

## **CONTROL QUÍMICO *IN VITRO* DE LOS PATÓGENOS RELACIONADOS CON EL SÍNDROME DE ROÑA EN AGUACATE EN DIFERENTES ZONAS DE MICHOACÁN, MEXICO**

Martínez-Hernández, María del Sagrario; Morales-García, José Luciano; Pedraza-Santos, Martha Elena; Morales-Montelongo, Karina Lizeth

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, Facultad de Agrobiología "Presidente Juárez".  
Paseo Lázaro Cárdenas y Berlín S/N, Colonia Viveros, C.P. 60170, Uruapan, Michoacán. Correo-e:  
j.luciano58@hotmail.com.

### **Resumen**

El cultivo del aguacate se ve afectado por diversas enfermedades que ocasionan pérdidas económicas al afectar la calidad del fruto, entre las cuales destaca la roña. En los frutos se observan lesiones de color café, de forma irregular y de aspecto corchoso, causadas por varios hongos fitopatógenos difíciles de controlar. El presente estudio se estableció con los objetivos siguientes: aislar e identificar los hongos relacionados con el síndrome de roña en aguacate, así como evaluar el control químico *in vitro* e identificar el mejor producto. Se colectaron frutos de aguacate con síntomas de roña en cuatro localidades del estado de Michoacán: Nuevo Parangaricutiro, Tancitaro, Uruapan y Ario de Rosales. Se realizaron aislamientos en medio de cultivo PDA. Los hongos aislados fueron *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Nigrospora* sp. y *Curvularia* sp. Para el control se utilizaron ocho fungicidas (azoxystrobin+metalaxil, azoxystrobin, azoxystrobin+fludioxonil, pyraclostrobin, tiabendazol, folpet, boscalid+pyraclostrobin e hidróxido cúprico) a la concentración media recomendada por el fabricante. Se utilizó un experimento completamente al azar con ocho tratamientos, tres repeticiones y un testigo por cada patógeno. Las mediciones del crecimiento del micelio se registraron diariamente. Se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza, y comparación de medias de Tukey con probabilidad de error de 5%. Azoxystrobin+fludioxonil fue estadísticamente el que ejerció el mejor control sobre todos los hongos antes citados.

**Palabras clave:** Control *in vitro*, patógenos, *Colletotrichum* sp.

## ***IN VITRO* CHEMICAL CONTROL OF PATHOGENS RELATED TO SCAB SYNDROME IN AVOCADO IN DIFFERENT AREAS OF MICHOACAN, MEXICO**

### **Abstract**

Avocado cultivation is being affected by several diseases that cause economic loss of the low quality, scabies being very important. Brown wounds are observed on the fruits, irregular cork looking, caused by different phytopathogenic fungus hard to control. This investigation was made with the following objectives: to isolate and identify the related fungus with the avocado scabies syndrome, also evaluate the chemical control *in vitro* and find the best product. The avocado fruits were collected with scabies symptoms in four locations in the state of Michoacán: Nuevo Parangaricutiro, Tancitaro, Uruapan y Ario de Rosales. Isolations were made in (PDA) medium, the isolated fungus were *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Nigrospora* sp. and *Curvularia* sp. To control eight fungicides were used which are (azoxystrobin+metalaxil, azoxystrobin, azoxystrobin+fludioxonil, pyraclostrobin, tiabendazol, folpet, boscalid+pyraclostrobin and cupric hydroxide) to the recommended medium concentration of the manufacturer. A completely randomized experiment was used with eight treatments, three repetitions and one control for each pathogen. The measures of micelial growth were registered daily. They were statistically analyzed with a variance test and a Tukey means

comparison test at 5% error. Azoxystrobin+fludioxonil were the best control overall the fungus mentioned before.

**Additional keywords:** *In vitro* control, pathogenic, *Colletotrichum* sp.

### Introducción

México aporta 3 de cada 10t de aguacate que se producen en el mundo; lo cual lo coloca como el país exportador del fruto número uno; seguido de Indonesia, quien exporta 294 mil 200t; en tanto nuestro país supera el millón 316 mil 104t anuales (Sagarpa, 2015).

