 102:1653.
- Mayek-Pérez, N., López-Castañeda, C., López-Salinas, E., Cupian-Gutiérrez, J., y Acosta-Gallegos, J. A. 2001. Resistencia a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en frijol común en condiciones de campo en México. *Agrociencia* 35:649–661.
- Monaliza, R. C., and Soares, D. J. 2014. Pathogenicity and aggressiveness of *Macrophomina phaseolina* isolates to castor (*Ricinus communis*). *Tropical Plant Pathology* 39:453–456.

- Moncayo-Pérez, C. D., Magaña-Lira, N., Peña-Lomelí, A., Leyva-Mir, S. G., Sahagún-Castellanos, J., and Pérez-Grajales, M. 2020. White smut (*Entyloma australe*) resistance in tomatillo (*Physalis* spp.) germplasm. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 26:65–77. doi: 10.5154/r.rchsh.2019.09.016.
- Montero-Tavera, V., Guerrero-Aguilar, B. Z., Anaya, L. J. L., Martínez-Martínez, T. O., Guevara- Olvera, L., y González-Chavira, M. M. 2013. Diversidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* (Kühn) de Chile en México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 4:1043–1054.
- Moreno-Gallegos, T., Melgoza-Villagómez, C. M., Cuevas Reyes, V., y Luis Alberto Hernández-Espinal, L. A. 2017. Evaluación de la susceptibilidad a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid en diferentes variedades e híbridos comerciales de sorgo en Sinaloa, México. *Nova Scientia* 9:186–199.
- Muñoz-Cabañas, R. M., Hernández-Delgado, S., y Mayek-Pérez, N. 2005. Análisis patogénico y genético de *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. en diferentes hospedantes. *Revista Mexicana de Fitopatología* 23:11–18.
- Navarrete-Maya, R., Trejo-Albarrán, E., Navarrete-Maya, J., Prudencio-Sains, J. M., y Acosta-Gallegos, J. A. 2009. Reacción de genotipos de frijol a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* bajo condiciones de campo e invernadero. *Agricultura Técnica en México* 35:455–466.
- Nelson, P. E., Toussoun, T. A., and Marasas, W. F. O. 1983. *Fusarium* species: An illustrated manual for identification. Pennsylvania State University Press. University park, Pennsylvania USA 193 p.
- O'Donnell, K., Sutton, D. A., Fothergill, A., McCarthy, D., Rinaldi, M. G., Brandt, M. E., Zhang, N., and Geiser, M. G. 2008. Molecular phylogenetic diversity, multilocus haplotype nomenclature, and in vitro antifungal resistance within the *Fusarium solani* species complex. *Journal of Clinical Microbiology* 46:2477–2490.
- Ortiz-Bustos, C. M., García-Carneros, A. B., and Molinero-Ruiz, L. 2015. The late wilt of corn (*Zea mays* L.) caused by *Cephalosporium maydis* and other fungi associated at the Iberian Peninsula. *Summa Phytopathologica* 41:107–114.
- Osorio-Guarín, J. A., Enciso-Rodríguez, F. E., González, C., Fernández-Pozo, N., Mueller, L. A., and Barrero, L. S. 2016. Association analysis for disease resistance to *Fusarium oxysporum* in cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.). *BMC Genomics* 17:248.
- Peña-Lomelí, A. 2001. Situación actual y perspectivas de la producción y mejoramiento genético de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. Primer Simposio Nacional Técnicas Modernas de Producción de Tomate, Papa y otras solanáceas. Universidad Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. 10 p.

- Rauf, C. A., Rafique, K., Naz, F., and Kang, S. 2016. First report of lentil wilt caused by *Fusarium nygamai* in Pakistan. *Journal of Plant Pathology* 98:696.
- Rentería-Martínez, M. E., Guerra-Camacho, M. A., Ochoa-Meza, A., Moreno-Salazar, S. F., Varela-Romero, A., Gutiérrez-Millán, L. E., and Meza-Moller, A. C. 2018. Multilocus phylogenetic analysis of fungal complex associated with root rot watermelon in Sonora, Mexico. *Revista Mexicana de Fitopatología* 36:233–255.
- Rodríguez-Amézquita, J. E., Velandia-Mosalve, J., y Viteri-Rosero, S. E. 2010. Evaluación de microorganismos aislados de gallinaza por su potencial para el biocontrol de *Fusarium* (*F. oxysporum*) en plántulas de uchuva (*Physalis peruviana*). *Revista Facultad Nacional Agronomía Medellín* 63:5499–5509.
- Rojas-Martínez, R., Camacho-Tapia, M., Zavaleta-Mejía, E., and Levy, J. 2016. First report of the presence of haplotypes A and B of *Candidatus Liberibacter solanacearum* in chili (*Capsicum annuum* L.) in the central region of Mexico. *Journal of Plant Pathology* 98:111–115.
- Sandoval-Denis, M., and Crous, P. W. 2018. Removing chaos from confusion: assigning names to common human and animal pathogens in *Neocosmospora*. *Persoonia* 41:109–129.
- Santos-Cervantes, M. E., Chávez-Medina, J. A., Fierro-Coronado, J. A., Ruelas-Ayala, R. D., Barreras-Soto, M. A., Méndez-Lozano, J., and Leyva-López, N. E. 2006. First report of a *Candidatus Phytoplasma asteris* infecting tomatillo (*Physalis ixocarpa*) in Sinaloa, México. *New Disease Reports* 14:29.
- Sarr, M. P., Ndiaye, M. B., Groenewald, J. Z., and Crous, P. W. 2014. Genetic diversity in *Macrophomina phaseolina*, the causal agent of charcoal rot. *Phytopathologia Mediterranea* 53:250–268.
- Shapiro, S. S., and Wilk, M. B. 1965. Analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52:591–611.
- Silva, B. F. A. S., Pereira, W. V., Ciampi, M. B., Câmara, M. P. S, and Ceresini, P. C. 2010. Associação de *Rhizoctonia solani* grupo de anastomose 4 (AG-4 HGI e HGIII) à espécies de plantas invasoras de área de cultivo de batata. *Summa Phytopathologica* 36:145–154.
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2020. Anuario estadístico de la producción agrícola. Consultado 03/2020.
- Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minesota USA. 133 p.

- Sneh, B., Jajabi-Hare, S., and Neate, G. 1996. *Rhizoctonia* species: Taxonomy, molecular biology, ecology, pathology and diseases control. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, The Netherlands. 578 p.
- Soto-Zarazúa, G. M., Peña-Lomelí, A., Santiaguillo-Hernández, J. F., Rodríguez-Pérez, J. E., y Palacios-Espinoza, A. 1998. Resistencia a *Fusarium* sp. de 95 colectas de tomate de cáscara (*Physalis* spp.). Revista Chapingo Serie Horticultura 4:51–55.
- Sousa, E. S., Melo, M. P., Mota, J. M., Sousa, E. M. J., Beserra, J. R. and Matos, K. S. 2017. First report of *Fusarium falciforme* (FSSC 3 + 4) causing root rot in lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) in Brazil. Plant Disease 101:1954.
- Staden, R., Beal, K. F., and Bonfield, J. K. 1998. In: S. Misener, and S. A. Krawetz (eds). Bioinformatics Methods and Protocols New York: The Humana Press. Vol. 132 pp: 115–130.
- Taheri, P. 2011. Classification and genetic diversity of *Rhizoctonia solani* populations causing tomato damping-off in Iran. Acta Horticulturae 914:131–134. doi:10.17660/actahortic.2011.914.23.
- Thompson, J. D., Gibson, T., Plewniak, F., Jeanmougin, F., and Higgins, D. G. 1997. The ClustalX windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. Nucleic Acids Research 25:4876–4882.
- Tirado-Ramírez, M. A., López-Orona, C. A., Velázquez-Alcaraz, T. de J., Díaz-Valdés, T., Velarde-Félix, S., Martínez-Campos, A. R., and Retes-Manjarrez, J. E. 2018. First report of onion basal rot caused by *Fusarium falciforme* in Mexico. Plant Disease 102:26–46.
- Urrea, R., Cabezas, L., Sierra, R., Cárdenas, M., Restrepo, S., and Jiménez, P. 2011. Selection of antagonistic bacteria isolated from the *Physalis peruviana* rhizosphere against *Fusarium oxysporum*. Journal of Applied Microbiology 111:707–716.
- Vásquez-López, A., Tlapal-Bolaños, B., Yáñez-Morales, M. de J., Pérez-Pacheco, R., y Quintos-Escalante, M. 2009. Etiología de la marchitez del chile de agua (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. Revista Fitotecnia Mexicana 32:127–134.
- Vega-Gutiérrez, T. A., López-Orona, C. A., López-Urquidez, G. A., Velarde-Félix, S., Amarillas-Bueno, L. A., Martínez-Campos, A. R., and Allende-Molar, R. 2019a. Foot rot and wilt in tomato caused by *Fusarium falciforme* (FSSC 3 + 4) in Mexico. Plant Disease 103:157.
- Vega-Gutiérrez, T. A., Tirado-Ramírez, M. A., López-Urquidez, G. A., Angulo-Castro, A., Martínez-Gallardo, J. A., and López-Orona, C. A. 2019b. *Fusarium falciforme*

(FSSC 3 + 4) causing root and stem rot in papaya (*Carica papaya*) in Mexico. *Plant Disease* 103:2681–2681 <https://doi.org/10.1094/PDIS-05-19-0917-PDN>.

- Velarde-Félix, S., Valdez-Rubio, N., Zamora-Galván, F., López-Molina, R., Melgoza-Villagómez, C., y Garzón-Tiznado, J. 2018. Identificación molecular de *Fusarium* spp. aislados de maíz en Sinaloa, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 9:1675–1689.
- Virgen-Calleros, G., Olalde-Portugal, V., and Carling, D. E. 2000. Anastomosis groups of *Rhizoctonia solani* on potato in Central Mexico and potential for biological and chemical control. *American Journal of Potato Research* 77:219–224.
- Watanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of soil and seed fungi. Morphologies of Cultures Fungi and key to Species. Second edition. CRC Press. New York. 500 p.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In*: M. A. Innis, D. H. Gelfand J. J. Sninsky, and T. J White (eds). *PCR Protocols. A Guide to Methods and Applications*. Academic Press. San Diego. Cap. 32 pp: 315–332.
- Williams-Alanís, H., Pecina-Quintero, V., Zavala-García, F., Martínez-Hernández, R., Rangel-Estrada, S. E., y Machuca-Orta, I. 2004. Reacción a *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid. de híbridos comerciales y experimentales de sorgo *Sorghum bicolor* (L.) Moench. para grano. *Revista Mexicana de Fitopatología* 22:216–222.
- Young, N. D., and Healy, J. 2003. GapCoder automates the use of indel characters in phylogenetic analysis. *BMC Bioinformatics* 4:6.

CHAPTER 3. SUSCEPTIBILITY OF HUSK TOMATO CULTIVARS (*Physalis ixocarpa* Brot.) TO WILT IN NORTHERN SINALOA

3.1. ABSTRACT

In Sinaloa, husk tomato wilt is a disease caused by soil-borne pathogens such as *Fusarium oxysporum* and *Rhizoctonia solani* as the most important. They cause countless losses due to lack of resistant varieties. The disease appears as chlorosis, foliage or fruit sagging, light/dark brown color rot at the base of plant and finally death of plant. The objective of the study was to determine the response of cultivars hybrid Dalí, cv. Gabriela, cv. Puebla, cv. San Miguel, hybrid Siqueiros, hybrid Tamayo and cv. Tecozautla to pathogenic isolates of *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* and *Rhizoctonia solani*. Sterile river sand + peat moss (1:3 v/v) was placed in pots, thereafter, it was inoculated with each of three isolates of *F. oxysporum* (1.6×10^5 CFU), two of *M. phaseolina* and three of *R. solani* (8 sorghum infested grains/pot of each fungus). Five seeds of husk tomato cultivar were deposited on each of three pots (replicate). Thereafter, they were covered with the same substrate and incubated for 30 days at greenhouse conditions on a completely block design. All seeds on the check plot were planted on the soil without fungus. Seedling emergence was measured at nine days after planting (dap), severity at 30 (dap) (scale 0-5) and parameters of plant vigor. All data were analyzed with non-parametric statistics. All tested were susceptible to *F. oxysporum*, *M. phaseolina* and *R. solani*; some of the isolates exerted a significant different virulence effect ($P \leq 0.05$) in some varieties.

Keywords: Husk tomato cultivars, pathogenicity, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*.

CAPÍTULO 3. SUSCEPTIBILIDAD DE CULTIVARES DE TOMATILLO (*Physalis ixocarpa* Brot.) A LA MARCHITEZ EN EL NORTE DE SINALOA

3.2. RESUMEN

En Sinaloa, la marchitez o secadera del tomatillo es una enfermedad causada por hongos con origen en el suelo, entre los cuales destaca *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, con pérdidas cuantiosas por la carencia de variedades resistentes. La enfermedad se manifiesta con una clorosis y flacidez tanto en follaje como en los frutos; las raíces y el cuello muestran una pudrición de color café claro a café oscuro y las plantas mueren de forma prematura. El objetivo de este estudio en invernadero fue determinar la respuesta del tomatillo, híbrido Dalí, cv. Gabriela, cv. Puebla, cv. San Miguel, híbrido Siqueiros, híbrido Tamayo y cv. Tecozautla, hacia aislados patogénicos de *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina* y *Rhizoctonia solani*, obtenidos de tomatillo. En macetas se colocó por separado arena de río + peat moss (1:3 v/v) esterilizado y después inoculado, con cada uno de tres aislados de *F. oxysporum* 1.6×10^5 UFC; dos de *M. phaseolina* o tres de *R. solani* (8 granos de sorgo infestados / maceta, de cada hongo). En cada maceta se depositaron cinco semillas del cultivar de tomatillo correspondiente; luego se taparon con el mismo sustrato e incubaron por 30 días, bajo un diseño completo al azar, con tres repeticiones (macetas); en el testigo las semillas se sembraron sobre suelo sin hongo. A los nueve días después de la siembra (dds) se estimó la emergencia de plántulas; 30 dds, la severidad (escala de 0-5) y parámetros de vigor de las plantas. Los datos se analizaron mediante estadística no paramétrica. Los siete cultivares probadas fueron susceptibles a las especies *F. oxysporum*, *M. phaseolina* y *R. solani*; algunos de los aislados probados ejercieron un significativo efecto diferencial de virulencia, en algunas de las variedades estudiadas.

Palabras clave: cultivares de tomatillo, patogenicidad, *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Rhizoctonia solani*.

3.3. INTRODUCCIÓN

El tomatillo o tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.), es una solanácea que a nivel nacional se cultivó, en 2020, en una superficie de 39,865 ha. Sinaloa es la principal entidad productora de este cultivo con 140,752 t de frutos cosechados, en una superficie cultivada de 6,114 ha y rendimiento promedio de 23 t ha⁻¹ (SIAP, 2020). Los principales municipios productores de tomatillo en Sinaloa son: Escuinapa con 1,610 ha sembradas, Guasave 1,175 ha, Ahome 884 ha, Angostura 720 ha y Mazatlán 438 ha (SIAP, 2020). El tomatillo en México, mediante fertirriego, tiene un potencial productivo de 80 t ha⁻¹ (Castro-Brindis, 2000). Sin embargo, la producción del cultivo es limitada por la presencia de enfermedades fúngicas, entre las que destacan el carbón blanco por *Entyloma australe* (Moncayo-Pérez *et al.*, 2020); mancha foliar, *Cercospora physalidis*, la cenicilla causada por *Podosphaera xanthii* (Félix-Gastélum *et al.*, 2007); amarillamiento-marchitez por *Fusarium* sp. (Soto-Zarazúa *et al.*, 1998). En Sinaloa, la marchitez es después de la virosis, le enfermedad más importante, con pérdidas que pueden alcanzar 50% (Ayala-Armenta *et al.*, 2020).

La enfermedad denominada marchitez del tomatillo, se manifiesta como una clorosis y flacidez del follaje; los frutos con frecuencia se desprenden de forma prematura; las raíces muestran una pudrición color café claro a café oscuro y a veces también se observan tonos rosados, rojizos o violetas; la pudrición se puede extender hacia el cuello y base del tallo (Apodaca-Sánchez, 2005; Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008; Vázquez-López *et al.*, 2009).

La marchitez es de etiología compleja, pues en Sinaloa se han reportado como asociados a la enfermedad un grupo de hongos, entre los cuales los más frecuentes son *Fusarium oxysporum*, *Fusarium solani* y *Rhizoctonia solani* (Apodaca-Sánchez, 2005; Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008), cuya patogenicidad fue comprobada (Flores-Sánchez *et al.*, 2009), pero la identidad de los hongos fue determinada solo con base en morfología, lo cual representó un elemento de incertidumbre. En forma reciente, también en Sinaloa, con base en análisis filogenéticos de 37 aislados patogénicos obtenidos de plantas sintomáticas de tomatillo, se comprobó la identidad de *F. oxysporum* en 29.8% de los aislados, *F. nygamai* 8.1%, *M. phaseolina* 13.5%,

Neocosmospora falciformis 8.1% y *Rhizoctonia solani* AG-4 HGI 40.5% de los aislados (Ayala-Armenta *et al.*, 2020; Capítulo 2).

A la fecha, es escasa la información relacionada sobre la respuesta de las variedades de tomatillo sembradas en México, hacia hongos con origen en el suelo asociados a marchitez. En un trabajo realizado en Sinaloa, se evaluó la respuesta a virosis y hongos con origen en el suelo en once cultivares y dos líneas experimentales (BSM-58-1 y BSM-58-2) de tomatillo, contra el complejo de hongos con origen en el suelo *F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani*. Los genotipos menos afectados fueron las líneas BSM-58-1 y BSM-58-2, con 21 y 17% de plantas con marchitez (Flores-Sánchez, 2009). En otro trabajo detectado se evaluó la tolerancia en 95 genotipos de tomatillo al hongo *Fusarium* sp. y de los genotipos, 10 presentaron mayor tolerancia a este patógeno y seis genotipos fueron resistentes (Soto-Zarazúa *et al.*, 1998).

En México, las medidas de manejo químico y cultural por lo común son ineficaces contra los hongos asociados a la marchitez. El manejo sustentable de la enfermedad, se debería de basar en la siembra de genotipos resistentes o tolerantes, pero se desconoce el comportamiento de las variedades comerciales en relación a una posible resistencia o tolerancia. El objetivo del presente trabajo fue evaluar en invernadero, la respuesta de siete genotipos comerciales de tomatillo, a distintos aislados de los hongos *F. oxysporum*, *M. phaseolina* y *R. solani*, causantes de la marchitez del tomatillo, en Sinaloa.

3.4. MATERIALES Y MÉTODOS

3.4.1. Tratamientos.

En condiciones de invernadero se probaron seis aislados de *F. oxysporum* con clave de acceso del banco de genes (F-131 (MN270353), 135 (MN270354), 140 (MN270356), 143 (MN270360), 145 (MN270358) y F-146 (MN270362), dos aislados de *M. phaseolina* M-147 (MN270374) y M-150 (MN270377) y tres de *R. solani* del grupo de anastomosis AG-4 HGI R-115 (MN264605), 116 (MN264606) y R-118 (MN264607); dichos hongos fueron identificados en forma previa mediante morfología, análisis molecular y filogenia en una fase inicial del trabajo. Los aislados se escogieron con base en el criterio de severidad $\geq 50\%$ (Ayala-Armenta *et al.*, 2020; Capítulo 2).

Siete cultivares comerciales de tomatillo, con amplia distribución en México fueron sembradas: Dalí (HM Clause), Gabriela, Puebla, San Miguel, Siqueiros (HM Clause), Tamayo (HM Clause) y Tecozautla.

3.4.2. Inoculación y desarrollo del ensayo

Macetas de poliestireno expandido (EPS), con capacidad de 2 L, se llenaron con sustrato estéril de arena + peat moss 1:3 v/v, previamente infestado con el aislado correspondiente de las tres especies en estudio. El inóculo de *F. oxysporum* se incrementó en grano de maíz (Gilchrist-Saavedra *et al.*, 2005; López-Valenzuela *et al.*, 2014). En cambio, *R. solani* y *M. phaseolina* se multiplicaron en granos de sorgo (*Sorghum bicolor*) (Sneh y Ogoshi 1991, citados por (Fernández-Herrera *et al.*, 2013). En ambos casos el grano se lavó con agua destilada y se remojó por 24 horas, luego se absorbió el exceso de agua con papel absorbente. El grano se esterilizó en frascos de 1 L por dos periodos de una hora a 121 °C a 15 libras de presión. Los aislados crecieron en PDA a temperatura ambiente (24 ± 3 °C), hasta que el micelio cubrió la caja. El crecimiento micelial en PDA se transfirió en tiras a los frascos con granos y se agitó hasta homogenizarlos. El inóculo se incubó por 30 días en oscuridad a temperatura ambiente (24 ± 3 °C) con agitación manual diaria, previo a la inoculación en el sustrato, de acuerdo con Sneh y Ogoshi (1991) citado por (Fernández-Herrera *et al.*, 2013), con ligeras modificaciones.

Los aislados fúngicos se inocularon previo a la siembra del tomatillo. En cada maceta, para *F. oxysporum* se aplicaron 8 g de maíz infestados, cuya densidad fue de 1.6×10^5 UFC, similar a lo reportado por Chehri *et al.* (2011); mientras que para *R. solani* y *M. phaseolina* se utilizaron 8 g de grano de sorgo infectado (Sneh y Ogoshi 1991, citado por Fernández-Herrera *et al.*, 2013) con modificaciones mínimas. Para *M. phaseolina* la densidad fue de 115 UFC/g de suelo (Torrealba *et al.*, 2015) y para *R. solani* 100 UFC/g de suelo (Hernández-Castillo *et al.*, 2014). En cada maceta se sembraron cinco semillas, cubiertas por una capa de 2 cm del mismo sustrato, después la maceta se cubrió con una tapa de plástico y se dejó un orificio para su ventilación. Cada tratamiento se conformó por la combinación de un aislado fúngico y una variedad. El ensayo se ajustó a un diseño completo al azar, con tres repeticiones.

Como testigo se sembraron semillas sobre el sustrato sin inóculo. Las macetas se incubaron durante cinco días, a temperatura de laboratorio (20-24 °C) y después en invernadero por 30 días a 15-30 °C. El agua y la solución nutritiva se aplicaron con oportunidad de acuerdo con los requerimientos, para evitar estrés de las plantas.

Con el fin de corroborar los postulados de Koch, a partir de cada planta inoculada se analizó una muestra de raíces en PDA. Las cepas obtenidas fueron analizadas al microscopio para confirmar que su identidad fuera la que correspondía al aislado inoculado en un principio.

