

## Control químico y biológico de la pudrición de frutos en calabaza pipiana causada por *Phytophthora capsici* y *Rhizoctoniasolani* en condiciones de campo

DÍAZ-NÁJERA, José Francisco\*†, VARGAS-HERNÁNDEZ, Mateo, AYVAR-SERNA, Sergio, ACOSTA-RAMOS, Marcelo

Universidad Autónoma Chapingo

Recibido 16 Marzo, 2015; Aceptado 24 Septiembre, 2015

### Resumen

El objetivo de este estudio fue evaluar ingredientes activos químicos y biológicos el control de *P.capsici* y *R. solani* en condiciones de campo. Se evaluaron diferentes fungicidas y los agentes de biocontrol *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* y *Streptomyces* spp., contra los hongos causantes de la pudrición de los frutos de calabaza en condiciones de campo en tres genotipos, y se realizó un análisis económico. Los ingredientes activos quintozeno, propamocarb + fosetyl-Al, y *Bacillus* spp. + *Streptomyces* spp. + *Trichoderma* spp., con los genotipos Apipilulco y Santa Teresa, en el sitio Chilapa, mostraron los resultados más sobresalientes en la mayoría de las variables estudiadas

**Manejo, fitopatógenos, calabaza pipiana.**

### Abstract

The objective of this study was active ingredients evaluate chemical and biological control *P.capsici* and *R.solani* under field conditions. Different fungicides and biocontrol agents were evaluated *Trichoderma* spp., *Bacillus subtilis* and *Streptomyces* spp., Against the fungi which cause rotting of the fruits of pumpkin under field conditions in three genotypes, and an economic analysis. The active ingredients quintozeno, propamocarb + fosetyl-Al, and *Bacillus* spp. + *Streptomyces* spp. + *Trichoderma* spp., With Apipilulco and Santa Teresa genotypes in Chilapa site, they showed the most outstanding results in most of the variables studied

**Management, plant pathogens, pipiana pumpkin.**

**Citación:** DÍAZ-NÁJERA, José Francisco, VARGAS-HERNÁNDEZ, Mateo, AYVAR-SERNA, Sergio, ACOSTA-RAMOS, Marcelo. Control químico y biológico de la pudrición de frutos en calabaza pipiana causada por *Phytophthora capsici* y *Rhizoctoniasolani* en condiciones de campo. Revista de Simulación y Laboratorio 2015, 2-4: 91-97

\*Correspondencia al Autor (Correo Electrónico: apigro1988@hotmail.com)

†Investigador contribuyendo como primer autor

## Introducción

En México, el cultivo de calabaza pipiana (*Cucurbitaargyrosperma* Huber) es importante debido que tiene diferentes usos, su principal valor económico se debe a sus semillas que se utilizan en la elaboración de mole verde, pipián, palanquetas, jamoncillo, dulce con oblea o simplemente saladas o fritas (Carrillo, 2009;).

En el sur de México en la zonas productoras del estado Guerrero las enfermedades de origen fungoso han sido un factor limitante para la producción de la calabaza ocasionando pérdidas significativas (Ayvar-Serna et al., 2007). Los hongos asociados a la pudrición de frutos han sido identificados morfológicamente solo a nivel género, faltando su identificación morfológica a nivel especie, molecular y pruebas de patogenicidad para confirmar la identidad de los hongos involucrados. Por otra parte no existe un programa de manejo que incluyan tácticas de control. Las enfermedades más importantes de origen fungoso en frutos de cucurbitáceas son las causadas por hongos de diferentes grupos transmitidos por el suelo, entre los que destacan oomycetes, deuteromicetes y basidiomicetes, que causan daños económicos importantes (Zitter et al., 2004).

Dentro del manejo de las enfermedades de origen fungoso en cucurbitáceas el control químico sigue siendo la principal forma de combatir a estos patógenos, aunque algunos ya presentan tolerancia a ciertos fungicidas (Blum y Gisi, 2012). En la actualidad existen fungicidas alternativos empleados en el control de patógenos habitantes del suelo, como el uso de microorganismos antagonistas y supresores de patógenos de origen fungoso, que involucran a *Trichodermaspp.*, *Bacillus subtilis* y *Streptomycespp.* (Živković et al., 2010).