Existen diversas limitantes que impiden la exportación del aguacate, provocando una baja calidad de la fruta, entre éstas se encuentran principalmente las enfermedades causadas por hongos fitopatógenos. Las enfermedades están entre los factores que más limitan la productividad del árbol. La importancia de un organismo fitopatógeno varía dependiendo del país, región productora y el tipo de mercado (nacional o internacional) y puede estar dada por la distribución y severidad de daños que los patógenos ocasionan o por su importancia cuarentenaria para un país importador (Teliz y Mora, 2007). En general, el establecimiento y diseminación de enfermedades en un huerto de aguacate obedece a un mal manejo del cultivo (ICA, 2012).

Siendo la roña una de las principales enfermedades que limitan la exportación de aguacate (Teliz, 2000). Esta se presenta en México, E.U.A., Argentina, Brasil, Haití, Perú, Cuba, Jamaica, Puerto Rico y África. En México ha sido registrada en los estados de Michoacán, Guanajuato, Puebla, Querétaro, Morelos, Nayarit, Tamaulipas y Jalisco (Coria, 2009).

Esta enfermedad tiene importancia por su carácter endémico, lo que implica que cada año esté presente en las huertas. Cuando no se hace un control, la enfermedad se difunde rápidamente estimándose en algunas huertas incidencias del 30 al 40% y en casos extremos hasta más del 70%. Ataca a todas las variedades establecidas en México, siendo más susceptible la variedad Fuerte, sin embargo, en los últimos años la variedad Hass ha sido severamente atacada. Su daño ocasiona que el precio de venta en la fruta cosechada se reduzca hasta en un 50%. Para el control fitosanitario se destina del 20 al 50% del gasto total en el cultivo (Vidales, 1996).

Dado lo anterior se plantearon los siguientes objetivos: a) Aislar e identificar los hongos asociados al síndrome de roña en aguacate. b) Evaluar control químico *in vitro* de los hongos relacionados con el síndrome de roña en aguacate. c) Identificar el mejor producto químico para el control de cada uno de los hongos.

## **Materiales y Métodos**

Se colectaron frutos de aguacate cv. Hass de forma aleatoria con diferentes grados de desarrollo de la enfermedad en distintas huertas de las zonas productoras de aguacate en Michoacán (Nuevo San Juan Parangaricutiro, Tancítaro, Uruapan y Ario de Rosales). Las muestras colectadas se colocaron en bolsas plásticas con sus respectivas etiquetas y se trasladaron al laboratorio de Fitopatología para su análisis en la Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo.

Para poder aislar los patógenos se requirió preparar un medio especial, por lo cual en un matraz con 1000 mL de agua destilada estéril se disolvieron 39 g de Papa Dextrosa Agar (PDA) se agito perfectamente y se tapó, posteriormente se calentó en los mecheros hasta su completa dilución. Se colocó el matraz dentro de la autoclave 15 lb plg<sup>2</sup> durante 15 minutos. Después se procedió al vaciado de medio de cultivo en cajas Petri utilizando una campana de flujo laminar, la cual se limpió utilizando una sanita humedecida con alcohol. Se puso primero con luz ultravioleta durante 30 minutos y después se encendió la ventilación y la luz blanca. Esto con el fin de evitar la entrada de cualquier agente patógeno. Se agregaron aproximadamente 10 mL de medio de cultivo por cada caja Petri. Se dejó unos minutos hasta su solidificación y después se guardaron para su uso posterior.

Se lavaron los frutos con agua y jabón. Bajo condiciones estériles con ayuda de un bisturí flameado, se cortaron trozos de aproximadamente 1 mm del fruto dañado, procurando tomar de la parte enferma y la parte sana. Se colocó en una cápsula de porcelana para su desinfección con hipoclorito de sodio al 3% durante 30 segundos, posteriormente se enjuagó con agua destilada estéril 3 veces para eliminar la presencia de cloro en los tejidos y a continuación se colocaron en papel estéril (sanitas) para eliminar el exceso de agua. Finalmente se procedió a la siembra, para lo cual se utilizó la campana de flujo laminar para evitar cualquier contaminación. Se colocaron 5 muestras de tejido en cada caja Petri con el medio de cultivo, una en cada punto cardinal y otra en medio y se sellaron con la película plástica (“kleen pack”). Se etiquetó cada caja con el nombre de cada aislamiento. Una vez terminada la siembra se colocó en una incubadora a 26°C