3.4.3. Variables evaluadas y su análisis estadístico

La emergencia de plántulas se evaluó a los nueve días después de la inoculación (ddi). A los 30 ddi se midió la altura de plántula, diámetro de tallo, volumen de raíz, peso seco de tallo y follaje. La severidad de los síntomas se estimó con la escala de Correll *et al.* (1986) modificada, donde se consideraron las categorías: 0= planta sana; 1= ligera decoloración de la raíz; 2= decoloración extensiva del tejido vascular de la raíz; 3= ligera pudrición de la raíz; 4= pudrición extensiva de la raíz; y 5= semilla no germinada o planta muerta. En el caso de los valores promedio de severidad para cada tratamiento, cuando fue pertinente, los datos fueron convertidos a porcentaje, mediante simple regla de tres, tomando como 100% el valor máximo de la escala (valores promedio de severidad ≥ 40 % se consideran como susceptibles)

El análisis de los datos se realizó mediante la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro y Wilk, 1965) para constatar normalidad y la prueba de F para la homogeneidad de varianzas. Sin embargo, los supuestos no se cumplieron, aun después de la transformación, por lo que el análisis de varianza se hizo con la prueba de Kruskal-Wallis (Kruskal y Wallis, 1952) y en las variables donde hubo diferencias significativas ($P \leq 0.05$), se efectuó la comparación de rangos medios de Conover (Conover *et al.*, 1981).

3.5. RESULTADOS

3.5.1. Síntomas generales

En las semillas sembradas en suelo infestado con *F. oxysporum* se presentó pudrición, lo cual impidió su germinación; así mismo hubo muerte post emergente de plántulas, debido a la pudrición de la raíz, que se tornó de color café a rosáceo (Figura 11A). Las plántulas sobrevivientes presentaron amarillamiento y desarrollo radical reducido (Figura 11B), así como marchitez y muerte paulatina (Figura 11C).



Figura 11. Plántulas de tomatillo con síntomas de marchitez por *Fusarium oxysporum*, a los 30 días después de la inoculación. A) Gabriela aislado F-131; B) Tamayo aislado F-140; C) Gabriela aislado F-145.

En las plantas emergidas de semillas que fueron sembradas en suelo infestado con *M. phaseolina*, hubo secadera (damping-off) preemergente y disminuyó la emergencia de plántulas (Figura 12A); la raíz se tornó color negro, el follaje mostró una coloración amarilla, mientras que los tallos fueron delgados y de color café (Figura 12B); las hojas se desprendieron y las plántulas murieron de forma prematura (Figura 12C). Las plantas testigo se mantuvieron sanas hasta el final del ensayo. Los hongos reaislados fueron de morfología similar a los respectivos patógenos inoculados, con lo cual se cumplieron los postulados de Koch.

La sintomatología fue similar en las plantas expuestas a *R. solani*, ya que también se observó pudrición de semilla y raíces de color café (Figura 13A), así como

ahorcamiento en la base del tallo, marchitez y clorosis en hojas y ramas (Figura 13B); por último ocurrió la muerte prematura de las plántulas (Figura 13C).



Figura 12. Plántulas de tomatillo con síntomas de marchitez por *Macrophomina phaseolina* a los 30 días después de la inoculación. A) Tamayo aislado M-147; B) San Miguel aislado M-147; C) Tecozautla aislado M-147.



Figura 13. Plántulas de tomatillo con síntomas de marchitez por *Rhizoctonia solani*, a los 30 días después de la inoculación. A) Dalí aislado R-116; B) San Miguel aislado R-118; C) Puebla Aislado R-118.

3.5.2. Híbrido Dalí

3.5.2.1. *Fusarium oxysporum*.

La emergencia de plántulas, en el híbrido Dalí inoculado con *F. oxysporum*, no presentó diferencias ($P \geq 0.05$) entre aislados ni con el testigo. La altura de planta, el diámetro de tallo y volumen de raíz en los aislados F-145 y 140 presentaron diferencias estadísticas con respecto al testigo ($P \leq 0.05$). El peso seco de tallo y follaje fue diferente entre el testigo con 0.7 g y los aislados F-145 y 146 con 0.2 g de forma

respectiva, y 140 con 0.1 g ($P \leq 0.05$). La severidad mostró que los aislados fueron virulentos, aunque F-135 y 143 no se diferenciaron del testigo (Cuadro 5).

Cuadro 5. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) híbrido Dalí en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Diámetro tallo		Volumen raíz		Severidad	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	63.3	9.2	24.5	10.0 ^{ab}	5.6	11.0 ^{ab}	4.2	14.0 ^{bc}	3.0	21.0 ^b
F-135	70.3	11.3	48.5	15.0 ^{bc}	7.1	11.2 ^{ab}	3.3	12.2 ^{ac}	1.2	13.7 ^{ab}
F-140	66.7	9.0	10.8	3.2 ^a	3.0	3.7 ^a	0.9	3.2 ^a	3.7	23.5 ^b
F-143	76.7	13.5	59.0	15.3 ^{bc}	9.6	17.7 ^b	2.7	9.7 ^{ac}	1.0	13.3 ^{ab}
F-145	43.3	3.5	10.4	4.5 ^a	3.6	4.5 ^a	1.3	4.7 ^{ab}	3.3	23.3 ^b
F-146	70.0	10.5	29.3	9.0 ^{ab}	6.0	10.3 ^{ab}	4.0	14.0 ^{bc}	2.0	16.7 ^b
Testigo	100.0	20.0	122.7	20.0 ^c	9.8	18.0 ^b	6.2	19.3 ^c	0.0	5.0 ^a
C.V.	28.9	55.5	86.9	56.4	45.4	56.4	62.4	56.3	93.2	55.4

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Columnas cuyos valores de rangos no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

3.5.2.2. *Macrophomina phaseolina*.

El efecto de la inoculación de *M. phaseolina* en el híbrido Dalí presentó diferencias entre el aislado M-147 y el testigo ($P \leq 0.05$) en emergencia de plántulas, altura de planta, diámetro de tallo y peso seco del follaje. El volumen de raíz fue no significativo ($P \geq 0.05$), el aislado M-147 mostró 4.6 mL, M-150 6.2 mL y el testigo 7.0 mL. La severidad reflejó la virulencia de los aislados, los cuales fueron diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 6).

3.5.2.3. *Rhizoctonia solani*.

La inoculación de *R. solani* en el híbrido Dalí presentó efecto en la emergencia de plántulas y en altura de planta, con diferencias significativas sólo entre el testigo y los aislados R-116 y 118 ($P \leq 0.05$). El diámetro de tallo fue diferente entre el testigo y

los aislados R-116 y 118. El volumen de raíz no mostró diferencias significativas ($P \geq 0.05$) (datos no mostrados). El peso seco fue diferente entre el testigo y el aislado R-118 ($P \leq 0.05$). En cuanto a virulencia todos los aislados fueron diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo, pero iguales entre sí (Cuadro 7).

Cuadro 6. Efecto de dos aislados de *Macrophomina phaseolina* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) híbrido Dalí en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura planta (cm)		Diámetro tallo (mm)		Peso seco (g)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
M-147	66.7	2.3 ^a	44.2	2.7 ^a	7.5	2.0 ^a	0.5	2.0 ^a	2.0	14.0 ^b
M-150	83.3	4.7 ^{ab}	56.8	4.3 ^{ab}	9.9	5.7 ^{ab}	0.7	5.0 ^{ab}	0.8	11.0 ^b
Testigo	100.0	8.0 ^b	90.7	8.0 ^b	10.3	7.3 ^b	0.9	8.0 ^b	0.0	5.0 ^a
C.V.	19.0	52.7	35.3	54.8	17.4	54.8	29.3	54.5	148.6	49.5

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje.

Cuadro 7. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) híbrido Dalí en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura planta (cm)		Diámetro tallo (mm)		Peso seco (g)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	86.7	8.0 ^{ab}	60.2	7.7 ^{ab}	9.9	9.2 ^{bc}	0.5	5.0 ^{ab}	1.3	14.8 ^b
R-116	46.7	2.8 ^a	38.7	4.7 ^a	6.5	4.0 ^{ab}	0.7	7.8 ^{ab}	2.8	19.2 ^b
R-118	63.3	4.7 ^a	28.5	2.7 ^a	5.2	3.0 ^a	0.4	2.5 ^a	2.2	17.0 ^b
Testigo	100.0	10.5 ^b	90.7	11.0 ^b	10.3	9.8 ^c	0.9	10.7 ^b	0.0	6.5 ^a
C.V.	32.8	54.2	48.7	55.5	32.3	55.4	38.6	55.3	132.6	50.8

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje.

3.5.3. Variedad Gabriela

3.5.3.1. *Fusarium oxysporum*.

La variedad Gabriela inoculada con *F. oxysporum* mostró que la emergencia de plántulas se redujo en F-140, F-131, F-135 y F-145, todos éstos fueron diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo, mientras que F-146 y F-143 fueron iguales. La altura de planta no presentó diferencia entre los aislados F-140, 131, 145 y 146; sin embargo, éstos fueron diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo. En diámetro de tallo los aislados F-140, 131, y 146 fueron diferentes al testigo ($P \leq 0.05$). El volumen de raíz y peso seco de tallo y follaje presentaron diferencias ($P \leq 0.05$) entre el testigo y los aislados F-140 y 146. El aislado F-143 no mostró la suficiente severidad para diferenciarse del testigo (Cuadro 8).

Cuadro 8. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Gabriela en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura planta (cm)		Diámetro tallo (mm)		Volumen raíz (ml)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	66.7	7.5 ^{ab}	44.8	6.0 ^{ab}	6.2	7.5 ^a	4.1	9.7 ^{ac}	3.0	30.5 ^b
F-135	73.3	9.5 ^{ab}	84.5	14.5 ^{bd}	8.5	11.7 ^{ac}	5.2	12.7 ^{bc}	1.3	22.8 ^b
F-140	40.0	3.5 ^a	10.7	2.0 ^a	1.7	2.0 ^a	1.3	2.0 ^a	4.5	30.5 ^b
F-143	90.0	15.8 ^{bc}	99.2	16.5 ^{cd}	12.3	17.7 ^{bc}	5.2	14.8 ^{bc}	0.7	20.3 ^{ab}
F-145	73.3	9.3 ^{ab}	54.7	9.3 ^{ac}	7.1	11.2 ^{ac}	4.2	10.0 ^{ac}	2.7	28.7 ^b
F-146	80.0	11.0 ^{ac}	52.0	8.7 ^{ac}	6.6	8.0 ^{ab}	3.8	8.7 ^{ab}	2.5	27.7 ^b
Testigo	100.0	19.5 ^c	127.0	20.0 ^d	13.0	19.0 ^c	7.2	19.2 ^c	0.0	9.5 ^a
CV	29.2	55.6	55.6	56.4	48.5	56.4	43.8	56.3	126.2	53.2

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación.

3.5.3.2. *Macrophomina phaseolina*.

En la variedad Gabriela, inoculada con *M. phaseolina*, no hubo diferencias estadísticas significativas ($P \geq 0.05$) en emergencia de plántula, altura de planta, diámetro de tallo, así como en volumen de raíz (datos no mostrados). El peso seco de

tallo y follaje fue diferente entre el aislado M-147 y el testigo ($P \leq 0.05$). Los aislados fueron igual de virulentos, pero diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 9).

Cuadro 9. Efecto de dos aislados de *Macrophomina phaseolina* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Gabriela en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Diámetro tallo		Peso seco		Severidad	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
M-147	90.0	3.7	105.0	3.5	10.4	4.3	0.8	3.0 ^a	0.7	6.5 ^b
M-150	93.3	4.3	112.8	4.8	9.2	3.7	0.9	4.0 ^{ab}	0.7	6.5 ^b
Testigo	100.0	7.0	132.8	6.7	11.5	7.0	1.2	8.0 ^b	0.0	2.0 ^a
C.V.	7.7	49.0	17.1	54.5	17.8	54.8	22.5	54.5	88.0	51.2

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Peso seco= peso seco de tallo y follaje. Columnas cuyos valores de rangos no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

3.5.3.3. *Rhizoctonia solani*.

Los aislados R-116 y 118 de *R. solani*, fueron diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo en cuanto a la emergencia de plántulas, la altura de planta y volumen de raíz. El testigo fue diferente al aislado R-118 en diámetro de tallo ($P \leq 0.05$). El peso seco de tallo y follaje fue sin diferencias significativas ($P \geq 0.05$), el testigo con 0.9 g y en R-116 0.8 g, en R-118 0.4 g y en R-115 con 0.7 g. Todos los aislados fueron virulentos y diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 10).

3.5.4. Variedad Puebla

3.5.4.1. *Fusarium oxysporum*.

La emergencia de plántulas y el diámetro de tallo de la variedad Puebla se redujo con la inoculación de *F. oxysporum*, en dichas variables los aislados F-140 y 131, fueron diferentes al testigo ($P \leq 0.05$). En altura de planta el testigo fue diferente a los aislados F-140, 131 y 145 ($P \leq 0.05$), pero sin diferencias ($P \geq 0.05$) en volumen de

raíz (datos no mostrados). El peso seco de tallo y follaje presentó diferencias entre los aislados ($P \leq 0.05$), F-140 fue diferente a F-135 y al testigo. Los aislados con mayor virulencia y diferentes al testigo ($P \leq 0.05$) fueron F-140, 131, 145 y 146 (Cuadro 11).

Cuadro 10. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Gabriela en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Diámetro tallo		Volumen raíz		Severidad	
	(%)		(cm)		(mm)		(mL)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	96.7	9.0 ^{bc}	104.8	9.0 ^{bc}	11.5	10.0 ^b	5.5	8.3 ^{ab}	0.8	17.0 ^b
R-116	46.7	3.2 ^a	59.2	4.0 ^{ab}	6.6	4.5 ^{ab}	4.0	3.8 ^a	2.7	22.2 ^b
R-118	50.0	3.8 ^{ab}	58.7	3.0 ^a	5.6	2.5 ^a	3.7	3.2 ^a	2.3	20.8 ^b
Testigo	100.0	10.0 ^c	113.8	10.0 ^c	11.5	9.0 ^b	6.9	10.7 ^b	0.0	8.0 ^a
C.V.	36.5	53.0	33.8	55.5	33.9	55.4	29.6	55.4	151.3	49.2

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación.

Cuadro 11. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Puebla en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Diámetro tallo		Peso seco		Severidad	
	(%)		(cm)		(mm)		(g)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	60.0	4.5 ^{ab}	35.7	6.3 ^{ab}	5.4	6.0 ^{ab}	0.4	8.3 ^{ab}	3.2	22.3 ^{bc}
F-135	90.0	11.5 ^{ac}	93.8	16.0 ^{bc}	9.8	13.3 ^{bc}	0.7	16.8 ^{bc}	0.5	11.5 ^{ab}
F-140	53.3	2.8 ^a	9.8	2.0 ^a	1.9	2.0 ^a	0.1	2.7 ^a	4.3	25.8 ^c
F-143	96.7	14.3 ^{bc}	90.5	15.0 ^{bc}	11.0	17.2 ^c	0.5	10.7 ^{ac}	0.5	5.0 ^{ab}
F-145	86.7	10.8 ^{ac}	36.0	7.3 ^{ab}	8.1	10.0 ^{ac}	0.5	11.5 ^{ac}	2.3	20.4 ^{bc}
F-146	100.0	16.5 ^c	62.5	10.3 ^{ac}	8.4	9.8 ^{ac}	0.4	8.0 ^{ab}	1.5	16.8 ^{bc}
Testigo	100.0	16.5 ^c	117.3	20.0 ^c	11.2	18.7 ^c	0.8	19.0 ^c	0.0	6.0 ^a
C.V.	24.3	53.1	59.5	56.4	42.9	56.4	54.5	56.3	116.0	54.6

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} =

datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje.

3.5.4.2. *Macrophomina phaseolina*.

Los aislados de *M. phaseolina* para emergencia de plántulas, diámetro de tallo y volumen de raíz no exhibieron diferencias significativas ($P \geq 0.05$). La altura de planta se mostró sin diferencias entre los aislados, pero el aislado M-147 fue diferente al testigo ($P \leq 0.05$). Para el peso de tallo y follaje no hubo diferencia entre los aislados, pero M-150 fue diferente al testigo ($P \leq 0.05$), datos no mostrados. Ambos aislados fueron virulentos y diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 12).

Cuadro 12. Efecto de dos aislados de *Macrophomina phaseolina* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Puebla en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Diámetro tallo		Volumen raíz		Severidad	
	(%)		(cm)		(mm)		(ml)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
M-147	90.0	2.5	89.8	2.3 ^a	9.7	4.0	5.7	5.0	1.0	10.5 ^b
M-150	96.7	5.5	106.8	4.7 ^{ab}	9.5	4.0	5.3	3.7	0.7	8.5 ^b
Testigo	100.0	7.0	134.0	8.0 ^b	10.6	7.0	6.2	6.3	0.0	3.5 ^a
C.V.	5.5	5.5	18.8	54.5	9.8	18.8	52.2	13.9	112.5	50.8

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Columnas cuyos valores de rangos no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

3.5.4.3. *Rhizoctonia solani*.

La variedad Puebla inoculada con *R. solani*, mostró reducción en la emergencia de plántulas y de altura de planta, el aislado R-116 presentó diferencias significativas con respecto al testigo ($P \leq 0.05$). El volumen de raíz mostró ligera disminución en los aislados, aunque sin diferencia significativas ($P \geq 0.05$), el aislado R-115 tuvo 4.2 mL, en R-118 fue de 4.3 mL, 4.5 mL para R-116 y el testigo con 6.2 mL. El diámetro de

tallo en los aislados R-116 y 118 fue diferente con relación al testigo ($P \leq 0.05$). En peso seco no hubo diferencias ($P \geq 0.05$). Los aislados fueron virulentos con diferencias ($P \leq 0.05$) respecto al testigo (Cuadro 13).

Cuadro 13. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Puebla en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura planta (cm)		Diámetro tallo (mm)		Peso seco (g)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	96.7	9.0 ^b	104.3	9.0 ^b	10.6	9.3 ^{bc}	0.7	7.0	0.7	17.0 ^b
R-116	43.3	2.5 ^a	42.7	2.3 ^a	6.4	3.3 ^a	0.6	7.3	2.7	21.7 ^b
R-118	60.0	4.5 ^{ab}	59.3	4.7 ^{ab}	6.4	3.7 ^{ab}	0.5	3.2	2.5	21.3 ^b
Testigo	100.0	10.0 ^b	106.8	10.0 ^b	11.4	9.7 ^c	0.7	8.5	0.0	8.0 ^a
C.V.	33.0	53.3	39.7	55.3	30.7	55.5	19.5	54.7	160.5	49.2

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Peso seco= peso seco de tallo y follaje. Columnas cuyos valores de rangos no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

3.5.5. Variedad San Miguel

3.5.5.1. *Fusarium oxysporum*.

El material San Miguel inoculado con *F. oxysporum*, para la variable emergencia se presentaron diferencias significativas entre los aislados F-140, 131 y el testigo ($P \leq 0.05$). La altura de planta entre los aislados F-146, 143 y 135 fue igual al testigo, el diámetro de tallo fue menor en los aislados F-140 y 131, con diferencia ($P \leq 0.05$) a F-135, 143 y al testigo (Cuadro 14). El volumen de raíz fue mayor en el testigo, pero sin diferencia con los aislados F-131, 135, y 143. En peso seco de follaje los aislados F-145 con 0.4 g, 140 con 0.2 g, 146 con 0.3 g y 131 con 0.4 g fueron diferentes al testigo ($P \leq 0.05$), mientras que los aislados F-135 con 0.7 g y 143 con 0.6 g se comportaron similares al testigo con valor de 0.9 g. Los aislados más virulentos fueron F-145, 140, 146 y 131 con diferencias ($P \leq 0.05$) respecto al testigo (Cuadro 14).

Cuadro 14. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. San Miguel en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Diámetro tallo		Volumen raíz		Severidad	
	(%)		(cm)		(mm)		(mL)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	50.0	4.5 ^{ab}	28.3	5.3 ^{ab}	4.2	5.3 ^a	4.3	12.2 ^{ad}	3.5	22.8 ^{bc}
F-135	86.7	12.7 ^{bc}	89.7	15.7 ^{cd}	11.2	17.3 ^b	6.6	17.0 ^{cd}	0.7	10.7 ^{ab}
F-140	36.7	2.5 ^a	14.7	2.7 ^a	2.5	2.3 ^a	1.3	3.3 ^a	4.2	25.3 ^c
F-143	93.3	14.5 ^c	86.3	14.7 ^{bd}	11.9	17.5 ^b	5.0	13.7 ^{bd}	0.8	14.3 ^{ac}
F-145	86.7	11.8 ^{ac}	38.3	7.7 ^{ac}	6.0	9.0 ^{ab}	1.8	5.3 ^{ab}	2.3	20.3 ^{bc}
F-146	90.0	12.5 ^{bc}	61.2	11.0 ^{ad}	7.6	10.2 ^{ab}	2.3	7.2 ^{ac}	1.7	16.0 ^{bc}
Testigo	100.0	18.5 ^c	126.7	20.0 ^d	11.3	15.3 ^b	7.1	18.3 ^d	0.0	5.5 ^a
C.V.	31.3	55.1	62.7	56.4	49.0	56.4	59.2	56.1	101.8	55.0

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de conmoveer ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación.

3.5.5.2. *Macrophomina phaseolina*.

La emergencia de plántulas, la altura de planta, el diámetro de tallo y el peso seco de tallo y follaje fue diferente ($P \leq 0.05$) entre el aislado M-147 de *M. phaseolina* y el testigo. El volumen de raíz fue sin diferencias estadísticas ($P \geq 0.05$). La severidad mostró que los aislados fueron virulentos ($P \leq 0.05$) y diferentes al testigo (Cuadro 15).

3.5.5.3. *Rhizoctonia solani*.

La emergencia de plántulas fue afectada por la inoculación con *R. solani*, pero el aislado R-116 fue el único diferente al testigo ($P \leq 0.05$). La altura de planta fue menor en el aislado R-116 con 51.3 cm, seguido de R-118 con 54.5 cm, mientras que R-115 y el testigo presentaron 103.5 y 108.2 cm de manera respectiva, pero sin diferencias

($P \geq 0.05$) entre ellos. En diámetro de tallo, volumen de raíz y peso seco de tallo y follaje no hubo diferencias estadísticas significativas ($P \geq 0.05$); sin embargo, los tres aislados fueron virulentos y diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 16).

Cuadro 15. Efecto de dos aislados de *Macrophomina phaseolina* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. San Miguel en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Diámetro tallo		Peso seco		Severidad	
	(%)		(cm)		(mm)		(g)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
M-147	66.7	2.0 ^a	65.8	2.0 ^a	7.8	2.0 ^a	0.6	2.0 ^a	1.8	14.0 ^b
M-150	93.3	5.5 ^{ab}	108.2	5.0 ^{ab}	9.9	5.3 ^{ab}	1.0	5.0 ^{ab}	0.7	11.0 ^b
Testigo	100.0	7.5 ^b	139.2	8.0 ^b	11.3	7.7 ^b	1.3	8.0 ^b	0.0	5.0 ^a
C.V.	19.1	52.0	32.4	54.5	17.2	54.8	36.7	54.5	151.2	49.4

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje.

Cuadro 16. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. San Miguel en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia*		Diámetro tallo		Volumen raíz		Peso seco		Severidad	
	(%)		(mm)		(mL)		(g)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	83.3	7.3 ^{ab}	10.8	8.3	4.3	4.5	0.8	7.7	1.0	17.2 ^b
R-116	50.0	2.0 ^a	8.0	6.0	5.1	6.7	0.7	5.8	2.0	21.0 ^b
R-118	70.0	5.7 ^{ab}	6.9	2.7	4.1	3.8	0.5	2.8	2.2	21.8 ^b
Testigo	100.0	11.0 ^b	11.3	9.0	7.1	11.0	1.0	9.7	0.0	8.0 ^a
C.V.	27.8	54.2	28.0	55.5	27.7	55.3	31.2	55.2	145.3	49.1

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje. Columnas cuyos valores de rangos no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

3.5.6. Híbrido Siqueiros

3.5.6.1. *Fusarium oxysporum*.