Dichos agentes de control biológico deben ser incluidos en un plan de manejo de enfermedades debido a su versatilidad, adaptabilidad y facilidad de manejo, además de sus diferentes mecanismos de control, tales como micoparasitismo, antibiosis, competencia por espacio y nutrientes, y la inducción de resistencia (Mukherjee et al., 2013; Gomashe et al., 2014). Su espectro antagonista es amplio y puede afectar el crecimiento o suprimir varios patógenos transmitidos por el suelo (Farfour y Al-Saman, 2014). Sin embargo, no ha habido una investigación formal sobre control de hongos fitopatógenos asociados a la pudrición de frutos de calabaza pipiana, en el estado de Guerrero en el sur de México. Por lo anterior, el objetivo de este estudio fue evaluar ingredientes activos químicos y biológicos el control de *P. capsici* y *R. solani* en condiciones de campo

## Metodología

### Control químico y biológico en campo

El trabajo se realizó en dos localidades durante el ciclo de cultivo Primavera-Verano del 2013. El primer sitio correspondió al Campo experimental del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGro), localizado en el municipio de Cocula, al norte del estado de Guerrero, ubicado en las coordenadas 18° 19' LN y 99° 39' LO, a 640 m de altura. El clima es AW0; el segundo sitio fue Municipio de Chilapa de Álvarez, Gro., ubicado entre los 17° 17' 40'' y 17° 40' 55'' LN, y los 98° 53' 44'' y 99° 17' 11'' LO, a 1420 m de altitud. Presenta un clima cálido subhúmedo (García, 2005).

Se utilizaron tres genotipos de calabaza pipiana de uso común en la región de estudio (Apipilulco, Chilapa y Santa Teresa). Los tratamientos consistieron en aplicar diferentes productos químicos y biológicos recomendados para el control de hongos en el cultivo en estudio (Tabla 1).

Se realizaron dos aplicaciones, con una bomba aspersora de mochila de 15 L marca Swissmex, la primera a los 20 días después de la emergencia (dde) (inicio de la floración) y la segunda a los 35 dde, con un gasto de agua de 300 L ha<sup>-1</sup>. En cada una de las localidades se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas, con parcelas grandes arregladas como bloques completos al azar y parcelas chicas arregladas completamente al azar. Las parcelas grandes correspondieron a los genotipos y las parcelas chicas a los tipos de control (químico y/o biológico); para cada experimento se utilizaron cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por 24 plantas, y por las características del cultivo se consideró a toda la unidad experimental como parcela útil. Variables evaluadas. Las variables evaluadas fueron: Número de frutos tiernos sanos en 30 m<sup>2</sup> (NFTS); número de frutos tiernos dañados en 30 m<sup>2</sup> (con algún síntoma o nivel de daño, NFTD) número de frutos sanos cosechados en 30 m<sup>2</sup> (NFSC); número de frutos dañados cosechados en 30 m<sup>2</sup> (NFDC); y rendimiento de semilla (RS) en kg ha<sup>-1</sup>.

No.	Tratamiento	Ingrediente activo	Dosis L <sup>-1</sup>
1	Benomil	benomilo	1.25 g
2	Previcur®Energy	propamocarb + fosetyl-Al	6 mL
3	Pentaclor*600F	quintozeno	7.5 mL
4	Ridomil Gold® Bravo SC	metalaxil + clorotalonil	6 mL
5	PHC®Biopak-F®	<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.	3 g
6	Q 2000	yodo libre	5 mL L <sup>-1</sup>
7	PHC® Root Mate®	<i>Trichoderma virens</i> cepa G-41	3 g L <sup>-1</sup>
8	<i>Trichoderma</i> cepa CSAEGro	<i>Trichoderma asperellum</i>	1×10 <sup>8</sup> UFC mL <sup>-1</sup>
9	<i>Trichoderma</i> cepa CHILAPA	<i>Trichoderma asperellum</i>	1×10 <sup>8</sup> UF C mL <sup>-1</sup>
10	Testigo	Sin aplicación	--

**Tabla 1** Productos químicos y biológicos evaluados en el control de hongos fitopatógenos en dos localidades del Estado de Guerrero (Chilapa y CSAEGro), y en tres genotipos de calabaza pipiana (*C. argyrosperma*) (Apipilulco, Chilapa y Santa Teresa).