Para identificar el agente causal se tomaron en cuenta sus características: forma del micelio, así como el color. Se hicieron preparaciones semifijas de micelio procedentes de cepas puras para su observación al microscopio colocando una muestra de micelio extraído bajo condiciones asépticas en el centro del porta objetos previamente desinfectado, agregándole una gota de lactofenol y por ultimo poniendo el cubre objeto. Finalmente se colocó al microscopio para observar las características del hongo y proceder a su identificación, todo

esto en base al libro de Barnett y Hunter (1987). Una vez identificadas las muestras se tomó un trozo en forma de disco con un sacabocados previamente desinfectado de aproximadamente 1 cm de diámetro del cultivo puro y se colocó al centro de una nueva caja Petri con medio de cultivo que después se selló con "kleen pack". Esto se realizó para cada uno de los hongos encontrados con diferentes características. Se revisó diariamente hasta llegar al completo desarrollo de los hongos.

Se utilizaron ocho tratamientos químicos: azoxystrobin+metalaxil, azoxystrobin, azoxystrobin+fludioxonil, pyraclostrobin, tiabendazol, folpet, boscalid+pyraclostrobin e hidróxido cúprico. Con tres repeticiones y tres testigos por cada hongo. Para estos últimos solo se utilizó agua destilada estéril. Usando las concentraciones recomendadas por el fabricante del producto. Se pusieron 10 mL de cada uno de los productos ya preparados en cajas Petri de vidrio previamente desinfectado. Se sumergieron pequeños pedazos circulares de papel filtro los cuales se dejaron en las cajas Petri de vidrio aproximadamente 3 minutos; Se dividieron las cajas Petri en cuatro cuadrantes con ayuda de una regla y se colocaron los pedazos de papel filtro impregnados con el producto en cada punto cardinal de forma equidistante. Se utilizó tres cajas como testigo por cada hongo, las cuales también contenían los pedazos de papel filtro, pero solo impregnadas con agua destilada estéril. Se sellaron las cajas, se etiquetaron de acuerdo a cada hongo y tratamiento y se colocaron en la cámara de incubación a 26°C. Se revisaron diariamente y cada 24 h se empezó a tomar las medidas del crecimiento del hongo con ayuda de una regla graduada. Una vez que el hongo llenó las cajas testigo o que el hongo con los productos tocó el papel filtro se dejó de medir todas las cajas correspondientes a ese hongo, y así para cada uno de los demás (Figura. 1). Las mediciones del crecimiento del micelio se registraron diariamente y se analizaron estadísticamente mediante un análisis de varianza, y comparación de medias de Tukey con probabilidad de error de 5%.

## **Resultados y Discusión**

Los hongos aislados fueron *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Nigrospora* sp. y *Curvularia* sp.

### ***Colletotrichum* sp.**

La colonia vista desde el anverso es de coloración blanca a grisácea con micelio afelpado. Por el reverso la coloración va de verde olivo con un halo blanco en la orilla. Los conidios son algunos alargados y otros cortos de forma cilíndrica.