El híbrido Siqueiros inoculado con *F. oxysporum* presentó disminución en la emergencia de plántulas, en la cual los aislados F-140, 135, 131 y F-145 tuvieron diferencias ($P \leq 0.05$) con el testigo (Cuadro 17). En altura de planta, en diámetro de tallo y peso seco de tallo y follaje, los aislados F-140, 131, 145 y F-146 tuvieron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) con respecto al testigo. El volumen de raíz no mostró diferencias significativas ($P \geq 0.05$) (datos no mostrados). Los aislados más virulentos fueron F-140, 135, 131, 145 y F-146 y diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 17).

Cuadro 17. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) híbrido Siqueiros en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura planta (cm)		Diámetro tallo (mm)		Peso seco (g)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	63.3	8.3 ^{ab}	18.7	5.8 ^a	4.5	7.0 ^{ab}	0.2	7.8 ^{ab}	3.2	19.3 ^b
F-135	56.7	5.7 ^a	38.2	12.0 ^{ac}	6.7	11.3 ^{ac}	0.3	11.8 ^{ac}	2.2	14.0 ^b
F-140	53.3	4.3 ^a	17.2	5.7 ^a	3.3	3.3 ^a	0.2	6.0 ^a	3.3	20.0 ^b
F-143	86.7	16.2 ^{bc}	54.3	17.0 ^{bc}	8.7	16.8 ^{bc}	0.5	16.2 ^{bc}	1.0	8.3 ^{ab}
F-145	70.0	8.5 ^{ab}	24.2	7.5 ^{ab}	5.6	9.0 ^{ab}	0.3	9.2 ^{ab}	2.5	15.8 ^b
F-146	80.0	13.5 ^{ac}	30.0	9.0 ^{ab}	5.8	9.5 ^{ab}	0.2	6.0 ^a	2.2	14.0 ^b
Testigo	96.7	19.5 ^c	127.7	20.0 ^c	10.5	20.0 ^c	0.7	20.0 ^c	0.0	3.5 ^a
C.V.	26.1	55.6	85.5	56.4	41.8	56.4	62.7	56.1	76.2	55.8

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de conmovedor ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje.

3.5.6.2. *Macrophomina phaseolina*.

En material Siqueiros inoculado con *M. phaseolina* la emergencia de plántulas y altura de planta fue diferente entre el testigo y el aislado M-147 ($P \leq 0.05$), pero sin diferencias ($P \geq 0.05$) en el diámetro de tallo y en peso seco tallo y follaje (Cuadro 18), ni para el volumen de raíz, el cual fue de 5.3 mL, 5.5 mL y 5.8 mL en M-147, 150 y el testigo, en ese mismo orden. La severidad mostró que ambos aislados fueron virulentos y diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 18).

Cuadro 18. Efecto de dos aislados de *Macrophomina phaseolina* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) híbrido Siqueiros en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Diámetro tallo		Peso seco		Severidad	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
M-147	60.0	3.0 ^a	36.3	2.3 ^a	5.9	2.7	0.5	3.0	2.5	10.0 ^b
M-150	60.0	4.0 ^{ab}	63.0	4.7 ^{ab}	9.0	5.7	0.7	5.2	1.8	9.0 ^b
Testigo	100.0	8.0 ^b	90.5	8.0 ^b	10.5	6.7	0.8	6.8	0.0	3.5 ^a
C.V.	29.7	52.7	41.6	54.8	31.4	54.8	41.3	53.6	114.5	51.6

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje. Columnas cuyos valores de rangos no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

3.5.6.3. *Rhizoctonia solani*.

En las macetas con suelo inoculado con *R. solani* se mostró que en la emergencia de plántulas no hubo diferencias entre los aislados; sin embargo, el aislado R-116 fue diferente ($P \leq 0.05$) al testigo. La altura de planta y el diámetro de tallo en los aislados R-116 y R-118 fueron diferentes al testigo ($P \leq 0.05$) y este último de igual manera es diferente en volumen de raíz al aislado R-115 ($P \leq 0.05$). En peso seco del follaje el testigo fue diferente ($P \leq 0.05$) a los aislados R-118 y R-115, datos no mostrados; la severidad no presentó diferencias entre los aislados, pero si fueron diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 19).

Cuadro 19. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) híbrido Siqueiros en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Diámetro tallo		Volumen raíz		Severidad	
	(%)		(cm)		(mm)		(mL)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	80.0	7.8 ^{ab}	65.8	8.3 ^{ab}	10.4	9.0 ^{ab}	1.8	2.0 ^a	1.5	12.0 ^b
R-116	36.7	2.8 ^a	27.5	3.0 ^a	5.3	3.7 ^a	3.8	7.5 ^{ab}	3.3	15.8 ^b
R-118	53.3	4.8 ^{ab}	32.8	4.0 ^a	4.9	3.3 ^a	3.4	5.5 ^{ab}	2.7	14.2 ^b
Testigo	100.0	10.5 ^b	90.5	10.7 ^b	10.5	10.0 ^b	5.8	11.0 ^b	0.0	5.0 ^a
C.V.	42.9	53.9	54.0	55.5	41.4	55.5	40.4	55.3	121.4	52.5

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación.

3.5.7 Híbrido Tamayo

3.5.7.1. *Fusarium oxysporum*.

En las plantas del híbrido Tamayo inoculadas con *F. oxysporum*, en la emergencia de plántulas los aislados F-140, 146 y F-131 mostraron diferencias estadísticas con respecto al testigo. Para altura de planta y diámetro de tallo los aislados F-145, 140, 146 y F-131 fueron diferentes al testigo ($P \leq 0.05$). En volumen de raíz (datos no mostrados) no hubo diferencias estadísticas significativas ($P \geq 0.05$) entre tratamientos. En peso seco de tallo y follaje los aislados F-145, 140 y 146 fueron diferente al testigo (Cuadro 20). Para la variable severidad se mostró que los aislados más virulentos fueron F-145, 140, 146, y F131; estos fueron diferentes al testigo (Cuadro 20).

Cuadro 20. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) híbrido Tamayo en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia* %		Altura planta (cm)		Diámetro tallo (mm)		Peso seco (g)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	66.7	7.3 ^{ab}	24.3	7.7 ^{ab}	4.4	6.8 ^{ab}	0.3	10.3 ^{ac}	3.3	22.0 ^b
F-135	70.0	9.7 ^{ac}	59.2	15.0 ^{bc}	8.5	13.3 ^{bd}	0.4	12.8 ^{bc}	1.3	13.8 ^{ab}
F-140	56.7	4.2 ^a	8.5	3.3 ^a	2.1	3.3 ^a	0.03	2.5 ^a	4.4	24.7 ^b
F-143	73.3	15.7 ^{bc}	65.7	16.0 ^{bc}	11.2	17.7 ^{cd}	0.4	15.0 ^{bc}	0.7	12.2 ^{ab}
F-145	80.0	12.0 ^{ac}	21.5	6.3 ^{ab}	4.6	7.2 ^{ab}	0.2	8.3 ^{ab}	3.3	21.3 ^b
F-146	80.0	8.7 ^{ab}	28.0	8.7 ^{ab}	6.0	9.3 ^{ac}	0.2	8.0 ^{ab}	2.2	17.0 ^b
Testigo	100.0	19.5 ^c	121.3	20.0 ^c	11.8	19.7 ^d	0.6	20.0 ^c	0.0	5.0 ^a
C.V.	22.7	55.6	81.0	56.4	55.1	56.4	70.1	56.1	97.7	55.5

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación.

3.5.7.2. *Macrophomina phaseolina*.

En los tratamientos Tamayo + *M. phaseolina* no hubo diferencias ($P \geq 0.05$) entre aislados para la emergencia de plántulas, diámetro de tallo y peso seco de tallo y follaje, pero el tratamiento M-147 fue diferente ($P \leq 0.05$) en dichas variables con respecto al testigo (Cuadro 21), pero sin diferencias entre los aislados en altura y volumen de raíz (datos no mostrados). La severidad mostró que los aislados fueron virulentos y diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 21).

3.5.7.3. *Rhizoctonia solani*.

En los tratamientos Tamayo + *R. solani*, el aislado R-116 indujo la menor emergencia de plántulas y fue diferente ($P \leq 0.05$) con respecto al testigo. En altura de planta y diámetro de tallo, los aislados R-116 y 118 fueron diferentes con respecto al testigo ($P \leq 0.05$). El volumen de raíz con los aislado R-115 y R-116, fue de manera significativa menor y diferente a R-118 así como al testigo ($P \leq 0.05$). En cuanto a peso seco de tallo y follaje (datos no mostrados) los aislados fueron sin diferencias

estadísticas, pero R-118 fue diferente al testigo ($P \leq 0.05$). Todos los aislados fueron virulentos y diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 22).

Cuadro 21. Efecto de dos aislados de *Macrophomina phaseolina* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) híbrido Tamayo en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia* (%)		Diámetro tallo (mm)		Peso seco (g)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
M-147	66.7	2.2 ^a	5.8	2.0 ^a	0.5	2.0 ^a	2.0	13.8 ^b
M-150	90.0	5.3 ^{ab}	9.5	5.0 ^{ab}	0.8	5.8 ^{ab}	0.7	11.2 ^b
Testigo	100.0	7.5 ^b	11.2	8.0 ^b	0.8	7.2 ^b	0.0	5.0 ^a
C.V.	19.5	52.0	80.1	54.8	26.1	54.3	167.9	49.4

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje.

Cuadro 22. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) híbrido Tamayo, en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura planta (cm)		Diámetro tallo (mm)		Volumen raíz (ml)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	83.3	8.0 ^{bc}	73.3	8.0 ^{ab}	9.9	8.2 ^{ab}	2.7	2.3 ^a	0.8	17.0 ^b
R-116	36.7	2.0 ^a	32.3	2.7 ^a	5.3	2.8 ^a	3.5	4.8 ^{ab}	3.2	23.0 ^b
R-118	53.3	5.0 ^{ab}	38.2	4.3 ^a	5.7	4.2 ^a	4.7	8.5 ^b	2.3	20.0 ^b
Testigo	100.0	11.0 ^c	90.7	11.0 ^b	11.2	10.8 ^b	5.5	10.3 ^b	0.0	8.0 ^a
C.V.	38.4	54.8	44.1	55.5	33.4	55.3	29.6	55.3	153.5	49.2

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación.

3.5.8. Variedad Tecozautla

3.5.8.1. *Fusarium oxysporum*.

En la variedad Tecozautla inoculada con *F. oxysporum*, en la emergencia de plántulas no hubo diferencias ($P \geq 0.05$) entre los aislados y el testigo. La altura de planta en los tratamientos con los aislados F-145, 140, 146, F-131 fue diferente al testigo ($P \leq 0.05$). En el diámetro de tallo hubo diferencias ($P \leq 0.05$) entre los aislados, F-140 y F-131 presentaron el menor diámetro y fueron diferentes a F-135, F-143 y al testigo (Cuadro 23). El volumen de raíz mostró diferencias entre los aislados F-145, 140, F-131 y el testigo ($P \leq 0.05$), en peso seco de tallo y follaje los aislados F-140 con 0.04 g, 146 0.3 g y 131 con 0.2 g fueron diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo con 0.7 g, los aislados más virulentos fueron F-145, 140, 146 y 131 y diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 23).

Cuadro 23. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Tecozautla en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura planta (cm)		Diámetro tallo (mm)		Volumen raíz (mL)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	66.7	10.0	16.3	5.3 ^{ab}	3.5	5.7 ^a	2.1	8.2 ^{ab}	3.8	16.3 ^{bc}
F-135	73.3	11.8	81.3	16.0 ^{cd}	9.4	5.7 ^b	4.5	13.8 ^{bc}	1.5	6.8 ^{ab}
F-140	30.0	2.7	5.0	3.0 ^a	1.0	2.3 ^a	0.3	2.3 ^a	4.7	19.7 ^c
F-143	73.3	11.5	71.2	15.0 ^{bd}	10.7	17.3 ^b	4.8	14.8 ^{bc}	1.3	6.8 ^{ab}
F-145	63.3	8.7	36.5	9.0 ^{ac}	5.9	8.3 ^{ab}	2.0	7.7 ^{ab}	3.0	13.0 ^{bc}
F-146	80.0	13.3	32.3	8.7 ^{ac}	6.7	10.0 ^{ab}	3.3	10.2 ^{ac}	2.8	12.3 ^{bc}
Testigo	100.0	19.0	122.3	20.0 ^d	10.5	17.7 ^b	6.6	20.0 ^c	0.0	2.0 ^a
C.V.	35.9	55.3	79.3	56.4	55.6	56.4	65.6	56.4	61.2	56.1

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Columnas cuyos valores de rangos no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

3.5.8.2. *Macrophomina phaseolina*.

La inoculación con *M. phaseolina* en emergencia de plántulas, altura de planta, diámetro de tallo y peso seco de tallo y follaje no mostró diferencias significativas entre los aislados, pero el aislado M-147 fue diferente ($P \leq 0.05$) al testigo. El volumen de raíz en el aislado M-147 fue de 4.4 mL, en M-150 presentó 6.8 mL y 6.7 mL el testigo, aunque sin diferencias significativas. En cuanto a severidad los aislados fueron diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 24).

Cuadro 24. Efecto de dos aislados de *Macrophomina phaseolina* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Tecozautla en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Diámetro tallo		Peso seco		Severidad	
	(%)		(cm)		(mm)		(g)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
M-147	60.0	2.0 ^a	49.3	2.0 ^a	6.9	2.0 ^a	0.4	2.0 ^a	2.3	14.0 ^b
M-150	93.3	5.5 ^{ab}	100.8	8.0 ^{ab}	9.5	5.8 ^{ab}	0.7	5.0 ^{ab}	0.7	11.0 ^b
Testigo	100.0	7.5 ^b	123.0	5.0 ^b	10.0	7.2 ^b	1.4	8.0 ^b	0.0	5.0 ^a
C.V.	23.0	52.2	36.9	54.8	19.9	54.5	52.2	54.5	161.2	49.4

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje.

3.5.8.3. *Rhizoctonia solani*.

La emergencia de plántulas y el diámetro de tallo, entre los aislados de *R. solani*, fueron sin diferencia estadística, pero el aislado R-118 y R-116 fueron diferente al testigo ($P \leq 0.05$), la altura de planta en el aislado R-116 fue diferente al testigo ($P \leq 0.05$). En volumen de raíz y peso seco de follaje no hubo diferencias estadísticas significativas ($P \geq 0.05$) (datos no mostrados). La severidad mostró que los aislados fueron virulentos y diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo (Cuadro 25).

Cuadro 25. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* en el crecimiento y sanidad de plantas de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) cv. Tecozautla en condiciones de invernadero.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura planta (cm)		Diámetro tallo (mm)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	86.7	8.2 ^{ab}	98.2	9.3 ^b	10.0	8.0 ^{ab}	1.0	17.0 ^b
R-116	43.3	3.0 ^a	40.0	2.7 ^a	6.4	4.0 ^a	2.8	21.8 ^b
R-118	60.0	4.3 ^a	55.8	4.3 ^{ab}	5.8	3.0 ^a	2.3	21.2 ^b
Testigo	100.0	10.5 ^b	100.8	9.7 ^b	12.4	11.0 ^b	0.0	8.0 ^a
C.V.	36.8	54.1	41.5	55.5	36.3	55.5	151.8	49.1

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas nueve días después de la inoculación.

Al final del ensayo (30 dds) se determinó que los seis aislados de *F. oxysporum* causaron síntomas en las siete variedades probadas, pero las respuestas variaron con amplitud sobre todo entre aislados, en parámetros tan importantes como la severidad. Así, todos los cultivares de tomatillo fueron susceptibles a F-131, 140 y F-145; mientras que para F-146, a excepción de Puebla y San Miguel, el resto fueron susceptibles; en tanto que ninguno de los cultivares fue susceptible a F-135 ni a F-143. Al considerar los promedios de severidad por aislado en todos los cultivares, destacaron como los más virulentos F-140, 131 y F-145, con valores de severidad promedio de 84%, 66% y 56%, de forma respectiva (Cuadro 26).

Por otra parte, aunque no se hizo un análisis estadístico comparativo, con los promedios de severidad de cada cultivar, utilizando los valores de todos los aislados, numéricamente se apreció relativa uniformidad en las respuestas; el rango de severidad varió entre 42-58% y el promedio alcanzó 48%. Si se analizan los datos desde la perspectiva anterior, considerando el promedio del conjunto de aislados probados por cada cultivar, tomando como criterio una severidad $\geq 40\%$, todos los cultivares probados se pueden considerar como susceptibles (Cuadro 26).

Cuadro 26. Porcentaje de severidad de aislados de *Fusarium oxysporum* sobre materiales comerciales de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) 30 días después de la siembra.

Variedad	Porcentaje de severidad de aislados de <i>Fusarium oxysporum</i>						
	F-131	F-135	F-140	F-143	F-145	F-146	Media
Dalí	60	24	74	20	66	40	48
Gabriela	60	26	90	14	54	50	50
Puebla	64	10	86	10	46	30	42
San Miguel	70	14	84	16	46	34	44
Siqueiros	64	44	66	20	50	44	48
Tamayo	66	26	88	14	66	44	50
Tecozautla	76	30	94	26	60	56	58
Promedios	66	24	84	18	56	42	48
Testigo	0	0	0	0	0	0	0

F-131, F-135, F-140, F-143, F-145, F-146 = aislados de *Fusarium oxysporum*

Otro indicador importante fue el efecto de *F. oxysporum* en la emergencia de plántulas (9 dds), en donde los aislados más virulentos fueron F-140 y F-131, con reducciones de 52 y 38%, en este orden. Por otra parte, en los promedios de emergencia considerando cada variedad para todos los aislados, hubo relativa uniformidad en las respuestas entre las siete variedades, con rango de 64-81% y un promedio de 71% (Cuadro 27).

En los siete genotipos, M-147 indujo un rango de severidad de 14-50%. Se puede destacar que Dalí, Siqueiros, Tamayo y Tecozautla, fueron susceptibles a este aislado, con severidades promedio de 40, 50, 40 y 46%, en el respectivo orden. En cuanto a la emergencia, M-147 la redujo en promedio en 28%; el decremento fue de 40% para Siqueiros y Tecozautla; mientras que, para Dalí, San Miguel y Tamayo, la reducción fue de 33% (Cuadro 28). La emergencia promedio en las siete variedades inoculadas fue de 80%; mientras que en el testigo fue de 100% en todas las variedades (Cuadro 29).

Cuadro 27. Porcentaje de emergencia de plántulas ocasionadas por *Fusarium oxysporum* sobre materiales comerciales de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) nueve días después de la siembra.

Variedad	Porcentaje de emergencia / aislados						Media
	F-131	F-135	F-140	F-143	F-145	F-146	
Dalí	63	70	67	77	43	70	65
Gabriela	67	73	40	90	73	80	71
Puebla	60	90	53	97	87	100	81
San Miguel	50	87	37	93	87	90	74
Siqueiros	63	57	53	87	70	80	68
Tamayo	67	70	57	73	80	80	71
Tecozautla	67	73	30	73	63	80	64
Promedios	62	74	48	84	72	83	71
Testigo	0	0	0	0	0	0	0

F-131, F-135, F-140, F-143, F-145, F-146 = aislados de *Fusarium oxysporum*

Cuadro 28. Porcentaje de severidad de aislados de *Macrophomina phaseolina* sobre materiales comerciales de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) 30 días después de la siembra.

Variedad	Porcentaje de severidad de aislados de <i>M. phaseolina</i>		
	M-147	M-150	Promedio
Dalí	40	16	28
Gabriela	14	14	14
Puebla	20	14	18
San Miguel	36	14	26
Siqueiros	50	36	43
Tamayo	40	14	28
Tecozautla	46	14	30
Promedios	35	17	30
Testigo	0	0	0

M-147, M-150 = aislados de *Macrophomina phaseolina*

Cuadro 29. Porcentaje de emergencia ocasionadas por *Macrophomina phaseolina* sobre plántulas de materiales comerciales de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.), nueve días después de la siembra.

Variedad	Porcentaje de emergencia / aislados			
	M-147	M-150	Media	Testigo
Dalí	67	83	75	100
Gabriela	90	93	92	100
Puebla	90	97	94	100
San Miguel	67	93	80	100
Siqueiros	60	60	60	100
Tamayo	67	90	79	100
Tecozautla	60	93	77	100
Promedios	72	87	80	100
Testigo	0	0	0	0

M-147, M-150 = aislados de *Macrophomina phaseolina*

Los síntomas observados en las plantas inoculadas con *R. solani*, en las variedades de tomatillo, coinciden en lo general con los reportados: secadera de plántulas, pudriciones de raíces y base de tallos, así como canchales en tallos; marchitez y muerte de las plantas (Agrios, 2005). Se determinó también que todos los cultivares de tomatillo fueron diferencialmente afectados por los tres aislados en estudio tomando como criterio una severidad $\geq 40\%$, como susceptibles, pero las respuestas en parámetros de vigor y en la severidad, variaron en principio en función del aislado (Cuadro 30).

En cuanto a severidad, destacó R-116 como el más virulento con promedio de 56%, seguido de R-118 con 48%. Al igual que en *F. oxysporum*, los promedios de severidad global de todos los aislados de *R. solani*, mostraron cierta uniformidad en las respuestas con rango de 34-50% y un promedio de 41% para las siete variedades. Al comparar los promedios de severidad de todas las variedades, considerando los tres aislados, solo San Miguel y Gabriela no serían considerados como susceptibles. Sin embargo, los aislados R-116 y R-118, de manera individual afectaron a estas mismas variedades, con valores de severidad superiores a 40%.

Cuadro 30. Porcentaje de severidad de aislados de *Rhizoctonia solani* sobre materiales comerciales de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) 30 días después de la siembra.

Variedad	Severidad de aislados de <i>Rhizoctonia solani</i>			
	R-115	R-116	R-118	Media
Dalí	26	56	44	42
Gabriela	16	54	46	38
Puebla	14	54	50	40
San Miguel	20	40	44	34
Siqueiros	30	66	54	50
Tamayo	16	64	46	42
Tecoautla	20	56	46	40
Promedios	20	56	48	41
Testigo	0	0	0	0

R-115, R-116, R-118 = Aislados de *Rhizoctonia solani*

En cuanto al efecto de *R. solani* en la emergencia, se apreciaron también diferencias numéricas importantes. Así mientras que R-115 solo disminuyó la emergencia en 12%, R-116 y R-118, la redujeron en 57 y 42%, de forma respectiva. Al comparar promedios de emergencia para todos los aislados en los siete cultivares, se detectó una relativa uniformidad en las respuestas, con rango de 57-68% y un promedio de 64%. En el testigo, la emergencia de la semilla de todas las variedades fue de 100% (Cuadro 31).

Cuadro 31. Porcentaje de emergencia ocasionado por *Rhizoctonia solani* sobre plántulas de materiales comerciales de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.), nueve días después de la siembra.