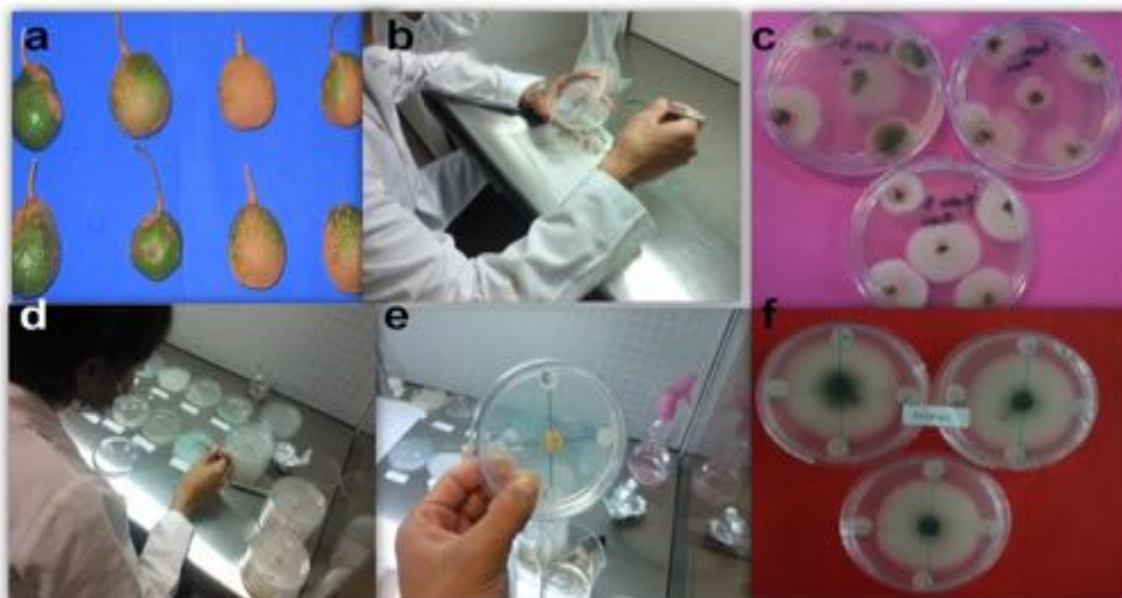


Figura 1. Proceso: a) colecta, b) siembra, c) Purificación, d) Tratamientos, e) Ensayos *in vitro*, f) Testigos.

### ***Alternaria sp.***

Las colonias son de rápido crecimiento, vista desde el anverso es algodonosa y de color gris con puntos blancos. Al reverso se puede observar un color más oscuro formando al final un halo de coloración verde olivo. Los conidios se caracterizan principalmente porque son en forma de maso ovoide con septas longitudinales y transversales, las cuales pueden estar solitarias o en cadena. El micelio es septado.

### ***Pestalotiopsis sp.***

La colonia vista por el anverso es de color blanco y algodonosa con anillos concéntricos, la cual cuando ha llenado la caja comienza a presentar unos pequeños puntos negros sobre el medio, de aspecto brillante y de consistencia dura que corresponden a los picnidios del hongo. En el reverso se puede apreciar un color salmón y blanco con anillos concéntricos. Los conidios son cortas, presentan generalmente de tres a cuatro septas transversales cada una con tres apéndices hialinos en uno de sus ápices u otro en el opuesto.

### ***Nigrospora sp.***

La colonia vista desde el anverso es de color blanco al inicio, con el tiempo se va tornando grisácea y oscura con puntos blancos y crece de forma irregular. En el reverso la coloración va de un color blanco a salmón. Los conidios son solitarias, completamente negras y esféricas.

### ***Curvularia* sp.**

Se puede observar en los frutos de donde se aisló este hongo, que los síntomas de roña se aprecian aproximadamente en un 90% cubriendo el fruto. Las colonias son algodonosas, de color blanco a gris en el anverso. En el reverso se presentan con una coloración oscura formando un halo blanco en la orilla. Los conidios son curvados en su mayoría con tres septos transversales.

Lo anterior coincide con Robles et al. (2015) quienes al realizar aislamientos de frutos con síntomas de roña encontraron los siguientes géneros con mayor frecuencia: *Alternaria*, *Colletotrichum*, *Nigrospora*, *Epicocum*, *Phomopsis*, *Botriosphaeria*, *Pestalotiopsis*, *Glomerella*. Lo anterior también coincide con Esquivel (2004), quien menciona a *Alternaria* sp. causando pecas en fruto y *Pestalotiopsis* sp. causando manchas corchosas también en el fruto, pero en este caso en cultivo de guayaba (Figura 2).

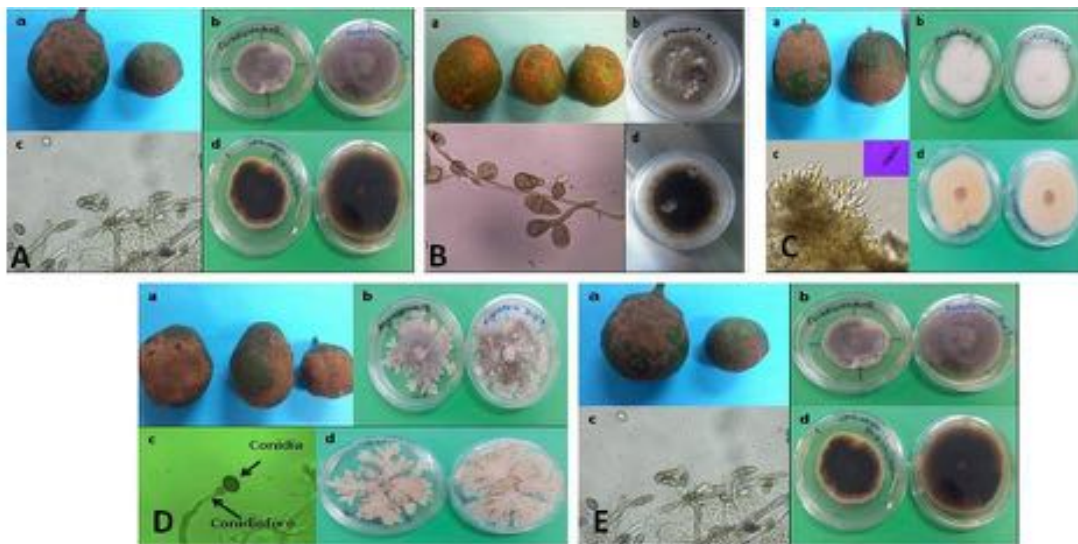


Figura 2. A) Síntomas de roña en fruto. b) Colonia de *Colletotrichum* sp. vista desde el anverso. c) Conidio unido al conidióforo y conidios maduros. d) vista desde el reverso. B) a) Síntomas de roña. b) Colonia de *Alternaria* sp. vista desde el anverso. d) Conidios típicos de *Alternaria* sp. d) vista desde el reverso. C) a) Síntomas de roña. b) colonia vista desde el anverso c) conidios típicos de *Pestalotiopsis* sp. d) colonia vista desde el reverso. D) a) Síntomas de roña. b) Colonia de *Nigrospora* sp. vista desde el anverso. c) Conidio unida al conidióforo. d) Colonia vista desde el reverso. E) a) Síntomas de roña. b) Colonia de *Curvularia* sp. vista desde el anverso c) Conidio. d) Colonia vista desde el reverso.

Una vez realizados los bioensayos y haber obtenido los resultados, estos fueron sometidos a un análisis de varianza y los tratamientos que mostraron diferencias estadísticas entre ellos fueron sometidos a la separación de medias de Tukey ( $P < 0.05$ ) en SAS® (Cuadro 1).

Cuadro 1.  $P>F$  en los análisis de varianza de los bioensayos de ocho fungicidas para el control de los hongos encontrados asociados al síndrome de “roña” en aguacate ‘Hass’.

Hongos	Días evaluados donde $P>F$							
	1	2	3	4	5	6	7	8
<i>Colletotrichum</i> sp.	0.615	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*	0.000*		
<i>Alternaria</i> sp.	0.236	0.018*	0.011*	0.007**	0.004**	0.001**		
<i>Pestalotiopsis</i> sp.	0.001*	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**	0.000**		
<i>Nigrospora</i> sp.	0.000**	0.000**	0.000**					
<i>Curvularia</i> sp.	0.839	0.755	0.922	0.725	0.715	0.680	0.635	0.642

Azoxystrobin+fludioxonil fue estadísticamente el que ejerció el mejor control sobre todos los hongos antes citados. Tiabendazol también controló a *Colletotrichum* sp. y Pyraclostrobin a *Alternaria* sp. Para *Curvularia* sp. no hubo diferencia estadística entre tratamientos (Figura 3).

### Conclusiones

El síndrome de roña en aguacate es causado por la asociación de varios hongos fitopatógenos. Los patógenos asociados a síndrome de roña encontrados fueron *Colletotrichum* sp., *Alternaria* sp., *Pestalotiopsis* sp., *Nigrospora* sp. y *Curvularia* sp. *Sphaceloma perseae* no se encontró en las zonas de colecta asociado con síntomas de roña. Bankit Gold (Azoxistrobin + Fludioxonil) fue el producto que permitió mayor control sobre el crecimiento de *Pestalotiopsis* sp. y *Nigrospora* sp. Para *Colletotrichum* sp. Tecto 60 (Tiabendazol) y Bankit Gold (Azoxistrobin + Fludioxonil) fueron los productos que mostraron una mayor inhibición en el crecimiento del hongo. Headline (Pyraclostrobin), Folpan (Folpet), Blue Shield (Hidróxido cúprico), Bankit Gold (Azoxistrobin + Fludioxonil) y Cabrio (Boscalid + Pyraclostrobin) fueron los productos que mejor funcionaron sobre la inhibición del crecimiento de *Alternaria* sp. pero que tuvieron el mismo comportamiento entre ellos. De manera general se observa que el producto que tuvo una mayor eficacia en la inhibición de los hongos encontrados fue Bankit Gold (Azoxistrobin + Fludioxonil).