Variedad	Porcentaje de emergencia / aislados			
	R-115	R-116	R-118	Media
Dalí	87	47	63	66
Gabriela	97	47	50	65
Puebla	97	43	60	68
San Miguel	83	50	70	68
Siqueiros	80	37	53	57
Tamayo	83	37	53	58
Tecozautla	87	43	60	63
Promedios	88	43	58	64
Testigo	0	0	0	0

R-115, R-116, R-118 = Aislados de *Rhizoctonia solani*

3.6. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se planteó como objetivo determinar la respuesta de siete materiales comerciales de tomatillo, hacia aislados patogénicos obtenidos de tomatillo de las especies más importantes asociadas a marchitez en Sinaloa. Se corrieron pruebas de patogenicidad con seis aislados de *F. oxysporum*, dos de *Macrophomina phaseolina* y tres de *R. solani*, en condiciones de invernadero.

En todos los materiales de tomatillo en estudio, hubo variación en cuanto a los síntomas inducidos por las tres especies inoculadas, pero también se presentaron plantas asintomáticas. En lo general se estima que todos los siete genotipos probados fueron susceptibles, tomando como criterio una severidad promedio $\geq 40\%$, ejercida por el conjunto de aislados. Sin embargo, la expresión de los síntomas fue diferencial, sobre todo entre aislados, para cada una de los cultivares.

En el único reporte detectado, Soto-Zarazúa *et al.* (1998) reportaron diferencias en la susceptibilidad de 95 genotipos de tomatillo en México, a la infección natural por *Fusarium* sp. bajo condiciones de campo. A la fecha no se tiene conocimiento de

trabajos previos, en los que se hayan probado aislados específicos e identificados de forma correcta de *F. oxysporum*, en distintos genotipos de tomatillo.

Las especies de *Rhizoctonia* spp. representan un grupo de hongos complejo y diverso. A la luz de los nuevos conocimientos, se hace evidente que *Rhizoctonia solani* y otras especies del grupo, en realidad son especies “colectivas”, que consisten de diversas variantes (strains) más o menos relacionadas. Estas variantes de *Rhizoctonia* se distinguen entre sí, porque la anastomosis (fusión de hifas en contacto) ocurre solo entre aislados del mismo grupo de anastomosis (Carling, 2002; Agrios, 2005).

Agrios (2005) señaló, que si bien los diversos grupos de anastomosis de *R. solani*, no son de forma entera específicos al hospedante, estos muestran ciertas tendencias bastante definidas. Sin embargo, el grupo AG-4 infecta a una variedad de especies de plantas, causando pudrición de semilla e hipocótilo en casi todas las angiospermas, así como lesiones en el cuello de la mayoría de las leguminosas, algodónero y remolacha (Agrios, 2005). Aunque los grupos de anastomosis de *R. solani*, tienden a mostrar cierta especificidad en cuanto al hospedante (Agrios, 2005), algunos AG, en realidad poseen un rango de hospedantes más o menos amplio (Bolkan y Ribeiro, 1985; Carling *et al.* 2002; Meinhardt *et al.*, 2002). Así, por ejemplo, AG-4 infecta a una diversidad de especies de plantas a nivel mundial (Carling y Sommer, 1992), que incluye a casi todas las angiospermas (Agrios, 2005). En el caso específico de *R. solani* subgrupo HGI, se ha reportado en ajonjolí (Cochran *et al.*, 2018), frijol (Çebi-Kiliçoğlu y Özkoç, 2010), melón (Kuramae *et al.*, 2003), papa (Kanetis *et al.*, 2016) y tomate (Kuramae *et al.*, 2003; Taheri, 2011); además de cacahuate, crisantemo, espinaca, soya y remolacha (diversos autores, citados por González-Hernández, 2002).

Por otra parte, en otro trabajo realizado en un campo de Sinaloa, en el que se evaluó la respuesta a hongos del suelo en los cultivares de tomatillo: Aryva, Carriceño, Divino, Fino, Querétaro, Mahone, Monarca, Orizaba, Rodomora, Titán, Verde Puebla; también de las líneas BSM-58-1 y BSM-58-2. A los 75 dds la incidencia de plantas con marchitez entre los 13 materiales varió de 10-28%, mientras que a los 105 dds, aumentó a 20-44%. Los genotipos que fueron menos afectados las líneas BSM-58-1 y BSM-58-2, con 21 y 17% de plantas con marchitez. En los hongos del suelo detectados

(identificados con base en morfometría), su incidencia en las plantas, 120 dds, varió de 10-30% para *F. oxysporum*, 90-100% *F. solani* y 10-21% *R. solani*. Los materiales que presentaron menores incidencias de hongos fueron: *F. oxysporum* Fino 10%, Aryva 11 y Carriceño 11%; *R. solani*, Aryva, Carriceño, Fino y Monarca, con 10% cada uno. En una siguiente fase del mismo trabajo, se corrieron pruebas de patogenicidad en invernadero, con diez aislados de cada patógeno inoculados en semillas de tomatillo. Los tres hongos disminuyeron en forma significativa la altura de la planta 10 dds. Los rangos de severidad estimada en los diez aislados, 10 dds fue: *F. oxysporum* 25-52%, *F. solani* 18-58% y *R. solani* 17-100%. En conclusión, ninguna de los materiales comerciales fue resistente a las tres especies del complejo de hongos del suelo asociados a la marchitez (Flores-Sánchez, 2009).

Aunque en Sinaloa se tenían antecedentes de los hongos *F. oxysporum*, *F. solani* y *R. solani* asociados a la marchitez del tomatillo (Apodaca Sánchez, 2005; Apodaca Sánchez *et al.*, 2008; Flores-Sánchez, 2009), se desconocen estudios previos sobre su virulencia de distintos aislados identificados de forma molecular, en los siete cultivares en estudio. En una fase inicial de este trabajo de tesis, se determinó que algunos aislados de *R. solani* AG-4 subgrupo HGI, afectaron de forma severa la germinación y emergencia del tomatillo cv. Gran Esmeralda (Ayala-Armenta *et al.*, 2020; Capítulo 2). Este sería el primer reporte sobre la alta virulencia de *R. solani* AG-4 HGI en los cultivares Dalí, Gabriela, Puebla, Siqueiros, San Miguel, Tamayo y Tecozautla.

Por otra parte, es probable que, en condiciones de campo, algunos de los materiales probados sean más tolerantes a los patógenos en estudio, ya que en el presente ensayo los cultivares se sembraron en suelos con cantidades de inóculo que se estiman como relativamente altas, en un volumen de suelo reducido, de tal modo que desde etapas muy tempranas (germinación, emergencia), las plantas estuvieron expuestas al daño. En el caso de plantaciones cultivadas con alta tecnología, las plántulas procedentes de las charolas en los almácigos, son trasplantadas cuando tienen proximidad a los 30 días, de tal modo que su periodo de exposición a los patógenos se retarda significancia, siempre y cuando las plántulas a establecer se hallen sanas.

Por otro lado, ante la falta de cultivares resistentes a hongos del suelo causantes de marchitez, se requiere del trabajo coordinado de los mejoradores con los fitopatólogos, para la obtención de materiales resistentes a hongos de suelo, como los aquí estudiados. En otras solanáceas como el tomate, la base del manejo de la marchitez por *F. oxysporum*, se da mediante el uso de variedades resistentes (González *et al.*, 2012; Leyva-Myr *et al.*, 2013; Morales-Palacios, 2014).

Los materiales comerciales en estudio son utilizados de forma común por agricultores del centro y norte de México y al menos tres de ellas (Dalí, Siqueiros y Tamayo) son genotipos que se consideran nuevos e importantes en Sinaloa, cuya superficie sembrada se ha incrementado en esta y otras regiones de México, por ser de alto rendimiento y calidad. Los mejoradores en tomatillo se han enfocado solo en aumentar estos dos importantes aspectos, pero también es importante evitar que se descuide la tolerancia o resistencia a patógenos del suelo, virosis, insectos y ácaros fitófagos, entre otros factores que pueden limitar el alto potencial de rendimiento de los nuevos genotipos. Entre tanto y como medidas emergentes, es necesario implementar o validar, programas de manejo integrado del tomatillo, basados en métodos culturales (Gómez-Camacho *et al.*, 2006; Peña-Lomelí *et al.*, 2014); así como validar métodos que han probado ser efectivos en otros cultivos, incluidos agentes de control biológico (Fernández-Herrera *et al.*, 2007; Hernández-Castillo *et al.*, 2014; Arcos y Zúñiga, 2015; Torrealba *et al.*, 2015; Hernández-Pérez *et al.*, 2018), o químico-biorracionales (García-Ramos *et al.*, 2018).

Al concluir, en el presente trabajo, en el que se pretende contribuir al conocimiento sobre control genético de la marchitez, solo se probaron siete de los cultivares de tomatillo que son importantes en México. A corto plazo sería conveniente, probar otras variedades, líneas avanzadas, o genotipos criollos, en la búsqueda de fuentes de resistencia que se puedan aprovechar en pocos años, para incorporar dichos caracteres en variedades de alta calidad y rendimientos. A mediano plazo, sería conveniente también ampliar la búsqueda de fuentes de resistencia en las poblaciones silvestres de *P. ixocarpa*, en otras especies del género que se cultivan en menor extensión, como lo es *P. angulata* en Jalisco (Sánchez-Martínez *et al.*, 2008), o bien en especies silvestres no cultivadas.

3.7. CONCLUSIÓN

Los materiales comerciales de tomatillo Dalí, Gabriela, Puebla, San Miguel, Siqueiros, Tamayo y Tecozautla, fueron susceptibles (severidad $\geq 40\%$.) a *F. oxysporum* y *R. solani*; mientras que Dalí, Siqueiros, Tamayo y Tecozautla, fueron también susceptibles a *M. phaseolina*, a los 30 días después de la siembra en condiciones de invernadero.

3.8. LITERATURA CITADA

- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press. Nueva York. 922 p.
- Apodaca-Sánchez, M. A. 2005. Enfermedades del tallo y de la raíz. En: Memoria de la Jornada de Tecnología de Producción de Tomatillo. Fundación Produce Sinaloa. Culiacán, México. 1–18 pp.
- Apodaca-Sánchez, M. A., Barreras-Soto, M. A., Cortez-Mondaca, E., y Quintero-Benítez, J. A. 2008. Enfermedades del tomate de cáscara en Sinaloa. Campo Experimental Valle del Fuerte, CIRNO, INIFAP. Folleto Técnico No. 31. Los Mochis, Sinaloa. 30 pp.
- Arcos, J. y Zúñiga, D. 2015. Efecto de rizobacterias en el control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa. Ecología Aplicada 14:95–101.
- Ayala-Armenta, Q. A., Tovar-Pedraza J. M., Apodaca-Sánchez M. A. Correia, K. C. Saucedo-Acosta, C. P., Camacho-Tapia, M., and Beltrán-Peña, H. 2020. Phylogeny and pathogenicity of soilborne fungi associated with wilt disease complex of tomatillo (*Physalis ixocarpa*) in northern Sinaloa, Mexico. European Journal of Plant Pathology 157:733–749.
- Bolkan, H. A., and Ribeiro, W. R. C. 1985. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates from Brazil. Plant Disease 69:599–601.
- Carling, D. E., and Sommer, D.R. 1992. *Rhizoctonia*. In: L. L. Soingleton. J. D. Mihail, and C. M. Rush (eds). Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi. APS Press. St. Paul, Minnesota. pp: 157–165.
- Carling, D. E., Kuninaga, S., and Brainard, K. A. 2002. Hyphal anastomosis reactions, rDNA-internal transcribed spacer sequences, and virulence levels among subsets of *Rhizoctonia solani* anastomosis group-2 (AG-2) and AG-BI. Phytopathology 92:43–50. doi:10.1094/phyto.2002.92.1.43.
- Castro-Brindis, R., Sánchez-García, P., Peña-Lomelí, A., Alcantar-González, G., Baca-Castillo, G., y López-Romero, R. M. 2000. Niveles críticos de suficiencia y toxicidad, de N-NO₃ en el extracto celular de pecíolos de tomate de cáscara. Revista Terra 182:141–146.
- Çebi-Kiliçoğlu, M., and Özkoç, I. 2010. Molecular characterization of *Rhizoctonia solani* AG4 using PCR-RFLP of the rDNA-ITS region. Turkish Journal Biology 34:261–269. doi:10.3906/biy-0812-14.
- Chehri, K., Salleh, B., Yli-Mattila, T., Reddy, K. R. N., and Abbasi, S. 2011. Molecular characterization of pathogenic *Fusarium* species in cucurbit plants from

Kermanshah province, Iran. Saudi Journal of Biological Sciences 18:341–351. doi:10.1016/j.sjbs.2011.01.007.

Cochran, K. A., Tolbert, A. C., and Spurlock, T. N. 2018. First report of *Rhizoctonia solani* AG4 causing stem necrosis in *Sesame* in Southwest Texas. Plant Disease, PDIS–02–18–0350. doi:10.1094/pdis-02-18-0350-pdn.

Conover, W., Johnson, M. E., and Johnson, M. 1981. A comparative study of tests for homogeneity of variances, with applications to the outer continental shelf bidding data. Technometrics 23:351–361.

Correll, J. C., Puhalla, J. E., and Schneider, R. W. 1986. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* on the basis of colony size, virulence, and vegetative compatibility. Phytopathology 76:396–400.

Félix-Gastélum, R., Ávila-Díaz, J. A., Valenzuela-Cota, B. O., Trigueros-Salmerón, J. A., y Longoria-Espinoza, R. M. 2007. Identificación y control químico de los agentes causales de la mancha foliar y la cenicilla del tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) en el norte de Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología 25:1–10.

Fernández-Herrera, E., Acosta-Ramos, M., Ponce-González, F., y Manuel-Pinto, V. 2007. Manejo biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr. y *Rhizoctonia solani* Kühn en jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). Revista Mexicana de Fitopatología 25:35–42.

Fernández-Herrera, E., Guerrero-Ruiz, J. C., Rueda-Puente, E. O., y Acosta-Ramos, M. 2013. Patógenos y síntomas asociados a la marchitez del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Texcoco, México. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud 15:46–50.

Flores-Sánchez, J. L. 2009. Respuesta de 13 genotipos de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) a virosis y marchitamiento fungoso en Sinaloa, México. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte. Universidad Autónoma de Sinaloa. Juan José Ríos, Sinaloa. 79 p.

García-Ramos, Y., Galindo-Tovar, M. E., Murguía-González, J., Ivonne Landero-Torres, I., y Leyva-Ovalle, O. R. 2018. Fertilización complementada con sílice en la resistencia del tomate a *Fusarium oxysporum* Schtdl. Agronomía Mesoamericana 29:41–52.

Gilchrist-Saavedra, L. G., Fuentes-Dávila, C., Martínez-Cano, R. M., López-Atilano, E., Duvellier, R. P., Singh, M., Henry E. I., y García, A. 2005. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. Segunda edición. México, D.F. CIMMYT 68 pp.

- Gómez-Camacho, R., Rodríguez-Mendoza, M. N., Cárdenas-Soriano, E., Sandoval-Villa, M. y Colinas de León, M. T. 2006. Fertilización foliar con silicio como alternativa contra la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) en tomate de cáscara. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 12:69–75.
- González-Hernández, D. 2002. Estado actual de la taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20:200–205.
- González, I., Arias, Y. y Peteira, B. 2012. Aspectos generales de la interacción *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici*-tomate. *Revista de Protección Vegetal* 27:1–7.
- Hernández-Castillo, F. D., Lira-Saldivar, R. H., Gallegos-Morales, G., Hernández-Suárez, M., y Solis-Gaona, S. 2014. Biocontrol de la marchitez del chile con tres especies de *Bacillus* y su efecto en el crecimiento y rendimiento. *Revista Internacional de Botánica Experimental* 83:49–55.
- Hernández-Pérez, D., Díaz-Castellanos, M., Quiñones-Ramos, R., Santos Bermúdez, R., Portal-González, N., y Herrera-Isla, L. 2018. Control de *Rhizoctonia solani* en frijol común con rizobacterias y productos naturales. *Revista Centro Agrícola* 45:55–60.
- Kanetis, L., Tsimouris, D., and Christoforou, M. 2016. Characterization of *Rhizoctonia solani* associated with black scurf in Cyprus. *Plant Disease* 100:1591–1598. doi:10.1094/pdis-10-15-1238-re.
- Kruskal, W. H., and Wallis, W. A. 1952. Use of ranks on one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association* 47:583–621.
- Kuramae, E. E., Buzeto, A. L., Ciampi, M. B., and Souza, N. L. 2003. Identification of *Rhizoctonia solani* AG 1-IB in lettuce, AG 4 HG-I in tomato and melon, and AG 4 HG-III in broccoli and spinach, in Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 109:391–395. doi:10.1023/a:1023591520981.
- Leyva-Mir, S. G., González-Solano C. M., Rodríguez-Pérez, J. E., y Montalvo-Hernández, D. 2013. Comportamiento de líneas avanzadas de tomate (*Solanum lycopersicum* L.) a fitopatógenos en Chapingo, México. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 19:301–313.
- López-Valenzuela, B. E., Armenta-Bojórquez, A. D., Apodaca-Sánchez, M. A., Ruelas-Islas, J. del R., Palacios-Mondaca, C. A., y Valenzuela-Escoboza, F. A. 2014. Reducción de la fertilización sintética con composta y optimización del riego sobre la pudrición del tallo (*Fusarium* spp.) del maíz. *Scientia Agropecuaria* 5:121–133.

- Meinhardt, L. W., Wulff, N. A., Bellato, C. M., and Tsai, S. M. 2002. Genetic analyses of *Rhizoctonia solani* isolates from *Phaseolus vulgaris* grown in the Atlantic rainforest region of São Paulo, Brazil. *Fitopatologia Brasileira* 27:259–267.
- Moncayo-Pérez, C. D., Magaña-Lira, N., Peña-Lomelí, A., Leyva-Mir, S. G., Sahagún-Castellanos, J., and Pérez-Grajales, M. 2020. White smut (*Entyloma australe*) resistance in tomatillo (*Physalis* spp.) germplasm. *Revista Chapingo Serie Horticultura* 26:65–77. doi: 10.5154/r.rchsh.2019.09.016.
- Morales-Palacio, M. N., Espinosa-López, G., Morales-Astudillo, A. R., Sánchez-Masache, B. R., Jiménez-Castillo, A. M., y Milián-García, Y. 2014. Caracterización morfológica y evaluación de resistencia a *Fusarium oxysporum* en especies silvestres del género *Solanum* sección *Lycopersicon*. *Revista Colombiana de Biotecnología* 16:62–73.
- Peña-Lomelí, A., Ponce-Valerio, J. J., Sánchez-del Castillo, F., y Magaña-Lira, N. 2014. Desempeño agronómico de variedades de tomate de cáscara en invernadero y campo abierto. *Revista Fitotecnia Mexicana* 34:381–391.
- Sánchez-Martínez, J., Vargas Ponce, O., y Zamora Tavares, P. 2008. Cultivo tradicional de *Physalis angulata* L. (Solanaceae) una especie de tomatillo silvestre de México. Avances en la investigación científica del CUCBA. XIX Semana Nacional de Investigación Científica. Universidad de Guadalajara. Guadalajara, México. 1-6 pp.
- Shapiro, S. S., and Wilk, M. B. 1965. Analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52:591–611.
- SIAP. 2020. Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Anuario estadístico de la producción agrícola. Consultado 07/2020. <https://www.gob.mx/siap>.
- Soto-Zarazúa G. M., Peña-Lomelí A., Santiaguillo-Hernández J. F., Rodríguez-Pérez J. E., y Palacios-Espinoza, A. 1998. Resistencia a *Fusarium* sp. de 95 colectas de tomate de cáscara (*Physalis* spp.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 4:51–55.
- Taheri, P. 2011. Classification and genetic diversity of *Rhizoctonia solani* populations causing tomato damping-off in Iran. *Acta Horticulturae* 914:131–134. doi:10.17660/actahortic.2011.914.23.
- Torrealba, J. A., Pineda, J., Ulacio, D., Escalante, H., y Hernández, A. 2015. La pudrición carbonosa (*Macrophomina phaseolina*) en soya y su manejo mediante aplicaciones de *Trichoderma* spp. y *Rhizobium* sp. *Bioagro* 27:159–166.
- Vásquez-López, A., Tlapal-Bolaños, B., Yáñez-Morales, M. de J., Pérez-Pacheco, R., y Quintos-Escalante, M. 2009. Etiología de la marchitez del chile de agua

(*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. Revista Fitotecnia Mexicana
32:127–134.

CHAPTER 4. COMPARATIVE EFFECT OF PATHOGENIC ISOLATES OF *Fusarium oxysporum* AND *Rhizoctonia solani* OBTAINED FROM HUSK TOMATO ON SIX GREENHOUSE CULTIVARS

4.1. ABSTRACT

In México, wilt (*Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, and others) is one of the major diseases of husk tomato. The disease appears as root and stem base rot, discoloration-necrosis of vascular tissues, stunting and death of plant. The objective of the study was to compare the virulence of pathogenic isolates from *F. oxysporum* and *R. solani* in cultivars of chili hybrid Camino Real, common bean cv. Azufrado Higuera, maize hybrid Armadillo, cucumber hybrid Paraíso, tomato hybrid Cuauhtémoc and husk tomato cv. Gran Esmeralda. A substrate of river sand + peat moss (1:3 v/v) was placed in pots, thereafter; six isolates of the *F. oxysporum* were separately inoculated at 3×10^6 CFU and three of *R. solani* at 110 CFU/g of soil (16 g de infested sorghum and maize sedes per pot). Three seeds were deposited on each pot, covered with the same substrate and incubated under a completely block design with three replicates (pots). All seeds on the check plot were planted on the soil without pathogens. The pots were incubated in a greenhouse after the planting process. Seedling emergence was measured at nine days after planting (dap), severity and parameters of plant vigor at 120-150 (dap) (depending upon crop). All data were analyzed with non-parametric statistics. Isolates from *F. oxysporum* and *R. solani* were pathogenic in all varieties except for maize as they affected seedling emergence and parameters of plant vigor. Also, they exerted in higher extent the severity of symptoms.

Keywords: alternate hosts, husk tomato, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, pathogenicity.

CAPÍTULO 4. EFECTO COMPARATIVO DE AISLADOS PATOGENICOS DE *Fusarium oxysporum* Y *Rhizoctonia solani* OBTENIDOS DE TOMATILLO SOBRE SEIS CULTIVOS EN INVERNADERO

4.2. RESUMEN

En México, la marchitez (*Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, entre otros) es una de las enfermedades más importantes del tomatillo, en el cual provoca pudrición de la raíz y base del tallo, decoloración-necrosis de los tejidos vasculares, crecimiento reducido, flacidez y muerte de la planta. El objetivo de este estudio bajo invernadero fue comparar la virulencia de aislados patogénicos de *F. oxysporum* y *R. solani*, obtenidos de tomatillo, en los cultivares: chile híbrido Camino Real, frijol cv. Azufrado Higuera, maíz híbrido Armadillo, pepino híbrido Paraíso, tomate híbrido Cuauhtémoc, tomatillo cv. Gran Esmeralda. Un sustrato a base de arena de río y peat moss (1:3 v/v) pasteurizado, contenido en macetas, se inoculó por separado con seis aislados de *F. oxysporum* con una densidad de 3×10^6 UFC y tres de *R. solani* con una densidad de 110 UFC/g de suelo (16 g de grano de maíz y de sorgo de forma respectiva, infestados / maceta tres kg de sustrato). En cada maceta se depositaron tres semillas del cultivo correspondiente y luego de taparlas con el mismo sustrato, se incubaron bajo un diseño completo al azar, con tres repeticiones (macetas); en el testigo las semillas se sembraron sobre suelo sin patógenos. Las macetas se incubaron en invernadero, después de la siembra (dds). Nueve días después de la siembra (dds) se estimaron, parámetros de vigor y la severidad de la enfermedad (120-150 dds, según el cultivo) cuyos datos se analizaron mediante estadística no paramétrica. En todos los cultivos, excepto el maíz, los aislados de *F. oxysporum* y *R. solani* fueron patogénicos, ya que afectaron de forma negativa al menos una de las variables de emergencia de plántulas, y/o parámetros de vigor de las plantas; y/o ejercieron efectos significativos en cuanto a la severidad de los síntomas.