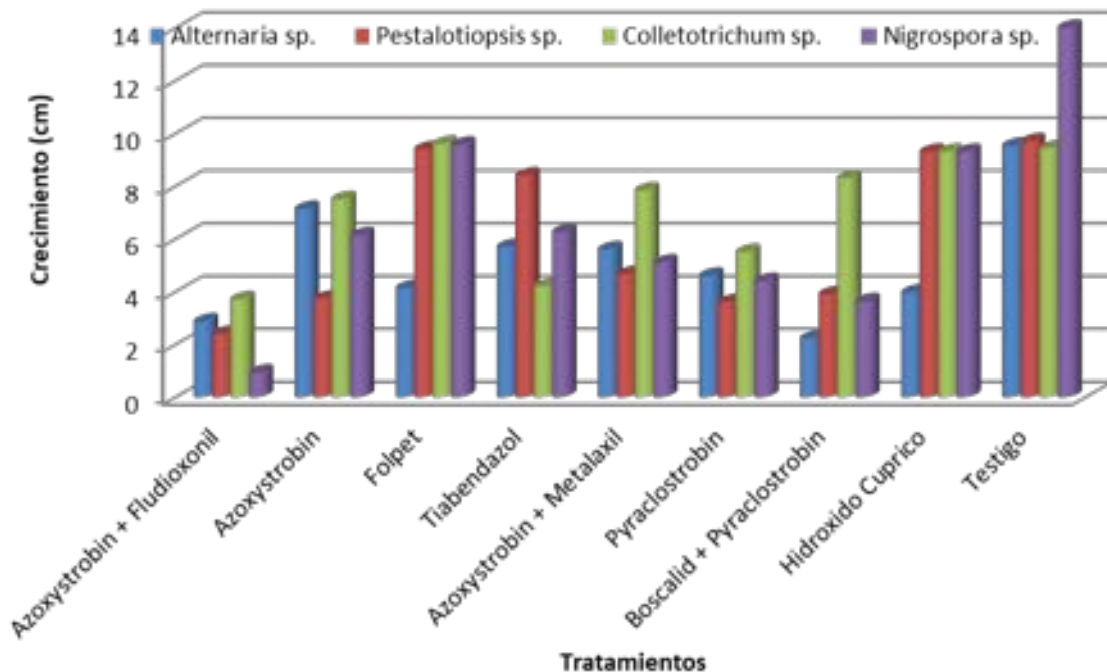


Figura 3. Efectividad de fungicidas sobre *Alternaria* sp., *Colletotrichum* sp., *Pestalotiopsis* sp y *Nigrospora* sp.

### Literatura Citada

- Barnett L. H., and B.B. Hunter. 1987. Illustrated genera of imperfect fungi. 4th Edition. Macmillan. 218 p.
- Coria A., V.M. 2009. Tecnología para la producción de aguacate en México. Libro Técnico Núm. 8. SAGARPA –INIFAP. 2da Edición y 1era. Reimpresión. Uruapan, Michoacán, México. pp. 125-126.
- Esquivel C., M. 2004. Etiología de las enfermedades de la guayaba (*Psidium guajava* L.) en la región de Uruapan, Michoacán. Tesis de Licenciatura. Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez” Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Uruapan, Michoacán, México. 41 p.
- Instituto Colombiano Agropecuario (ICA). 2012. Manejo Fitosanitario del cultivo de aguacate Hass. Línea agrícola. Bogotá, Colombia. 27 p.
- Robles Y., L., D. Téliz O., D. Nieto A.; D.C. Nava, y F.J. Marroquín P. 2015. Hongos asociados al síntoma de roña en frutos de aguacate en el estado de Michoacán. XVI Congreso Internacional y XLI Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Revista Mexicana de Fitopatología 32 (suplemento): S65.
- Téliz O., D. 2000. El aguacate y su manejo integrado. 1ª edición. Mundiprensa. D. F., México. p. 7.
- Téliz, D., y A. Mora. 2007. El aguacate y su manejo integrado. 2da edición. Editorial Mundiprensa, D.F., México. pp. 219 - 321.
- Sagarpa. 2015. Michoacán aporta el 89.9% de aguacate en el país [en línea]. 19 de marzo de 2015, boletín N0. 034. [fecha de consulta: 17 de junio de 2016]. Disponible en: <<http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/michoacan/boletines/2015/marzo/Documents/B0342015.PDF>>
- Vidales F., J. A., C.J. Anguiano, V.M. Coria A. ; y J.J. Alcantar R. 2005. Control de la roña en aguacate. INIFAP. Uruapan, Michoacán, México.