Palabras clave: Hospedantes alternos, tomatillo, *Fusarium oxysporum*, *Rhizoctonia solani*, patogenicidad.

4.3. INTRODUCCIÓN

Las enfermedades denominadas como marchiteces vasculares (vascular wilts), en sentido estricto pueden ser causadas por especies ubicadas en géneros de hongos: *Ceratocystis*, *Ophiostoma*, *Fusarium* y *Verticillium* (Agrios, 2005). Se caracterizan porque el efecto patogénico más importante que consiste en un bloqueo del sistema vascular, lo que deriva en una marchitez; pueden llegar a ser sistémicos. Algunas especies del género *Fusarium* y sobre todo *F. oxysporum* afectan diversos cultivos, pero cada especie de planta es atacada solo por alguna (con pocas excepciones) forma especial (f. sp.) de este hongo (Agrios, 2005).

Las enfermedades causadas por *Rhizoctonia*, afectan a nivel mundial a la mayoría de los cultivos, ornamentales, arbustos y árboles. Los síntomas más comunes son la secadera de plántulas; pudriciones de raíces y base del tallo, así como los canchales en tejidos en crecimiento, marchitez y muerte de la planta. Los síntomas varían en función del hospedante y su etapa de infección, así como por las condiciones ambientales prevalentes (Agrios, 2005). *Rhizoctonia solani*, la especie más importante y al igual que otras del género, en realidad son especies “colectivas” que consisten de diversas variantes (strains), más o menos relacionadas que se distinguen entre sí, porque la fusión de hifas en contacto ocurre solo entre aislados del mismo grupo de anastomosis (AG). Representan indicios del aislamiento genético de la población en cada grupo (Sneh *et al.*, 1991; Agrios, 2005).

En México, la marchitez del tomatillo es, después de las virosis, la enfermedad más importante de esta solanácea y sin embargo ha sido poco estudiada (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008). De hecho, en Sinaloa, la etiología de esta enfermedad recién se dilucidó con precisión en un trabajo previo, en donde se determinó con base en características morfológicas, moleculares y filogenéticas, como agentes causales a *Fusarium oxysporum*, *F. nygamai*, *Macrophomina phaseolina*, *Neocosmospora falciformis* y *Rhizoctonia solani*; destacaron por su frecuencia y por su virulencia, *F. oxysporum* y *R. solani* AG-4HGI (Ayala-Armenta *et al.*, 2020; Capítulo 2).

El manejo de la marchitez es complicado porque no se cuenta con variedades comerciales resistentes o tolerantes y los métodos de control cultural o químico, distan de ser eficientes contra estos hongos del suelo (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008; Flores-

Sánchez, 2009). En un estudio de invernadero previo al presente (Capítulo 3), siete variedades comerciales fueron susceptibles a *F. oxysporum*, *M. phaseolina* y *R. solani*.

Por otra parte, en Sinaloa se cultivan de forma aproximada 1'117,703 ha anuales de granos, hortalizas y frutales (Codesin, 2018). Destacan cultivos de grano como el maíz (*Zea mays*) con 498,506 ha sembradas, seguido del frijol (*Phaseolus vulgaris*) con 83,477 ha sembradas. Entre las hortalizas destaca el chile (*Capsicum annum*) con 14,438 ha; tomate (*Solanum lycopersicum*) 10,369 ha y pepino (*Cucumis sativus*) 3,397 ha sembradas. En tomatillo, en 2019-2020 se sembraron 6,114 ha, con rendimientos promedio de 23 t ha⁻¹ (SIAP, 2020). En Sinaloa, el tomatillo se siembra de manera principal en terrenos que se rotan con los cultivos mencionados, o bien con papa, garbanzo, trigo, entre otros.

A falta de genotipos resistentes, el manejo integrado sostenible de la enfermedad, se debería de enfocar en estrategias integradas de control cultural, biológico y químico de tipo biorracional. Sin embargo, estos métodos se deben de fundamentar en el conocimiento epidemiológico del patosistema tomatillo-hongos del suelo. En lo particular, la rotación de cultivos no puede implementarse con eficacia, porque se desconoce el rango de hospedantes de los patógenos de la marchitez del tomatillo, así como el impacto de la rotación con cultivos tan comunes como el chile, frijol, pepino, maíz y tomate, sobre las poblaciones de hongos del suelo ya mencionados. El conocimiento de posibles hospedantes alternos de estos agentes, puede ser de gran importancia al momento de programar una rotación de cultivos adecuados.

El objetivo de este estudio bajo invernadero fue comparar la virulencia de aislados patogénicos de *F. oxysporum* y *R. solani*, obtenidos de tomatillo, en cultivos de chile, frijol, maíz, pepino, tomate y tomatillo.

4.4. MATERIALES Y MÉTODOS

4.4.1. Preparación del inóculo de *F. oxysporum* y *R. solani*

El inóculo de *F. oxysporum* se incrementó en granos de maíz (Gilchrist-Saavedra *et al.*, 2005; López-Valenzuela *et al.*, 2014) y el de *R. solani* en granos de sorgo (Sneh y Ogoshi, 1991, citados por Fernández-Herrera *et al.*, 2013a). En ambos casos el grano se lavó con agua destilada para eliminar impurezas, se remojó por 24 h y luego se absorbió el exceso de agua con papel absorbente. El grano se esterilizó en frascos de 1 L por dos periodos de 1 h a 121 °C a 15 libras de presión. Los aislados fueron cultivados en medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) e incubados a temperatura ambiente (24 ± 3 °C) hasta que el micelio cubrió la caja. El crecimiento micelial en PDA se cortó en tiras, se inoculó en los granos de maíz o sorgo contenidos en frascos, los cuales se agitaron para su homogenización. El inóculo se incubó por 30 días en oscuridad continua a temperatura ambiente (24 ± 3 °C), con agitación manual diaria, previo a la inoculación en el sustrato, de acuerdo con Sneh y Ogoshi, (1991) citado por Fernández-Herrera *et al.* (2013a).

4.4.2. Tratamientos y establecimiento del ensayo

El estudio se realizó en condiciones de invernadero. Se empleó un sustrato a base de arena de río y peat moss (1:3 v/v) pasteurizado con calor húmedo durante 5 h con registro final de 80 °C, contenido en macetas con 3 kg. El sustrato se inoculó por separado el mismo día de la siembra, con los aislados patogénicos de *F. oxysporum* o de *R. solani*, cuya virulencia e identidad fueron determinados en un estudio previo (Ayala-Armenta *et al.*, 2020; Capítulo 2). La densidad de inóculo aplicada al sustrato, para cada uno de los seis aislados de *F. oxysporum*, 3×10^6 UFC (Chehri *et al.*, 2011); para *R. solani* se aplicaron 16 g de granos de sorgo / maceta, de acuerdo con trabajos previos (Sneh y Ogoshi, 1991, citado por Fernández-Herrera *et al.*, 2013a, con algunas modificaciones. La densidad de inóculo aplicada al sustrato, para cada uno de los tres aislados *R. solani* fue de 100 UFC/g de suelo (Hernández-Castillo *et al.*, 2014).

Para el caso de *F. oxysporum*, los aislados inoculados, incluido su número de accesión del banco de genes fueron: F-131 (MN270353), F-135 (MN270354), F-140 (MN270356), F-143 (MN270360), F-145 (MN270358) y F-146 (MN270362). Para *R. solani*, del grupo de anastomosis AG-4HGI, se probaron los aislados R-115 (MN264605), R-116 (MN264606) y R-118 (MN264607). Los nueve aislados fúngicos inoculados, fueron obtenidos de plantas de tomatillo cv. Gran Esmeralda, con síntomas de marchitez y fueron seleccionados con base en el criterio de severidad \geq 50% (Ayala-Armenta *et al.*, 2020; Capítulo 2).

Las especies de cultivo que se probaron fueron: chile serrano, híbrido Camino Real (HM Clause); frijol tipo bayo cv. Azufrado Higuera; maíz blanco, híbrido Armadillo (Asgrow); pepino tipo "slicer", híbrido Paraíso (Semini[®]); tomate tipo "saladette", híbrido Cuauhtémoc; tomatillo cv. Gran Esmeralda (HM Clause). La semilla de frijol fue donada por el Campo Experimental Valle del Fuerte.

En cada maceta con el sustrato infestado con el aislado correspondiente, se sembraron tres semillas para cada combinación aislado / cultivo, las semillas fueron desinfectadas con NaClO 2% durante 60 s, seguido de lavado con agua destilada estéril; luego se cubrió con una capa de 2.0 cm del mismo sustrato. Cada tratamiento se conformó por la combinación de cada aislado / cultivo, con tres repeticiones, en un diseño completo al azar. En los testigos, las semillas se sembraron en sustrato sin inocular.

Las macetas se mantuvieron en invernadero desde la siembra hasta la cosecha que varió de 120 a 150 días según el cultivo, a temperaturas que fluctuaron de 13.5 a 33 °C. La aplicación de agua y de solución nutritiva se realizó de acuerdo con los requerimientos y de manera oportuna, con el fin de evitar estrés de la planta. Por otra parte, los postulados de Koch se corroboraron al registrar los síntomas en las plantas inoculadas y compararlos con los ya reportados para *F. oxysporum* y *R. solani*. En cada planta, una muestra de tejido de raíz se analizó en PDA y los aislados obtenidos se compararon con los inoculados al inicio.

4.4.3. Variables estimadas y análisis estadístico

En todos los cultivos, la emergencia de plántulas se evaluó a los nueve días después de la inoculación (ddi). En etapa de cosecha, 120-150 dds, según el cultivo, se estimó la altura de planta, diámetro de tallo, volumen de raíz, peso seco de tallo-follaje y la severidad. Para el cultivo del frijol, la severidad se estimó con base en la escala de Muyolo (1993), con ligeras modificaciones, 1= planta sin síntomas; 2= lesiones pequeñas en la raíz e hipocótilo; 3= lesiones profundas y grandes en la raíz e hipocótilo; 4= pudrición severa de la raíz; 5= muerte de la planta. La severidad en el cultivo del chile se estimó mediante la escala de Marlatt *et al.* (1996) con las categorías; 1= sin síntomas; 2= leve marchitamiento; 3= clorosis moderada; 4= clorosis grave; 5= planta muerta. En el cultivo del maíz se usó la escala de severidad de la (JLSVVF, 2008) con las categorías 0= sin daño; 1= corona de raíz; 2= 1 nudo; 3= 2 nudos; 4= 3 nudos; 5= 4 nudos; 6= toda la planta dañada. En el cultivar de pepino se utilizó la escala de severidad de Abeysinghe (2009), con las categorías 0= sin síntomas de marchitamiento; 1= marchitamiento leve; 2= marchitamiento parcial, más de dos hojas; 3= marchitamiento permanente; 4= planta muerta. En tomate y tomatillo se usó la escala de severidad de Correll *et al.* (1986), con ligeras modificaciones y las siguientes categorías: 0= planta sana; 1= ligera decoloración de la raíz; 2= decoloración extensiva del tejido vascular de la raíz; 3= ligera pudrición de la raíz; 4= pudrición extensiva de la raíz; 5= semilla no germinada y/o planta muerta.

El análisis de los datos se realizó mediante la prueba de Shapiro-Wilk (Shapiro y Wilk, 1965) para constatar normalidad y la prueba de F para la homogeneidad de varianzas. Los supuestos no se cumplieron, aun después de la transformación de los datos, por lo que se recurrió a un análisis de varianza no paramétrico, de forma específica a la prueba de Kruskal-Wallis (Kruskal y Wallis, 1952). En las variables con diferencias significativas ($P \leq 0.05$), se efectuó la comparación de rangos medios de Conover (Conover *et al.*, 1981).

En el caso de los valores promedio de severidad para cada tratamiento, cuando fue conveniente, los datos fueron convertidos a porcentaje mediante simple regla de tres, tomando como 100% el valor máximo de la escala.

4.5. RESULTADOS

4.5.1. Chile

En el chile inoculado con los aislados F-131, F-143 y F-146 de *Fusarium oxysporum*, se presentó pudrición en algunas semillas, lo que impidió su germinación. De las semillas germinadas, algunas que llegaron a la etapa de plántula murieron, mientras que otras presentaron desarrollo radical reducido. Sin embargo, en el porcentaje de emergencia de plántulas y altura de plantas fue sin diferencias significativas ($P \geq 0.05$), tampoco para diámetro de tallo (datos no mostrados). En plantas adultas no hubo síntomas de marchitamiento ni de necrosis en las raíces (Figura 14). Sin embargo, en volumen de raíz, los aislados F-140, 143, 145 y 146 presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) con respecto al testigo (Cuadro 32). En la variable peso seco de tallo y follaje el aislado F-135 y 143 fueron diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo. La severidad mostrada entre los aislados y el testigo fue sin diferencias significativas ($P \geq 0.05$), pero los aislados F- 131, 140, 146 y sobre todo F-143, mostraron trazas de síntomas necróticos en las raíces (Cuadro 32).



Figura 14. Efecto de *Fusarium oxysporum* en chile híbrido Camino Real: A) Pudrición de semillas y/o muerte de plántulas. B) Desarrollo de raíces reducido. C) Testigo.

En los tratamientos con *R. solani* la emergencia del chile se vio afectada (en forma numérica) por los tres aislados en estudio, que indujeron una pudrición en pocas semillas. Así también, un número mínimo de semillas lograron germinar y las plántulas emergidas presentaron damping-off y muerte post emergente. Sin embargo, el

porcentaje de emergencia de plántulas no mostró diferencias significativas entre los aislados y el testigo ($P \geq 0.05$); de igual manera ocurrió en el diámetro de tallo (datos no mostrados).

Cuadro 32. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* sobre el desarrollo de chile (*Capsicum annuum*) serrano híbrido Camino Real, en condiciones de invernadero, 150 dds.

Aislado	Emergencia*		Altura-planta		Volumen-raíz		Peso-seco		Severidad	
	(%)		(cm)		(ml)		(g)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	94.5	9.2	289.2	8.7	226.7	11.7 ^{ac}	235.7	13.0 ^{bc}	0.3	11.8
F-135	100.0	12.5	311.7	13.2	273.3	16.8 ^{bc}	151.9	4.7 ^{ab}	0.0	8.5
F-140	100.0	12.5	309.2	13.8	220.0	10.0 ^{ab}	193.9	9.0 ^{ac}	0.3	11.8
F-143	94.4	8.7	249.2	3.3	210.0	7.2 ^{ab}	128.3	3.0 ^a	0.8	16.0
F-145	100.0	12.5	329.2	16.7	198.3	5.2 ^a	251.8	14.3 ^{bc}	0.0	8.5
F-146	94.5	9.2	275.0	6.7	200.0	6.2 ^a	254.9	15.0 ^c	0.3	11.8
Testigo	100.0	12.5	316.7	14.7	326.7	20.0 ^c	277.4	18.0 ^c	0.0	8.5
C.V.	6.1	43.3	11.6	56.3	20.2	55.9	29.0	56.4	195.0	41.9

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje. Columnas de medias que no muestran supra índices, no presentan diferencia significativa entre sí.

En plantas adultas no hubo síntomas conspicuos en el follaje ni en las raíces 150 días después de la siembra (Figura 15). En altura de planta y peso seco de tallo y follaje no hubo diferencias entre los aislados, pero el aislado R-116 fue diferente ($P \leq 0.05$) al testigo. En el volumen de raíz el aislado R-116 fue diferente al R-115 y al testigo ($P \leq 0.05$). La severidad exhibida entre los aislados, a excepción de R-116, no indicó diferencias ($P \geq 0.05$) con el testigo (Cuadro 33).



Figura 15. Efecto de *Rhizoctonia solani* en chile tipo serrano híbrido Camino Real: A) Pudrición de semillas, ahorcamiento en la base del tallo y muerte de plántulas; B) Marchitez; C) Testigo.

Cuadro 33. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* sobre el desarrollo de chile (*Capsicum annuum*) serrano híbrido Camino Real, en condiciones de invernadero 150 dds.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura-planta (cm)		Volumen-raíz (ml)		Peso-seco (g)		Severidad (Escala 1-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	94.4	8.3	242.5	6.5 ^{ab}	281.7	8.3 ^b	111.9	7.0 ^{ab}	1.1	6.3 ^{ab}
R-116	61.1	2.7	108.3	2.0 ^a	150.0	2.0 ^a	51.9	2.0 ^a	2.8	11.0 ^b
R-118	77.8	5.5	247.5	7.0 ^{ab}	258.3	5.8 ^{ab}	95.7	6.0 ^{ab}	1.1	6.2 ^{ab}
Testigo	100.0	9.5	316.7	10.5 ^b	318.3	9.8 ^b	136.5	11.0 ^b	0.0	2.5 ^a
C.V.	22.6	50.9	39.0	55.4	29.1	55.2	36.2	55.5	91.6	53.9

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje. Columnas de medias que no muestran supra índices, no presentan diferencia significativa entre sí.

4.5.2. Frijol

En el frijol cv. Azufrado Higuera, los aislados F-131 y F-143 de *F. oxysporum* disminuyeron (no de forma significativa) la emergencia de plántulas, al pudrir pocas semillas o bien inducir marchitamiento y clorosis en algunas plántulas recién emergidas (Figura 16). En cuanto al diámetro de tallo, no se presentaron diferencias estadísticas entre los tratamientos y el testigo ($P \geq 0.05$); lo mismo que ocurrió en

peso seco de tallo y follaje (datos no mostrados). En altura de planta, los aislados F-131, 135, 143 y F-145, presentaron diferencias estadísticas con respecto al testigo; en cambio, los tres últimos, para volumen radical presentaron diferencias significativas ($P \leq 0.05$) con respecto al testigo. En cuanto a severidad los valores fueron bajos, para todos los aislados (0-12%), sin diferencias entre ellos ni con el testigo ($P \geq 0.05$) (Cuadro 34).



Figura 16. Efecto de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de frijol cv. Azufrado Higuera. A) Disminución de emergencia de plántulas. B) Plantas sin síntomas. C) Testigo.

Cuadro 34. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* sobre el desarrollo del frijol (*Phaseolus vulgaris*) cv. Azufrado Higuera en condiciones de invernadero, 120 dds.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura-planta (cm)		Diámetro-tallo (mm)		Volumen-raíz (mL)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	88.9	5.8	89.2	7.0 ^{ab}	14.6	9.7	53.0	16.7 ^{bc}	0.6	14.2
F-135	100.0	12.5	98.2	8.8 ^{ab}	15.1	12.3	33.0	6.8 ^{ab}	0.0	7.5
F-140	100.0	12.5	104.5	16.0 ^{bc}	14.4	8.2	43.7	13.2 ^{ac}	0.6	14.2
F-143	88.9	8.7	87.5	5.3 ^a	14.7	11.8	30.8	4.2 ^a	0.6	12.0
F-145	100.0	12.5	96.3	9.5 ^{ab}	14.9	11.0	35.0	8.0 ^{ab}	0.6	14.2
F-146	100.0	12.5	97.7	10.3 ^{ac}	15.1	11.7	38.0	9.2 ^{ac}	0.0	7.5
Testigo	100.0	12.5	115.5	20.0 ^c	15.1	12.3	59.2	19.0 ^c	0.0	7.5
C.V.	8.8	34.2	11.7	56.4	6.7	56.4	29.0	56.2	153.8	46.6

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación. Columnas cuyos valores de rangos no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

Los tres aislados probados de *R. solani*, no afectaron de manera significativa la emergencia del frijol. En plantas adultas se presentó marchitez de follaje, clorosis y muerte de plantas (Figura 17). Para las variables emergencia de plántulas, diámetro de tallo, peso seco de tallo y follaje, no se detectaron diferencias estadísticas significativas ($P \geq 0.05$), al igual que en volumen de raíz (datos no mostrados). Para altura de planta los aislados R-116 y 118 fueron diferentes al testigo, mientras que para severidad solo lo fue R-116, aunque solo con 28% (Cuadro 35).



Figura 17. Efecto de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de frijol cv. Azufrado Higuera. A) Ahorcamiento de base de tallo y muerte prematura de plántulas. B) Clorosis y marchitez de plantas adultas. C) Testigo.

Cuadro 35. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* sobre el desarrollo del frijol (*Phaseolus vulgaris*) cv. Azufrado Higuera, en condiciones de invernadero, 120 dds.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura-planta (cm)		Diámetro-tallo (mm)		Peso-seco (g)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	100.0	6.5	103.8	7.8 ^{ab}	15.2	7.7	32.1	4.3	0.6	9.3 ^{ab}
R-116	100.0	6.5	60.5	2.0 ^a	12.1	4.2	28.7	4.0	1.4	13.5 ^b
R-118	100.0	6.5	93.5	5.2 ^a	15.1	7.0	37.9	8.3	0.3	7.2 ^{ab}
Testigo	100.0	6.5	115.5	11.0 ^b	15.1	6.5	38.0	9.3	0.0	5.0 ^a
C.V.	0.0	0.0	22.6	55.4	15.8	55.4	18.8	55.5	138.8	48.9

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje. Columnas cuyos valores de rangos no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

4.5.3. Maíz

Los seis aislados de *F. oxysporum* y los tres de *R. solani* inoculados en el cultivo del maíz híbrido armadillo, no fueron patogénicos en esta gramínea (Figura 18. Cuadro 36 y 37). En cada planta, una muestra de tejido de raíz se analizó en PDA, las características de los hongos reaislados coincidieron con los respectivos patógenos inoculados en las semillas.

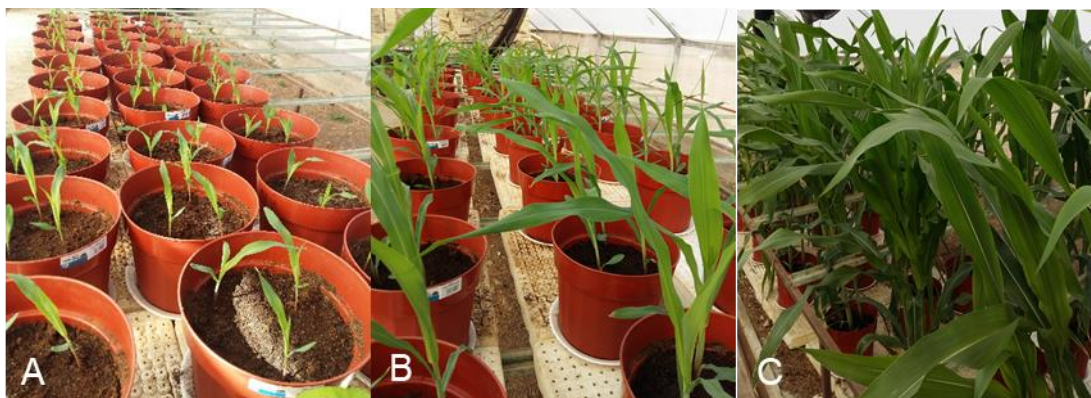


Figura 18. Efecto de *Fusarium oxysporum* y *Rhizoctonia solani* en maíz híbrido Armadillo. A, B) Semillas germinadas o plántulas sin síntomas. C) Testigo.

Cuadro 36. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* sobre el desarrollo del maíz (*Zea mays*) híbrido Armadillo en condiciones de invernadero, 120 dds.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura planta (cm)		Diámetro tallo (mm)		Peso seco (g)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	100.0	11.0	683.3	12.3	46.3	11.2	157.9	11.7	0.0	11.0
F-135	100.0	11.0	683.3	11.5	44.9	11.0	157.4	13.2	0.0	11.0
F-140	100.0	11.0	600.0	2.7	46.0	10.7	156.0	9.3	0.0	11.0
F-143	100.0	11.0	700.0	12.8	47.7.	15.0	160.0	12.2	0.0	11.0
F-145	100.0	11.0	663.3	10.3	42.3	5.3	146.9	6.3	0.0	11.0
F-146	100.0	11.0	690.0	12.7	47.2	11.7	152.2	10.8	0.0	11.0
Testigo	100.0	11.0	710.0	14.7	47.4	12.2	157.2	19.0	0.0	11.0
C.V.	0.0	0.0	9.3	56.3	8.3	56.4	7.3	56.4	0.0	0.0

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje. Columnas de medias que no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

Cuadro 37. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* sobre el desarrollo del maíz (*Zea mays*) híbrido Armadillo en condiciones de invernadero, 120 dds.

Aislado	Emergencia*		Altura planta		Diámetro tallo		Peso seco		Severidad	
	(%)		(cm)		(mm)		(g)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	100.0	6.5	686.7	7.8	45.1	6.3	160.1	9.7	0.0	6.5
R-116	100.0	6.5	693.3	7.5	43.9	6.0	141.2	3.3	0.0	6.5
R-118	100.0	6.5	620.0	2.0	41.3	4.7	156.0	4.3	0.0	6.5
Testigo	100.0	6.5	710.0	8.7	47.4	9.0	144.4	8.7	0.0	6.5
C.V.	0.0	0.0	6.8	55.2	12.5	55.5	7.7	55.5	0.0	0.0

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje. Columnas de medias que no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

4.5.4. Pepino

En los tratamientos pepino + *F. oxysporum* la germinación se vio afectada por pudrición de las semillas o damping-off postemergente. En varias plantas adultas se presentó marchitez y muerte, pero en la mayoría no hubo síntomas (Figura 19) o estos no fueron conspicuos. En el porcentaje de emergencia de plántulas, el aislado F-135 fue diferente a F-131, F-140 y al testigo ($P \leq 0.05$) (Cuadro 38). La altura de planta no exhibió diferencias significativas (datos no mostrados). El volumen de raíz, peso seco de follaje, al igual que la severidad, se mostraron sin diferencias (Cuadro 38).



Figura 19. Efecto de *Fusarium oxysporum* en pepino híbrido Paraíso. A) Semillas no germinadas o plántulas muertas. B) Plantas adultas con marchitez, clorosis de hojas y tallo. C) Testigo.

Cuadro 38. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* sobre el desarrollo de pepino (*Cucumis sativus*) híbrido Paraíso, en condiciones de invernadero, 78 dds.

Aislado	Emergencia*		Diámetro-tallo		Volumen-raíz		Peso-seco		Severidad	
	(%)		(mm)		(ml)		(g)		(Escala 0-4)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	100.0	14.0 ^b	16.2	12.0 ^{ac}	56.7	9.3	50.3	8.7	0.3	10.7
F-135	66.7	2.0 ^a	7.9	3.0 ^a	35.0	3.7	36.5	3.7	1.4	18.3
F-140	100.0	14.0 ^b	17.8	14.5 ^c	63.3	10.2	55.1	11.3	0.0	7.5
F-143	94.4	11.0 ^{ab}	17.1	13.2 ^{bc}	80.3	14.7	60.0	14.7	0.6	11.7
F-145	94.4	11.0 ^{ab}	11.4	4.0 ^{ab}	59.7	8.8	50.5	8.7	0.3	10.7
F-146	94.4	11.0 ^{ab}	17.1	15.0 ^c	65.0	10.3	53.9	10.7	0.3	10.7
F-131	100.0	14.0 ^b	16.2	12.0 ^{ac}	56.7	9.3	50.3	8.7	0.3	10.7
Testigo	100.0	14.0 ^b	18.0	15.3 ^c	106.7	20.0	65.5	19.3	0.0	7.5
C.V.	13.4	44.8	27.5	56.4	40.0	56.2	22.2	56.4	169.8	46.9

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje. Columnas de medias que no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

En los tratamientos con *R. solani* se presentó pudrición de semilla, lo que evitó su germinación, o bien aquellas plántulas que lograron emerger, presentaron raíces de color café, ahorcamiento en la base del tallo, marchitez de las hojas y muerte prematura. En plantas adultas se presentó marchitez y muerte de plantas (Figura 20). Para emergencia de plántulas no hubo diferencias estadísticas ($P \geq 0.05$). En altura de planta, diámetro de tallo, peso seco de tallo y follaje no hubo diferencias significativas entre aislados, excepto R-116 que fue diferente al testigo (Cuadro 39). El volumen de raíz tampoco exhibió diferencias (datos no mostrados). En cuanto a severidad, los aislados fueron virulentos y diferentes al testigo (Cuadro 39).

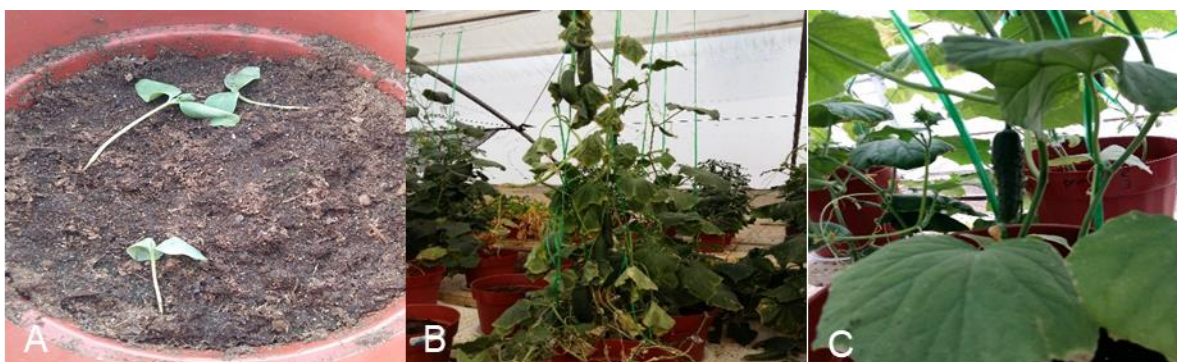


Figura 20. Efecto de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de pepino híbrido Paraíso. A) Marchitez y muerte prematura de plántulas. B) Marchitez y muerte de plantas adultas. C) Testigo.

Cuadro 39. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* sobre el desarrollo de pepino (*Cucumis sativus*) híbrido Paraíso en condiciones de invernadero, 78 dds.

Aislado	Emergencia*		Altura-planta		Diámetro-tallo		Peso-seco		Severidad	
	(%)		(cm)		(mm)		(g)		(Escala 0-4)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	61.1	5.2	349.2	6.3 ^{ab}	9.2	5.7 ^{ab}	41.1	6.3 ^{ab}	1.8	12.7 ^b
R-116	50.0	4.0	0.0	2.0 ^a	0.0	2.0 ^a	0.0	2.0 ^a	4.0	17.0 ^b
R-118	61.1	5.8	348.7	6.7 ^{ab}	11.2	7.3 ^{ab}	44.2	6.7 ^{ab}	1.6	12.3 ^b
Testigo	100.0	11.0	798.2	11.0 ^b	18.0	11.0 ^b	65.5	11.0 ^b	0.0	5.0 ^a
C.V.	33.8	54.6	81.0	55.1	73.4	55.1	67.4	55.1	126.1	52.5

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje. Columnas de medias que no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

4.5.5. Tomate

En los tratamientos tomate + *F. oxysporum*, para algunos aislados como F-143 se observó pudrición de semillas y damping-off post emergente (17%); también en F-143 en pocas plantas adultas el tallo y las hojas adoptaron una coloración café, se marchitaron y al final murieron; la severidad promedio alcanzó 22% (Figura 21; Cuadro

40). Sin embargo, para ninguna de las variables estimadas hubo diferencias estadísticas ($P \geq 0.05$) entre aislados, ni con respecto al testigo (Cuadro 40).



Figura 21. Efecto de *Fusarium oxysporum* en tomate híbrido Cuauhtémoc. A) Pudrición de raíz, desarrollo radical reducido, marchitez y muerte de plántulas. B) Pudrición de tallo, ramas y muerte de plantas adultas. C) Testigo.

Cuadro 40. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* sobre el desarrollo de tomate (*Solanum lycopersicum*) híbrido Cuauhtémoc en condiciones de invernadero, 140 dds.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura-planta (cm)		Diámetro-tallo (mm)		Volumen-raíz (ml)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	100.0	13.0	418.2	13.7	26.1	15.5	171.7	6.8	0.0	7.5
F-135	94.4	9.5	394.2	9.2	23.5	7.8	208.3	11.3	0.3	10.7
F-140	100.0	13.0	394.5	9.3	23.5	8.3	225.0	12.0	0.3	10.7
F-143	83.3	6.0	334.2	5.2	22.5	5.7	186.7	10.5	1.1	15.2
F-145	100.0	13.0	420.0	14.5	25.7	14.3	223.3	11.2	0.3	10.7
F-146	94.4	9.5	371.2	5.8	23.0	8.0	175.0	7.3	0.9	14.8
Testigo	100.0	13.0	434.2	19.3	26.7	17.3	288.3	17.8	0.0	7.5
C.V.	9.4	38.7	11.1	56.4	9.7	56.4	33.0	56.4	170.0	46.9

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación. Columnas de medias que no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

En los tratamientos tomate + *R. solani*, hubo pudrición de semilla lo que propició que algunas no germinaran y aquellas que germinaron murieron en etapa de plántula.

Las plántulas presentaron raíces de color café, ahorcamiento en la base del tallo, marchitez de follaje y clorosis en las hojas. En algunas plantas adultas el tallo y las hojas adquirieron un color café, se marchitaron y murieron; pero la gran mayoría no presentaron síntomas (Figura 22). Para las variables emergencia de plántulas, el aislado R-118 y para altura de planta, R-116, fueron diferentes ($P \leq 0.05$) al testigo. En diámetro de tallo, volumen de raíz, así como en el peso seco de tallo y follaje (datos no mostrados), no hubo diferencias estadísticas. En la variable severidad, los aislados R-116 y 118 fueron con diferencias estadísticas con respecto al testigo (Cuadro 41).



Figura 22. Efecto de *Rhizoctonia solani* en tomate híbrido Cuauhtémoc. A) Pudrición de semilla, clorosis en hojas y muerte de plántulas. B) Ahorcamiento en la base del tallo. C) Testigo.

Cuadro 41. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* sobre el desarrollo de tomate (*Solanum lycopersicum*) híbrido Cuauhtémoc en condiciones de invernadero, 140 dds.

Aislado	Emergencia*		Altura-planta		Diámetro-tallo		Severidad	
	(%)		(cm)		(mm)		(Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	94.5	7.5 ^{ab}	403.0	7.7 ^{ab}	26.1	8.7	0.4	5.0 ^{ab}
R-116	94.5	7.5 ^{ab}	240.0	2.0 ^a	14.5	2.0	1.9	9.8 ^b
R-118	83.3	2.0 ^a	351.7	5.3 ^{ab}	23.8	6.3	1.1	8.7 ^b
Testigo	100.0	9.0 ^b	434.2	11.0 ^b	26.7	9.0	0.0	2.5 ^a
C.V.	9.2	49.2	23.5	55.5	24.4	55.5	114.4	53.5

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación. Columnas de medias que no muestran supra índices, no presentaron diferencias estadísticas significativas.

4.5.6. Tomatillo

En tomatillo cv. Gran Esmeralda, inoculado con *F. oxysporum* se observó pudrición de semillas y fallas en la germinación. En algunas semillas que germinaron, las plántulas presentaron desarrollo radical reducido, marchitez prematura y al final muerte de plántulas. Algunas plantas adultas presentaron marchitez y muerte; tallos, hojas y ramas de color café (Figura 23). En cuanto a la proporción de plantas emergidas y altura de planta, los aislados F-131 y F-145 fueron diferentes al testigo ($P \leq 0.05$). Las variables diámetro de tallo y peso seco de tallo y follaje no mostraron diferencias (datos no mostrados). En el volumen de raíz los aislados F-131, 135 y F-145, fueron diferentes al testigo (Cuadro 42). La severidad mostrada por los aislados F-131, 135, 140, 143 y F-145 fue diferente al testigo (Cuadro 42).



Figura 23. Efecto de *Fusarium oxysporum* en el cultivo de tomatillo cv. Gran Esmeralda. A) Pudrición de semillas y raíces y clorosis. B) Pudrición de tallos, hojas y ramas y muerte de plantas adultas. C) Testigo.

En los tratamientos con *R. solani*, la emergencia del tomatillo se vio afectada por pudrición de semilla, lo que ocasionó que algunas no germinaran, y que las plántulas que pudieron emerger murieron por damping-off post emergente. Las plántulas afectadas presentaron ahorcamiento en la base del tallo, raíces de color café, marchitez de follaje, clorosis en hojas y muerte prematura. En ciertas plantas adultas se presentó ahorcamiento en la base de tallo, hasta provocar su muerte. También hubo plantas adultas sin síntomas (Figura 24). Para el porcentaje de emergencia de plántulas, los aislados R-116 y 115 presentaron diferencias

significativas ($P \leq 0.05$) con respecto al testigo (Cuadro 43). Las variables altura de planta, diámetro de tallo, volumen de raíz y peso seco de follaje no mostraron diferencias entre los aislados; excepto R-116 cuyos valores que mató todas las plántulas. En el caso de las semillas sembradas en suelo infestado con R-116, ninguna de las plantas llegó a edad adulta y el volumen estimado de raíz fue nulo; mientras que en R-115 fue de 78.3 mL, R-118 de 91.7 mL, y el testigo con 132.5 mL. En cuanto a severidad, los tres aislados indujeron valores diferentes al testigo (Cuadro 43).

Cuadro 42. Efecto de seis aislados de *Fusarium oxysporum* sobre el desarrollo de tomatillo (*Physalis ixocarpa*) cv. Gran Esmeralda en condiciones de invernadero, 100 dds.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura-planta (cm)		Volumen-raíz (mL)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
F-131	61.1	6.8 ^{ab}	97.5	3.7 ^a	46.7	3.7 ^a	3.6	20.2 ^b
F-135	88.9	14.8 ^{bc}	198.3	13.7 ^{bc}	69.8	7.0 ^a	3.4	18.7 ^b
F-140	77.8	12.3 ^{ac}	170.0	11.7 ^{ac}	81.7	10.5 ^{ac}	1.7	13.8 ^b
F-143	66.6	9.2 ^{ac}	178.3	11.7 ^{ac}	121.7	17.5 ^{bc}	2.0	13.5 ^b
F-145	44.4	3.0 ^a	110.0	5.3 ^{ab}	78.3	8.5 ^{ab}	2.8	16.3 ^b
F-146	77.8	12.3 ^{ac}	167.5	11.0 ^{ac}	85.0	10.8 ^{ac}	1.1	10.5 ^{ab}
Testigo	100.0	18.5 ^c	258.5	20.0 ^c	132.5	19.0 ^c	0.0	3.5 ^a
C.V.	30.0	55.1	36.4	56.4	37.8	56.3	86.4	55.7

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05 \bar{X}$). = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación.



Figura 24. Efecto de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de tomatillo cv. Gran Esmeralda. A) Pudrición de semilla, marchitez y muerte de plántulas. B) Ahorcamiento de base de tallo y muerte de plantas. C) Testigo.

Cuadro 43. Efecto de tres aislados de *Rhizoctonia solani* sobre el desarrollo de tomatillo (*Physalis ixocarpa*) cv. Gran Esmeralda en condiciones de invernadero, 100 dds.

Aislado	Emergencia* (%)		Altura-planta (cm)		Diámetro-tallo (mm)		Peso-seco (g)		Severidad (Escala 0-5)	
	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango	\bar{X}	Rango
R-115	61.1	4.2 ^{ab}	164.2	6.0 ^{ab}	17.6	6.7 ^{ab}	45.3	7.7 ^{ab}	1.9	12.8 ^b
R-116	44.4	2.8 ^a	0.0	2.0 ^a	0.0	2.0 ^a	0.0	2.0 ^a	5.0	17.0 ^b
R-118	94.4	9.0 ^{bc}	182.2	7.0 ^{ab}	18.2	7.0 ^{ab}	39.8	6.0 ^{ab}	1.7	12.2 ^b
Testigo	100.0	10.0 ^c	258.5	11.0 ^b	24.0	10.3 ^b	62.0	10.3 ^b	0.0	5.0 ^a
C.V.	36.1	53.0	65.7	55.1	64.6	55.1	69.0	55.1	130.4	52.3

Rangos medios que no comparten la misma letra en cada columna, presentan diferencia significativa. Prueba de Kruskal-Wallis y comparación de rangos medios de Conover ($P \leq 0.05$). \bar{X} = datos sin transformar. *Emergencia de plántulas, nueve días después de la inoculación. Peso seco = peso seco de tallo y follaje.

4.6. DISCUSIÓN

En el presente trabajo se planteó como objetivo comparar la virulencia de aislados patogénicos de *F. oxysporum* y de *R. solani*, obtenidos de plantas sintomáticas de tomatillo, al inocularlos en una variedad de cada uno de los cultivos de chile, frijol, maíz, pepino, tomate y tomatillo. En los cultivos inoculados con los seis aislados *F. oxysporum* y tres de *R. solani*, se observó una gama de respuestas que

variaron de forma amplia sobre todo en función del aislado, para cada una de las variables que se estimaron como indicadores de vigor y sanidad vegetal.

Al analizar en forma global los parámetros evaluados que representan las respuestas de los seis cultivos, se puede sintetizar que a excepción del maíz híbrido Armadillo, al menos un aislado de cada una de las dos especies de hongos probados, fue patogénico en los cultivos inoculados. En cada cultivo, los efectos fueron diferenciales y variaron desde reducciones en la germinación, decrementos en parámetros de vigor, hasta el desarrollo de lesiones necróticas severas.

En el cultivo del chile serrano, de los aislados de *F. oxysporum* en estudio, el más virulento fue F-143, con reducciones significativa de 36% en volumen de raíz y de 54% en el peso seco. Sin embargo, aunque F-143 fue el que presentó el mayor valor de severidad, este fue de solo 18%, mientras que el testigo fue (0%). La especie *F. oxysporum* se halla reportada en Chile en diversas regiones, causando damping-off, pudrición de raíces, clorosis, marchitez, y/o pudrición de raíces-cuello y al final la muerte de la planta (González-Pérez *et al.*, 2004; Vásquez-López *et al.*, 2009; Kelanivangoda *et al.*, 2011; Ferniah *et al.*, 2014; Pérez-Hernández *et al.*, 2014; Pérez-Acevedo *et al.*, 2017; Espinoza-Ahumada *et al.*, 2019), incluido Sinaloa (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2004b).

En relación con *R. solani*, R-116 fue el único aislado que mostró una virulencia de forma relativa alta sobre el chile serrano híbrido Camino Real, pues redujo altura de planta en 66%, peso seco en 62% y el volumen de raíz en 53%, además de mostrar el mayor estimado de severidad que fue de 56%. En diversos trabajos también se ha demostrado la patogenicidad de *R. solani* (grupos de anastomosis no determinados) en *Capsicum annuum*, con síntomas que incluyen: pudrición de raíz, clorosis y marchitez (Velásquez-Valle y Medina-Aguilar, 2003; González-Pérez *et al.*, 2004; Montero-Tavera *et al.*, 2013; Espinoza-Ahumada *et al.*, 2019). Así también, se reportó que el chile morrón fue susceptible a *R. solani* grupo AG-4 (Guigón-López, 2019).

En el cultivo de frijol cv. Azufrado Higuera, de los aislados de *F. oxysporum* probados el menos virulento fue F-146, cuya severidad fue nula (sin síntomas), mientras que, en el resto de los aislados, fue de solo 12%. Sin embargo, para otras variables se apreciaron tendencias que sugieren la posibilidad, de que este hongo

pueda disminuir en menor grado el vigor y sanidad de las plantas de frijol. Por ejemplo, F-131 y F-146 provocaron damping-off pre emergente en 11% de las semillas o plántulas, datos que, sin diferencias estadísticas, desde el punto de vista biológico son indicadores de patogenicidad, pues este tipo de daños truncaron de forma drástica y temprana el desarrollo de las plantas. Así mismo, los aislados F-131, F-135, F-143 y F-145, disminuyeron en forma significativa, la altura de planta; estos últimos tres aislados, también decrementaron el volumen de raíz.

Las especies del género *Fusarium* y de forma principal *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli* y *F. solani*, se encuentran bien documentadas como patógenos importantes del frijol (Abawi y Pastor-Corrales, 1987). En el caso específico de *F. oxysporum* f. sp. *phaseoli*, provoca en frijol una típica marchitez vascular generalizada, clorosis foliar, pudrición de raíz, achaparramiento; el peso seco de las plantas se reduce de forma significativa (Abawi y Pastor-Corrales, 1987; Velásquez-Valle *et al.*, 2002; Montiel-González *et al.*, 2004; Jiménez-Galindo *et al.*, 2010; Pereira *et al.*, 2013; Xue *et al.*, 2015).

En cuanto a *R. solani*, en lo general, los tres aislados tuvieron un efecto moderado o débil sobre el desarrollo y sanidad de las plantas de frijol cv. Azufrado Higuera. Sin embargo, R-116 aunque mostró una baja severidad de 28% (no significativa), se redujo con diferencias significativa la altura de la planta en 48%, con respecto al testigo. Así también, R-118 disminuyó de igual forma la altura de la planta, aunque en solo 19%, pero la severidad fue similar (6%) a la del testigo (0%).

La literatura es muy prolífica en cuanto a reportes de *R. solani* como un patógeno importante del frijol, con síntomas de pudriciones de raíz y base de tallos, marchitamientos, reducción de peso seco de follaje y disminución de crecimiento, entre otros (Gutiérrez *et al.*, 2006; Navarrete-Maya *et al.*, 2009; Ajayi-Oyetunde y Bradley, 2017). Así también, *R. solani* AG4 HGI causó severa pudrición de raíz e hipocótilo en frijol (Meinhardt *et al.*, 2002; Çebi-Kiliçoğlu y Özkoç, 2010; Nerey *et al.*, 2010).

En contraste, en el cultivo de maíz, los aislados de *F. oxysporum* y de *R. solani* no mostraron efecto apreciable en la emergencia de plántulas, ni en los distintos parámetros de vigor estimados. Las raíces y el follaje de las plantas inoculadas, presentaron aspecto similar al testigo. Estos resultados indican que el híbrido Armadillo

de maíz (*Zea mays*), fue con alta resistencia a los aislados ensayados en ambos hongos. En cada planta, una muestra de tejido de raíz se analizó en PDA y los aislados obtenidos se compararon con los inoculados de forma original, las características de los hongos reaislados coincidieron con los respectivos patógenos inoculados en las semillas.

Cabe señalar que en diversas regiones se ha reportado a *F. oxysporum* y a *R. solani* como importantes patógenos en el cultivo del maíz (Madhavi *et al.*, 2012; Ortiz-Bustos *et al.*, 2015). Aunque en diversas regiones las enfermedades de la raíz-tallo y de la mazorca, asociados con *Fusarium* spp., representan factores que limitan la productividad e inocuidad del cultivo del maíz, estas de manera común no se vinculan a *F. oxysporum*, sino con especies como *F. verticillioides*, corresponsable de la pudrición de tallo-raíz y mazorca en Sinaloa (Leyva-Madrugal *et al.*, 2014; López-Valenzuela *et al.*, 2014; Velarde-Félix *et al.*, 2018) y diversas regiones maiceras del mundo. Cabe agregar que se han detectado reportes en los que se asocia a *F. oxysporum*, con pudrición de raíces de maíz dulce (Miller y Ocamb, 2009), o en maíz blanco para grano (Velarde-Félix *et al.*, 2018), pero en asociaciones con otras especies de este o de otros géneros. Se desconoce información sobre la posible patogenicidad en maíz, de aislados de *F. oxysporum* obtenidos de tomatillo y viceversa.

En el cultivo de pepino, los aislados de *F. oxysporum*, a excepción de R-135, no exhibieron evidencias claras que sustenten su patogenicidad. R-135 indujo la mayor severidad y esta fue de forma relativa moderada (35%); además decrementó la emergencia en 33%, diámetro de tallo (56%), volumen de raíz (33%) y peso seco (44%) de las plantas. Algunos otros aislados mostraron cierta tendencia a ser virulentos, tal es el caso de F-145 cuyo diámetro de tallo fue con diferencia menor al del testigo, pero en el resto de las variables no hubo significancia estadística.

El hongo *Fusarium oxysporum* y de manera específica *F. o. f. sp. cucumerinum*, causante de la marchitez vascular, es uno de los patógenos más importantes del pepino. Este hongo, de trascendencia vascular, es específico a pepino; provoca una marchitez derivada del taponamiento de xilema, lo que se manifiesta en flacidez y palidez en el follaje, seguido de la muerte de la planta (Blancard, 1996). En esta misma especie, una segunda variante denominada *F. o. f.sp. radialis-cucumerinum*, provoca

podrición en raíces que se extienden al cuello y hasta 10 o 12 cm por encima del cuello en plantas maduras. En etapas avanzadas de la infección, se puede apreciar la abundante esporulación de color naranja en las lesiones del tallo y cuello; sin decoloración o necrosis vascular (Moreno *et al.*, 2001). Los síntomas observados en pepino con los aislados de *F. oxysporum* probados en nuestro trabajo, fueron muy parecidos a los reportados para *F. o. f. sp. radicis-cucumerinum*.

En lo relativo con *R. solani* en pepino, los tres aislados presentaron evidencias de ser patogénicos, lo cual se reflejó en al menos una de las variables estimadas. El más virulento fue R-116 cuya severidad fue de 100%; también disminuyó la emergencia de plántulas en 50%, si bien este valor no fue significativo distinto al del testigo (100%). Además, con R-116 las plantas que lograron emerger (50%) murieron en pocos días por damping-off post emergente, de ahí que los valores de altura de la planta, diámetro de tallo y el peso seco, fueron de cero. El pepino es muy susceptible al hongo *R. solani*, en el cual ocurre una fuerte reducción en la germinación de semillas y pudrición de raíces (Hwangbo *et al.*, 2016; Al-Fadhal *et al.*, 2019). También se ha reportado en pepino a *R. solani* grupo de anastomosis AG4 (Mirmajlessi *et al.*, 2012).

En el cultivo de tomate, para los aislados de *F. oxysporum* no se detectaron diferencias significativas para las variables estimadas. Sin embargo, al menos dos aislados mostraron tendencias de mostrar cierta virulencia. Por ejemplo, la mayor severidad numérica la tuvieron F-143, seguido de F-146 (22 y 18%); de igual forma los valores numéricos de emergencia se redujeron en 17 y 6%; altura de planta 23 y 15%; volumen de raíz 35 y 39%, de manera respectiva.

En cultivo de tomate es atacado a nivel mundial, por dos variantes de *F. oxysporum*: *F. o. f.sp. lycopersici*, causante de la marchitez vascular y *F. o. f.sp. radicis-lycopersici*, responsable de la pudrición de la corona y raíz del tomate. El hongo *F. o. f.sp. lycopersici* es específico a tomate, en el que provoca una típica marchitez vascular: clorosis y flacidez unilateral de las hojas, reducción en el vigor y tamaño de la planta, fuerte decoloración y necrosis del sistema vascular, secadera y muerte de las plantas. En contraste, *F. o. f. sp. radicis-lycopersici*, causa una severa pudrición de raíces, cuello y base del tallo; clorosis de las hojas, reducción en el vigor y tamaño de la planta, secadera y muerte de las plantas (Apodaca-Sánchez, 2002; Agrios, 2005).

F. o. f. sp. radialis-lycopersici, tiene al tomate como único hospedante cultivable reconocido, pero en inoculaciones artificiales ha mostrado un amplio potencial de afectar a otros cultivos y especies de maleza (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2004a).

En cuanto a *R. solani* en tomate, destacaron R-116 y R-118, pues cada uno de ellos afectó con diferencias estadísticas al menos una variable relacionada con el vigor y/o sanidad. Así R-116 disminuyó con significancia la altura de planta en 45% y tuvo la mayor severidad (38%). Así también, R-118 presentó una severidad de 22%, mientras que la emergencia fue 17% menor que la del testigo (100%).

El hongo *R. solani* es uno de los más comunes en tomate, donde causa pudriciones en la raíz y base de tallo, así como amarillamiento general del follaje, reducción en el crecimiento y muerte de plantas (Santander *et al.*, 2003; Agrios, 2005; Fernández-Herrera *et al.*, 2013a; López-Dávila *et al.*, 2017; Durak y Ok, 2019). Se ha reportado también que *R. solani* AG-4 GHI causa damping-off (Thaeri, 2011) y pudrición de tallo del tomate (Kuramae *et al.*, 2003).

Los aislados de *F. oxysporum* inoculados en tomatillo, a excepción de F-146, afectaron de forma significativa el vigor y sanidad del tomatillo. El aislado más virulento fue F-131 pues tuvo la severidad más alta (72%), además de disminuir con diferencias estadísticas la emergencia de plántulas en 39%, altura de la planta (62%) y volumen de raíz (65%). Los aislados que le siguieron en virulencia fueron F-135 y F-145 con severidades de 68 y 56%, de manera respectiva; también bajaron la emergencia (11 y 56%), altura de la planta (23 y 57%) y el volumen de raíz (48 y 41%), en ese orden.

Los tres aislados probados de *R. solani* decrementaron con diferencias el vigor y la sanidad de las plantas de tomatillo, pero el más virulento fue R-116 con severidad de 100%; además redujo la emergencia en 56%, mientras que, en altura de planta, diámetro de tal y peso seco de follaje, se obtuvieron valores de cero. Lo anterior se debió a que las plantas que lograron emerger (44%), murieron en pocos días por damping-off post emergente, de tal modo que fue imposible evaluar las variables mencionadas, toda vez que las plántulas ubicadas sobre el suelo húmedo se pudrieron muy rápido con la ayuda de bacterias y hongos saprobios. Un efecto similar al anterior se presentó con R-116, en pepino. En cambio, R-115 tuvo severidad de 38%, mientras que la emergencia fue disminuida en 39%. El aislado R-118 presentó una severidad

de 34%, pero en el resto de los parámetros no se detectaron diferencias significativas con el testigo; aunque se observaron tendencias que sugieren, al igual que en R-115, una virulencia moderada en tomatillo.

En síntesis, el cultivo más afectado fue tomatillo, resultados que se esperaban, en virtud de qué en un estudio inicial de esta tesis, los aislados de *F. oxysporum* y de *R. solani*, fueron obtenidos de plantas sintomáticas en campo y comprobada su patogenicidad en tomatillo cv. Gran Esmeralda (Capítulo 2; Ayala-Armenta *et al.*, 2020). Por lo anterior, sobre el criterio de una severidad igual o mayor a 50%, fueron escogidos para el presente ensayo. En un segundo estudio previo de esta misma tesis, los aislados citados, en su mayoría, afectaron con mayor severidad los materiales comerciales de tomatillo Dalí, Gabriela, Puebla, San Miguel, Tamayo y Tecozautla (Ayala-Armenta *et al.*, 2020; Capítulo 3).

Por otro lado, en cultivo de tomatillo a campo abierto, Gómez-Camacho *et al.* (2006), señalaron a los síntomas de amarillamiento del follaje, marchitez y muerte de plantas, como putativas a *F. oxysporum*. Así también, en Sinaloa, la marchitez del tomatillo fue de manera previa asociada a un complejo de hongos entre los cuales se halla *Fusarium oxysporum*, *F. solani* y *R. solani* (Apodaca-Sánchez, 2005; Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008; Flores-Sánchez, 2009), que fueron identificados solo por morfometría. En una especie relacionada, la uchuva (*Physalis peruviana*), los síntomas de pudrición de raíz, tallo y marchitez de plantas se atribuyeron también a *F. oxysporum* (Rodríguez-Amézquita *et al.*, 2010).

Fusarium oxysporum es un ascomiceto considerado con reproducción asexual y es considerado un complejo de especies que alberga varias “especies filogenéticas” (Baayen *et al.*, 2000; Edel-Hermann y Lecomte, 2019). Si se consideran en colectivo, el grupo de aislados individuales del denominado “complejo de especies *F. oxysporum*” (Fosc), infecta a un amplio rango de hospedantes. Sin embargo, las variantes individuales despliegan una patogenicidad selectiva, a un rango de plantas hospedantes más o menos estrecho. Las variantes con el mismo rango de hospedantes, de forma general, una sola especie vegetal, son agrupadas dentro de una forma especial (Edel-Hermann y Lecomte, 2019). En una reciente revisión, en *F. oxysporum* se computaron 106 formas especiales bien caracterizadas, junto con 37 no

bien documentadas. Además, se detectaron 58 especies / géneros susceptibles a *F. oxysporum*, para las cuales una forma especial aún no ha sido caracterizada (Edel-Hermann y Lecomte, 2019).

El complejo de especies *F. oxysporum* exhibe una alta diversidad genética y funcional, lo cual se manifiesta en su impresionante rango de hospedantes, dicotiledóneas y monocotiledóneas. Las variantes de patogénicas de *F. oxysporum* causan marchitamientos vasculares sin daños externos visibles, o bien pudrición de raíz y corona (cuello); todas ellas son indistinguibles con base en morfología (Edel-Hermann y Lecomte, 2019). En el presente estudio, se pudo observar que los aislados patogénicos de *F. oxysporum*, fueron capaces no solo de marchitar a la planta, sino también de causar secadera en etapa temprana (damping-off) en tomatillo, así como en chile, pepino y frijol. A reserva de inocular plantas en estados más avanzados de desarrollo, para tener una idea más amplia de la sintomatología, los presentes resultados sugieren, que estos aislados patogénicos se ubican mejor en el grupo causantes de pudrición de raíz y corona.

En los seis aislados de *F. oxysporum* probados en el presente trabajo, el análisis filogenético los situó en el mismo clado de *F. o. f. sp. melonis* (Ayala-Armenta *et al.*, 2020; Capítulo 2), el cual se halla reportado como un parásito vascular que se supone que es específico del melón (Agrios, 2005) y del cual no se detectaron reportes en tomatillo.

A la fecha se desconocen reportes de que aislados de *F. oxysporum* patogénicos en tomatillo, posean también la capacidad de inducir síntomas en plantas de chile, frijol, pepino y tomate; tampoco se ha investigado la posible patogenicidad de aislados de la misma especie, obtenidos de otros cultivos, que pudieran ser virulentos en tomatillo.

En relación con la patogénesis del complejo de especies de *Fusarium oxysporum*, se sabe que el hongo penetra la raíz y una vez dentro, se desplaza rápido hacia los vasos de xilema, a los cuales ingresa. La planta intenta detener el avance de la infección en el sistema vascular mediante mecanismos defensivos de tipo estructural o de naturaleza bioquímica, pero si las respuestas son lentas o débiles, la invasión progresa y las plantas desarrollan los síntomas. El efecto patogénico principal es la

obstrucción del sistema vascular, lo que impide el flujo ascendente del agua vía xilema, que termina por colapsar a la planta (Agrios, 2005; van Dam, 2017).

Es de suponer que aislados pertenecientes a una misma forma especial tienen afinidad genética entre sí. Sin embargo, algunas variantes pertenecientes a diferentes formas especiales, se hallan más relacionadas (con base en similitud de secuencias de genes conservados) con variantes pertenecientes a otras formas especiales (incluso algunas no patogénicas), en comparación con aislados de su misma forma especial. Por esta razón cada forma especial puede estar compuesta por distintas líneas clonales (Baayen *et al.*, 2000). Esta información ayuda a explicar la causa de que muchas formas especiales son patogénicas a varias especies del mismo género o familia; incluso algunas se han reportado en especies de distintas familias (Edel-Hermann y Lecomte, 2019).

En varias formas especiales de *F. oxysporum* ha sido complicado sostener el concepto de especificidad. Por ejemplo, mediante inoculaciones artificiales puede haber patogenicidad cruzada de las formas especiales *cucumerinum*, *niveum*, *lagenariae*, y *luffae* en sus respectivos hospedantes, a tal grado que algunos autores han propuesto agrupar a todas ellas en otra forma especial denominada *cucurbitacearum* (Edel-Hermann y Lecomte, 2019). Es posible argumentar que las condiciones bajo las cuales se corren las pruebas de patogenicidad son muy favorables a las variantes fúngicas, las cuales podrían no ser patogénicas en algunas especies vegetales en situaciones naturales (Edel-Hermann y Lecomte, 2019). Sin embargo, este no es el caso de *F. o. f. sp. radialis-cucumerinum* que además de atacar a pepino, su hospedante “normal”, también causa síntomas en melón, bajo condiciones naturales (Vakalounakis *et al.*, 2005).

En *Fosc* se sabe poco sobre las bases genéticas de la especificidad al hospedante, pero se empiezan a entender los mecanismos que operan durante el proceso de invasión. *F. oxysporum* secreta en xilema, entre otras sustancias, enzimas y pequeñas proteínas no enzimáticas, denominadas proteínas “secretadas en xilema” (Six) de las cuales se conocen 14. Estas proteínas Six, funcionan como “efectores” que facilitan el proceso invasivo, suprimiendo o protegiendo contra el sistema inmune de la planta. Los genes que codifican para dichos efectores, se hallan asociados con

ciertos tipos de elementos transposables. El genoma de *F. oxysporum* se halla en su estructura ubicado en al menos dos compartimentos: a) un genoma principal o “nuclear” (“core”) cuyos genes son compartidos entre todos los aislados de la especie y de otras relacionadas, que se caracteriza por ser cierta estabilidad; b) un genoma accesorio que consiste de cromosomas separados o extensiones del genoma principal. El genoma accesorio no es requerido para el crecimiento vegetativo del hongo, pero contiene al menos la mayoría de los genes que permiten al hongo invadir y causar la enfermedad en la planta. Las secuencias de los cromosomas accesorios no son conservados en todas las variantes de *F. oxysporum* y sus genes tienen una alta tasa de mutación, en comparación con los genes del genoma “nuclear” que son conservados (van Dam, 2017).

La infección de diferentes plantas hospedantes requiere de diferentes sets de efectores, lo cual convierte a estas proteínas en factores claves para la especificidad de una determinada forma especial. En el caso de Fol, este posee 15 cromosomas y cuatro de ellos en su totalidad, además de una parte de los cromosomas 1 and 2, podrían considerarse como cromosomas accesorios, debido a su alto contenido de elementos transposables (Ma *et al.*, 2010, citados por van Dam 2010). En Fol, los 14 genes Six descubiertos se localizan en el cromosoma 14. Este cromosoma puede transferir de forma horizontal de una variante donante a una receptora, la capacidad de infectar plantas de tomate, de ahí que se le considere el cromosoma de la patogenicidad (van Dam, 2017). En un estudio reciente, se determinaron los genes efectores putativos, que son compartidos por cada uno de las cuatro formas especiales de *F. oxysporum* que infectan a las cucurbitáceas, lo cual ayuda a entender la patogenicidad cruzada de algunos aislados de *F. oxysporum*, a más de un cultivo hospedante de dicha familia (van Dam, 2017).

En *F. oxysporum* existen muchos transposones, con capacidad potencial responsables de mutaciones, que a su vez propicien la expresión de diferentes efectores y con ello la capacidad de ampliar el rango de hospedantes de algunas formas especiales. La transferencia horizontal de genes es otro mecanismo que puede explicar la diversidad genética entre variantes, que son patogénicas a determinadas especies hospedantes (Ma, 2014). La transferencia horizontal de genes puede también

explicar el fenómeno de la patogenicidad cruzada. Esta transferencia horizontal que ocurre entre variantes patogénicas y no patogénicas se ha demostrado en condiciones controladas, pero la competencia entre poblaciones de *F. oxysporum* sobre la superficie de las raíces del hospedante, provee condiciones favorables para que ocurra dicho fenómeno en condiciones de campo (Edel-Hermann y Lecomte, 2019). Con base en lo anterior, es probable que los aislados patogénicos de *F. oxysporum* obtenidos de tomatillo, cuya virulencia alta o moderada en algunos de los cultivos en estudio, haya emergido a partir de alguna otra forma especial ya establecida en México, en donde se cultivan diversas especies susceptibles a *F. oxysporum*; tampoco habría que descartar la posibilidad de que se haya generado a partir de variantes no patogénicas, que de alguna manera recibieron genes de alguna de las formas especiales ya presentes, por medio de los mecanismos de intercambio genético asexual que pueden ocurrir al coexistir en un mismo espacio dicho tipo de variantes fúngicas.

Aunque la causa no ha sido demostrada, es difícil no incriminar el papel de los humanos en la actual distribución y la emergencia de nuevas razas dentro de las formas especiales, sobre todo en el contexto de una agricultura intensiva (Edel-Hermann y Lecomte, 2019), basada en sistemas de monocultivos o de rotaciones cortas, en genotipos con características genéticas uniformes que ejercen fuerte presión de selección sobre los patógenos.

Se podría especular que algunos aislados de *F. oxysporum* obtenidos de tomatillo, podrían en el campo comportarse como patógenos en los cultivos antes mencionados, pero es necesario correr pruebas de patogenicidad cruzada, para comparar la virulencia de dichos aislados en los cultivos mencionados, así como con aislados obtenidos de dichos cultivos, en tomatillo. Los estudios mencionados, en conjunción con estudios de compatibilidad vegetativa micelial y de filogenia, permitirían dilucidar el grado de relación existente entre ellos. Así también, no puede descartarse que los aislados de *F. oxysporum* patogénicos en tomatillo, constituyan una nueva forma especial, para lo cual se requiere de mayores estudios, tales como los ya señalados (van Dam, 2017; Edel-Hermann y Lecomte, 2019).

Por otro lado, desde el siglo pasado ha quedado claro que las especies del género *Rhizoctonia* representan también un grupo de hongos complejo. Es evidente que especies como *Rhizoctonia solani*, en realidad son especies “colectivas”, que consisten de diversas variantes más o menos relacionadas, que se pueden distinguir entre sí, por su pertenencia a determinados grupos de anastomosis, porque solo los aislados del mismo grupo son capaces de fusionar sus hifas en contacto (Carling *et al.*, 2002; Agrios, 2005). El complejo *Rhizoctonia solani* se divide en 14 grupos de anastomosis (AG1 al AG13 y AG-BI) (Carling *et al.*, 2002).

Aunque los grupos de anastomosis de *R. solani*, tienden a mostrar cierta especificidad en cuanto al hospedante (Agrios, 2005), al paso de los años se hace evidente que algunos grupos AG, en realidad poseen un rango de hospedantes más o menos amplio (Bolkan y Ribeiro, 1985; Carling *et al.* 2002; Meinhardt *et al.*, 2002); si bien, en cada grupo pueden distinguirse subgrupos con cierta capacidad especificidad. Así por ejemplo, AG-4 infecta a una variedad de especies de plantas a nivel mundial (Carling y Sommer,1992); causa pudrición de semilla e hipocótilo en casi todas las angiospermas, así como lesiones en el cuello de la mayoría de las leguminosas, algodónero y remolacha (Agrios, 2005). En el caso específico de *R. solani* subgrupo HGI, se ha reportado en ajonjolí (Cochran *et al.*, 2018), frijol (Çebi-Kiliçoğlu y Özkoç, 2010), melón (Kuramae *et al.*, 2003), papa (Kanetis *et al.*, 2016) y tomate (Kuramae *et al.*, 2003; Taheri, 2011); además de cacahuate, crisantemo, espinaca, melón, soya y remolacha (Diversos autores, citados por González-Hernández, 2002).

A la fecha también se desconocen reportes de que aislados de *R. solani* patogénicos, obtenidos en tomatillo, posean la capacidad de inducir síntomas en plantas de los cultivos aquí investigados; tampoco se ha explorado que poblaciones del hongo, obtenidas de alguno de los cultivos en mención, posean potencial de causar síntomas en al menos algunas variedades de tomatillo. Sin embargo, el grupo HGI de *R. solani*, dista mucho de ser específico, según se puede concluir de la revisión hecha por González-Hernández (2002) y de las fuentes citadas en párrafos anteriores.

Por otra parte, los cultivos analizados en este trabajo a excepción del maíz, todos fueron susceptibles a *F. oxysporum* y a *R. solani*. En consecuencia, chile, frijol,

pepino y tomate, podrían ser no adecuados con fines de rotación. Por el contrario y a reserva de estudios posteriores, el maíz podría ser una posible opción adecuada de rotación con tomatillo, para una posible disminución de las poblaciones en el suelo y así contribuir a un manejo integrado sostenible de la enfermedad en cuestión. Estos resultados también ayudan a entender la dinámica de *F. oxysporum* y *R. solani* en el suelo, pues las evidencias de que estos cultivos, con excepción del maíz, pueden ser atacados en mayor o menor grado por distintos aislados de ambas especies, sugiere que en el campo podrían actuar como hospedantes alternos y con ello contribuir al potencial de supervivencia en el suelo. A lo anterior hay que agregar que *F. oxysporum* forma clamidosporas y *R. solani* micro esclerocios, que los protegen por periodos prolongados, de ambiente adversos o de la ausencia de hospedantes (Agrios, 2005).

Es pertinente señalar que en el presente estudio solo se comparó la virulencia de seis aislados de *F. oxysporum* y tres de *R. solani*, en una sola variedad de cada uno de cinco cultivos, con respecto a una de tomatillo. Es obvio que se requiere de mayores investigaciones que involucren más cultivos y variedades, ya que es amplia la diversidad genética de las especies vegetales en estudio y de otras que no fueron estudiados, pero que forman parte del mosaico de cultivos explotados en Sinaloa y en México. Así también, otra línea de investigación interesante es conocer si estos hongos se albergan en especies de plantas de maleza, pues numerosas formas especiales de *F. oxysporum*, pueden invadir raíces de plantas asintomáticas de maleza, o de otros cultivos (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2004a).

Al concluir, se estima que los resultados obtenidos, pueden representar un aporte para el entendimiento de la epidemiología y la búsqueda de opciones de manejo sostenible de *F. oxysporum* y de *R. solani*, en el cultivo del tomatillo en México.

4.7. CONCLUSIÓN

En condiciones de invernadero, los cultivos de chile, frijol, pepino, tomate y tomatillo, fueron con diferencias susceptibles a *F. oxysporum* y *Rhizoctonia solani*, mientras que el maíz fue resistente.

4.8. LITERATURA CITADA

- Abawi, G. S., Pastor-Corrales, M. A. 1987. Reactions of selected bean germ plasms to infection by *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. Plant Disease 71:990–993.
- Abeyasinghe, S. 2009. Use of nonpathogenic *Fusarium oxysporum* and *rhizobacteria* for suppression of *Fusarium* root and stem rot of *Cucumis sativus* caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis - cucumerinum*. Archives of Phytopathology and Plant Protection 42:73–82. doi:10.1080/03235400600940947.
- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. 5th ed. Elsevier Academic Press. Nueva York 922 p.
- Ajayi-Oyetunde, O. O., and Bradley, C. A. 2017. Identification and characterization of *Rhizoctonia* species associated with soybean seedling disease. Plant Disease 101:520–533. doi:10.1094/pdis-06-16-0810-re.
- Al-Fadhal, F. A., AL-Abedy A. N., and Alkhafije, D. A. 2019. Isolation and molecular identification of *Rhizoctonia solani* and *Fusarium solani* isolated from cucumber (*Cucumis sativus* L.) and their control feasibility by *Pseudomonas fluorescens* and *Bacillus subtilis*. Egyptian Journal of Biological Pest Control 29:47. <https://doi.org/10.1186/s41938-019-0145-5>.
- Apodaca-Sánchez, M. A. 2005. Enfermedades del tallo y de la raíz. En: Memoria de la Jornada de Tecnología de Producción de Tomatillo. Fundación Produce Sinaloa. Culiacán, México. 1–18 pp.
- Apodaca-Sánchez, M. A., Barreras-Soto, M. A., Cortez-Mondaca, E., y Quintero-Benítez, J. A. 2008. Enfermedades del tomate de cáscara en Sinaloa. INIFAP–CIRNO. Campo Experimental Valle del Fuerte. Folleto Técnico No. 31.
- Apodaca-Sánchez, M. A., Zavaleta-Mejía, E., García-Espinosa, R., Osada-Kawasoe, S., y Valenzuela-Ureta, J. G. 2002. Frecuencia de campos infestados con *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* en Sinaloa, México, y su control. Revista Mexicana de Fitopatología 20:1–7.
- Apodaca-Sánchez, M. A., Zavaleta-Mejía, E., Osada-Kawasoe, S., García-Espinosa, R., y Valenzuela-Ureta, J. G. 2004a. Hospedantes asintomáticos de *Fusarium oxysporum* Schlechtend. f. sp. *radicis-lycopersici* W.R. Jarvis y Shoemaker en Sinaloa, México en Sinaloa. Revista Mexicana de Fitopatología 22:7–13.
- Apodaca-Sánchez, M. A., Zavaleta-Mejía, E., Osada-Kawasoe, S., García-Espinosa, R., y Valenzuela-Ureta, J. G. 2004b. Pudrición de la corona del chile (*Capsicum annum* L.) en Sinaloa, México. Revista Mexicana de Fitopatología. 22:22–29.
- Ayala-Armenta, Q. A., Tovar-Pedraza, J. M., Apodaca-Sánchez, M. A., Correia, K. C., Saucedo-Acosta, C. P., Camacho-Tapia, M., and Beltrán-Peña, H. 2020. Phylogeny and pathogenicity of soilborne fungi associated with wilt disease

- complex of tomatillo (*Physalis ixocarpa*) in northern Sinaloa, Mexico. *European Journal of Plant Pathology* 157:733–749. Doi:10.1007/s10658-020-02030-9.
- Baayen, R., van den Boogert, P., and Bonants, P. 2000. *Fusarium redolens* f. sp. *asparagi*, causal agent of asparagus root rot, crown rot and spear rot. *European Journal of Plant Pathology* 106:907–912. <https://doi.org/10.1023/A:1008766707266>.
- Blancard, D., Lecoq, H., y Pitrat, M. 1996. Enfermedades de las Cucurbitáceas (Observar, Identificar, Luchar). Ediciones Mundi–Prensa. Madrid. 301 p.
- Bolkan, H.A., and Ribeiro, W.R.C. 1985. Anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* isolates from Brazil. *Plant Disease* 69:599–601.
- Carling, D. E., and Sommer, D.R. 1992. *Rhizoctonia*. In: L. L. Soingleton, J. D. Mihail, and C. M. Rush (eds). *Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi*. APS Press. St. Paul, Minnesota. pp: 157–165.
- Carling, D. E., Baird, R. E., Gitaitis, R. D., Brainard, K. A., and Kuninaga, S. 2002. Characterization of AG-13, a newly reported anastomosis group of *Rhizoctonia solani*. *Phytopathology* 92:893-899.
- Çebi-Kiliçoğlu, M., and Özkoç, I. 2010. Molecular characterization of *Rhizoctonia solani* AG4 using PCR-RFLP of the rDNA-ITS region. *Turkish Journal Biology* 34:261–269. doi:10.3906/biy-0812-14.
- Chehri, K., Salleh, B., Yli-Mattila, T., Reddy, K. R. N., and Abbasi, S. 2011. Molecular characterization of pathogenic *Fusarium* species in cucurbit plants from Kermanshah province, Iran. *Saudi Journal of Biological Sciences* 18:341–351. doi:10.1016/j.sjbs.2011.01.007.
- Cochran, K. A., Tolbert, A.C., and Spurlock, T. N. 2018. First report of *Rhizoctonia solani* AG4 causing stem necrosis in Sesame in Southwest Texas. *Plant Disease* 102:2039–2039 <https://doi.org/10.1094/PDIS-02-18-0350-PDN>.
- Conover, W., Johnson, M. E., and Johnson, M. 1981. A comparative study of tests for homogeneity of variances, with applications to the outer continental shelf bidding data. *Technometrics* 23:351–361.
- Consejo para el Desarrollo Económico de Sinaloa (CODESIN) 2018. Consultado 09/2020. Agricultura en Sinaloa. <https://sinaloaennumeros.codesin.mx/wp-content/uploads/2019/07/Brief-Agricultura-en-Sinaloa-2018.pdf>.
- Correll, J. C., Puhalla, J. E., and Schneider, R. W. 1986. Identification of *Fusarium oxysporum* f. sp. *apii* on the basis of colony size, virulence, and vegetative compatibility. *Phytopathology* 76:396–400.
- Durak, E. D., and Ok, F. 2019. Determination of anastomosis groups and pathogenicity of *Rhizoctonia solani* Kühn isolates from tomato (*Solanum lycopersicum*) in Lake

- Van Basin, Turkey. Journal of the Institute of Science and Technology 9:1908–1915.
- Edel-Hermann, V., and Lecomte, C. 2019. Current status of *Fusarium oxysporum* formae speciales and races. Phytopathology 109:512–530. <https://doi.org/10.1094/PHYTO-08-18-0320-RVW>
- Espinoza-Ahumada, C., Gallegos-Morales, G., Ochoa-Fuentes, Y., Hernández-Castillo, F. D., Méndez-Aguilar, R., y Rodríguez-Guerra, R. 2019. Antagonistas microbianos para biocontrol de la marchitez y su efecto promotor en el rendimiento de chile serrano. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 23:187–197.
- Fernández-Herrera, E., Guerrero Ruiz, J. C., Rueda Puente, E. O., y Acosta Ramos, M. 2013a. Patógenos y síntomas asociados a la marchitez del tomate (*Solanum lycopersicum* L.) en Texcoco México. Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud 15:43–50.
- Ferniah, R. S., Daryono, B. S., Kasiamdari, R. S., and Priyatmojo, A. 2014. Characterization y pathogenicity of as the causal agent *Fusarium oxysporum* of *Fusarium* wilt in chili (L.). Microbiology Indonesia 8:121–126.
- Flores-Sánchez, J. L. 2009. Respuesta de 13 genotipos de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) a virosis y marchitamiento fungoso en Sinaloa, México. Tesis de Licenciatura. Escuela Superior de Agricultura del Valle del Fuerte. Universidad Autónoma de Sinaloa. 79 pp.
- Gilchrist-Saavedra, L. G., Fuentes-Dávila, C., Martínez-Cano, R. M., López-Atilano, E., Duvellier, R. P., Singh, M., Henry E. I., y García, A. 2005. Guía práctica para la identificación de algunas enfermedades de trigo y cebada. Segunda edición. México, D.F. CIMMYT 68 pp.
- Gómez-Camacho, R., Rodríguez-Mendoza, M. N., Cárdenas-Soriano, E., Sandoval-Villa, M., y Colinas de León, M. T. 2006. Fertilización foliar con silicio como alternativa contra la marchitez causada por *Fusarium oxysporum* (Schlecht.) en tomate de cáscara. Revista Chapingo Serie Horticultura 12:69–75.
- González-Hernández, D. 2002. Estado actual de la taxonomía de *Rhizoctonia solani* Kühn. Revista Mexicana de Fitopatología 20:200–205.
- González-Pérez, E., Yáñez-Morales M, J., Santiago-Santiago, V., y Montero-Pineda, A. 2004. Biodiversidad fungosa en la marchitez del chile y algunos factores involucrados, en Tlacotepec de José Manzo, El Verde, Puebla. Agrociencia 38: 653–661.
- Guigón-López, C. 2019. Differential development of wilt and stem rot diseases in grafted bell pepper (*Capsicum annuum* L.). European Journal of Plant Pathology 154:347–357.

- Gutiérrez, B., González, M. S., y Salih, L. A. 2006. Caracterización de aislamientos de *Rhizoctonia Solani* Kühn que inducen pudriciones radicales en cultivares de caraota (*Phaseolus vulgaris* L.). *Bioagro* 18:063–072.
- Hernández-Castillo, F. D., Lira-Saldivar, R. H., Gallegos-Morales, G., Hernández-Suárez, M., y Solis-Gaona, S. 2014. Biocontrol de la marchitez del chile con tres especies de *Bacillus* y su efecto en el crecimiento y rendimiento. *Revista Internacional de Botánica Experimental* 83:49–55.
- Hwangbo, H., Kim, K., and Choi, H. 2016. Effects of biocontrol agents on suppression of damping-off in *Cucumis sativus* L. caused by *Rhizoctonia solani*. *Horticulture, Environment, and Biotechnology* 57:191–196. doi:10.1007/s13580-016-0163-0.
- Jiménez-Galindo, J. C., Valadez-Moctezuma, E., y Marbán-Mendoza, N. 2010. Evaluación y caracterización de *Phaseolus* spp. como fuente de resistencia a *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* (Fop). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 16:99–105.
- JLSVVF, 2008. Junta Local de Sanidad Vegetal del Valle del Fuerte. Detección de daños por *Fusarium* en maíz. Folleto de divulgación. SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Los Mochis, Sinaloa, México. 6 pp.
- Kanetis, L., Tsimouris, D., and Christoforou, M. 2016. Characterization of *Rhizoctonia solani* associated with black scurf in Cyprus. *Plant Disease* 100:1591–1598. doi:10.1094/pdis-10-15-1238-re.
- Kelaniyang, D. B., Salgadoe, S., Jayasekera, S. J. B. A., and Gunarathna Banda, R. M. 2011. Wilting of bell pepper (*Capsicum annuum* L.) causal organism isolation and a successful control approach. *Asian Journal of Plant Pathology* 5:155–162. doi: 10.3923/ajppaj.2011.155.162.
- Kruskal, W. H., and Wallis, W. A. 1952. Use of ranks on one-criterion variance analysis. *Journal of the American Statistical Association* 47:583–621.
- Kuramae, E. E., Buzeto, A. L., Ciampi, M. B., and Souza, N. L. 2003. Identification of *Rhizoctonia solani* AG 1-IB in lettuce, AG 4 HG-I in tomato and melon, and AG 4 HG-III in broccoli and spinach, in Brazil. *European Journal of Plant Pathology* 109:391–395. doi:10.1023/a:1023591520981.
- Leyva-Madriral, K. Y., Larralde-Corona, C. P., Apodaca-Sánchez, M. A., Quiroz-Figueroa, F. R., Mexia-Bolaños, P. A., Portillo-Valenzuela, S., Ordaz-Ochoa J., y Maldonado-Mendoza, I. E. 2014. *Fusarium* species from the *Fusarium fujikuroi* species complex involved in mixed infections of maize in northern Sinaloa, Mexico. *Journal of Phytopathology* 163:486–497. doi:10.1111/jph.12346.
- López-Dávila, E., Calero-Hurtado, A., Gómez-León, Y., Gil-Unday, Z., Henderson, D., y Jiménez, J. 2017. Efecto agronómico del biosólido en cultivo de tomate

(*Solanum lycopersicum*): control biológico de *Rhizoctonia solani*. Cultivos Tropicales 38:13–23.

- López-Valenzuela, B. E., Armenta-Bojórquez, A. D., Apodaca-Sánchez, M. A., Ruelas-Islas, J. del R., Palacios-Mondaca, C. A., y Valenzuela-Escoboza, F. A. 2014. Reducción de la fertilización sintética con composta y optimización del riego sobre la pudrición del tallo (*Fusarium* spp.) del maíz. Scientia Agropecuaria 5:121–133.
- Ma, L. J. 2014. Horizontal chromosome transfer and rational strategies to manage *Fusarium* vascular wilt diseases. Molecular Plant Pathology 15:763–766. doi:10.1111/mpp.12171.
- Madhavi, M., Narayan, R. P., Ranga, R. R., and Sudarshan, M. R. 2012. Evaluation of maize genotypes against banded leaf and sheath blight disease incited by *Rhizoctonia solani* f. sp. *sasakii* (Kühn) Exner. Journal Research Angraú 40:20–23.
- Marlatt, M. L., Correll, J. C., Kaufmann, P., and Cooper, P. E. 1996. Two genetically distinct populations of *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* race 3 in the United States. Plant Disease 80:1336–1342.
- Meinhardt, L. W., Wulff, N. A., Bellato, C. M., and Tsai, S. M. 2002. Genetic analyses of *Rhizoctonia solani* isolates from *Phaseolus vulgaris* grown in the Atlantic rainforest region of São Paulo, Brazil. Fitopatologia Brasileira 27:259–267.
- Miller, N. L., and Ocamb, C. M. 2009. Relationships between yield and crown disease of sweet corn grown in the Willamette Valley of Oregon. Online. Plant Health Progress doi:10.1094/PHP-2009-0831-01-RS.
- Mirmajlessi, S. M., N. Safaie, H. A. Mostafavi, S. M. Mansouripour., and Mahmoudy, S. B. 2012. Genetic diversity among crown and root isolates of *Rhizoctonia solani* isolated from cucurbits using PCR-based techniques. African Journal of Agricultural Research 7:583–590.
- Montero-Tavera, V., Guerrero-Aguilar, B. Z., Anaya, L. J. L., Martínez-Martínez, T. O., Guevara-Olvera, L., y González-Chavira, M. M. 2013. Diversidad genética de aislados de *Rhizoctonia solani* (Kuhn) de Chile en México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 4:1043–1054.
- Montiel-González, L., González-Flores, F., Sánchez-García, B. M., Guzmán-Rivera, S., Gámez-Vásquez, P., Acosta-Gallegos, J. A., Rodríguez-Guerra R., Simpson-Williamson, J., Cabral-Enciso, M., y Mendoza-Elos, M. 2004. Especies de *Fusarium* presentes en raíces de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) con daños de pudrición, en cinco estados del centro de México. Revista de Mexicana de Fitopatología 23:1–7.

- Moreno, A., Alferez, A., Aviles, M., Dianeze, F., Blanco, R., Santos, M., and Tello-Marquina, J. C. 2001. First report of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radiciscucumerinum* on cucumber in Spain. *Plant Disease* 85:1206.
- Muyolo, N. G., Lipps, P. E., and Schmitthenner, A. F. 1993. Anastomosis grouping and variation in virulence among isolates of *Rhizoctonia solani* associated with dry bean and soybean in Ohio and Zaire. *Phytopathology* 83:438–444.
- Navarrete-Maya, R., Trejo-Albarrán, E., Navarrete-Maya, J., Prudencio-Sains, J. M., y Acosta-Gallegos, J. A. 2009. Reacción de genotipos de frijol a *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* bajo condiciones de campo e invernadero. *Agricultura Técnica en México* 35:455–466.
- Nerey, Y., Pannecoucque, J., Hernandez, H. P., Diaz, M., Espinosa, R., De Vos, S., Van Beneden, S., Herrera, L., and Höfte, M. 2010. *Rhizoctonia* spp. causing root and hypocotyl rot in *Phaseolus vulgaris* in Cuba. *Journal of Phytopathology* 158:236–243. doi:10.1111/j.1439-0434.2009.01609.x.
- Ortiz-Bustos, C. M., García-Carneros, A. B., y Molinero-Ruiz, L. 2015. La marchitez tardía del maíz (*Zea mays* L.) causada por *Cephalosporium maydis* en la Península Ibérica y otros hongos asociados. *Summa Phytopathologica* 41:107–114.
- Pereira, A. C., Cruz, M. F. A., Paula Júnior, T. J., Rodrigues, F. A., Carneiro, J. E. S., Vieira, R. F., and Carneiro, P. C. S. 2013. Infection process of *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli* on resistant, intermediate and susceptible bean cultivars. *Tropical Plant Pathology* 38:323–328.
- Pérez-Acevedo, C. E., Carrillo-Rodríguez, J. C., Chávez-Servia, J. L., Perales-Segovia, C., Enríquez del Valle, R., y Villegas-Aparicio, Y. 2017. Diagnóstico de síntomas y patógenos asociados con marchitez del chile en valles centrales de Oaxaca. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8:281–293.
- Pérez-Hernández, A., Serrano-Alonso, Y., Aguilar-Pérez, M. I., Gómez-Uroz, R., and Gómez-Vázquez, J. 2014. Damping-Off and root rot of pepper caused by *Fusarium oxysporum* in Almería Province, Spain. *Plant Disease* 98:1159–1160. doi:10.1094/pdis-02-14-0212-pdn.
- Rodríguez-Amézquita, J. E., Velandia-Mosalve, J., y Viteri-Rosero, S. E. 2010. Evaluación de microorganismos aislados de gallinaza por su potencial para el biocontrol de *Fusarium* (*F. oxysporum*) en plántulas de uchuva (*Physalis peruviana*). *Revista Facultad Nacional Agronomía Medellín* 63:5499–5509.
- Santander, C., Montealegre, J. R., y Herrera, R. 2003. Control biológico de *Rhizoctonia solani* en tomate en suelos previamente sometidos a solarización y bromuro de metilo. *Ciencia e Investigación Agraria* 30:107–112.

- Shapiro, S. S., and Wilk, M. B. 1965. Analysis of variance test for normality (complete samples). *Biometrika* 52:591–611.
- Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP). 2020. Anuario estadístico de la producción agrícola. Consultado 03/2020. <https://www.gob.mx/siap>.
- Sneh, B., Burpee, L., and Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 133 p.
- Taheri, P. 2011. Classification and genetic diversity of *Rhizoctonia solani* populations causing tomato damping-off in Iran. *Acta Horticulturae* 914:131–134. doi:10.17660/actahortic.2011.914.23.
- Vakalounakis, D. J., Doulis, A. G., and Klironomo, E. 2005. Characterization of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-cucumerinum* attacking melon under natural conditions in Greece. *Plant Pathology* 54:339–346. Doi:10.1111/j.1365-3059.2005.01182.x.
- Van Dam, P. 2017. Host specificity in *Fusarium oxysporum*. Ph. D. thesis. University of Amsterdam. Amsterdam, The Netherlands. 188 pp.
- Vásquez-López, A., Tlapal-Bolaños, B., Yáñez-Morales, M. de Jesús., Pérez-Pacheco, R., y Quintos-Escalante, M. 2009. Etiología de la marchitez del ‘chile de agua’ (*Capsicum annuum* L.) en Oaxaca, México. *Revista Fitotecnia Mexicana* 32:127 – 134.
- Velarde-Félix, S., Valdez-Rubio, N., Zamora-Galván, F., López-Molina, R., Melgoza-Villagómez, C., y Garzón-Tiznado, J. 2018. Identificación molecular de *Fusarium* spp. aislados de maíz en Sinaloa, México. *Revista Mexicana Ciencias Agrícolas* 9:1675–1689.
- Velásquez-Valle, R., Medina-Aguilar, M. M., y Schwartz, H. F. 2002. Respuesta de seis genotipos de frijol (*Phaseolus vulgaris* L.) a tres aislamientos de *Fusarium oxysporum* Schlecht. f. sp. *phaseoli* Kendrick and Snyder. *Revista Mexicana de Fitopatología* 20:146–151.
- Velásquez-Valle, R., y Medina-Aguilar, M. M. 2003. Patogenicidad de aislamientos de *Rhizoctonia* spp. sobre plántulas de chile (*Capsicum annuum* L.) y frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 21:79–82.
- Xue, R., Wu, J., Zhu, Z., Wang, L., Wang, X., Wang, S., and Blair, M. W. 2015. Differentially expressed genes in resistant and susceptible common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) genotypes in response to *Fusarium oxysporum* f. sp. *phaseoli*. *PLOS ONE* 10(6): e0127698. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127698>.

CAPÍTULO 5. CONCLUSIONES GENERALES

En el presente estudio realizado en el norte de Sinaloa, se obtuvieron aislados fúngicos asociados a plantas con síntomas de marchitez, en 19 huertas de tomatillo. Después de comprobar la patogenicidad de 37 aislados patogénicos, estos se sometieron a caracterización morfológica, molecular y análisis filogenético. Las especies *Fusarium nygamai*, *F. oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Neocosmospora falciformis* y *Rhizoctonia solani* se identificaron como los agentes causales de la marchitez del tomatillo.

En un ensayo de invernadero, en el que se probó la respuesta de siete variedades comerciales de tomatillo, contra aislados patogénicos obtenidos de tomatillo, los genotipos Dalí, Gabriela, Puebla, San Miguel, Tamayo y Tecozautla, fueron susceptibles a *F. oxysporum*, *M. phaseolina* y *R. solani*, agentes causales de dicha enfermedad.

En otro ensayo de invernadero, las especies / cultivares, chile Camino Real, frijol Azufrado Higuera, pepino Paraíso, tomate Cuauhtémoc y tomatillo Gran Esmeralda, fueron susceptibles a aislados patogénicos obtenidos de tomatillo, de las especies *F. oxysporum* y *R. solani*; mientras que el maíz híbrido Armadillo fue resistente.