Análisis estadístico. Los datos obtenidos se sometieron a un análisis de varianza individual por localidad y a análisis combinados a través de las dos localidades; y pruebas de comparaciones múltiples de medias por el método de la Diferencia Mínima Significativa (LSD, p≤0.05) con el software StatisticalAnalysisSystem (SAS, 2013).

## Resultados

### Número de frutos tiernos sanos (NFTS)

Para NFTS en 30 m<sup>2</sup>, el análisis de varianza mostró diferencias significativas para sitios (P=0.0018) y para tratamientos (P<0.0001); en Chilapa las plantas obtuvieron 11.35 frutos sanos, sólo el testigo se diferenció de los fungicidas, sin embargo, *T.virens* cepa G-41 (PHC®Root Mate®) registró el mejor promedio con 9.67 frutos sanos (Cuadro 2).

### Número de frutos tiernos dañados (NFTD)

Para NFTD en 30 m<sup>2</sup>, se encontró diferencias significativas para sitios (P=0.0005) y tratamientos (P<0.0001) en el análisis de varianza; en CSAEGro se presentó el menor número de frutos dañados (1.04), con propamocarb + fosetyl-Al (Previcur® Energy) se obtuvo el menor daño con sólo 2.62 frutos. Para genotipos, la prueba de comparación múltiple de medias formó varios grupos, Apipilulco fue el que registró el menor daño en frutos (3.81, Cuadro 2). Aun cuando en Chilapa se obtuvo el mayor número de frutos dañados, se aprecia la alta capacidad de producción de frutos.

### Número de frutos sanos cosechados

Para esta variable se encontró diferencia significativa solo para tratamientos ( $P < 0.0001$ ); y solo el testigo se diferenció de los productos químicos y/o biológicos, con la menor cantidad de frutos sanos (21.82, Cuadro 2), el mayor promedio de frutos sanos (38.54) se obtuvo con *Bacillus* spp. + *Streptomyces* spp. + *Trichoderma* spp. (PHC® Biopak-F®), se cosecharon más frutos sanos en las plantas del criollo Santa Teresa (36.38) y el sitio Chilapa (37.15). Los resultados muestran que con la combinación de diferentes microorganismos bio-controladores, se potencializa el control de fitopatógenos, e influyó en más frutos sanos.

### Número de frutos dañados cosechados

El análisis de la varianza para esta variable presentó diferencias significativas para tratamientos ( $P < 0.0001$ ), y para sitios ( $P = 0.0070$ ). El tratamiento *Bacillus* spp. + *Streptomyces* spp. + *Trichoderma* spp. (PHC® Biopak-F®) obtuvo el menor número de frutos dañados (2.19, Cuadro 2), en Chilapa se encontró menos frutos dañados (1.08). El genotipo Apipilulco presentó el menor valor de frutos dañados (3.74).

### Discusión

#### Número de frutos tiernos sanos (NFTS)

Osorio-Hernández et al. (2011) reportan un efecto supresor e inhibitorio de *Trichoderma* spp. sobre *P. capsici*. Sajid y Bihar (2014) evaluaron la capacidad antagonista de *Trichoderma* spp. contra *R. solani* y encontraron que se ejerció un control favorable del patógeno aislado de suelo.

### Número de frutos tiernos dañados (NFTD)

En relación a los resultados obtenidos con propamocarb + fosetyl-Al (Previcur® Energy), Cook et al. (2009) y Dufour y Corio (2013) reportan que el fosetyl-Al sigue siendo un ingrediente activo eficaz contra oomicetos, los cuales son los involucrados en épocas tempranas de fructificación del cultivo de calabaza. Robledo-Esqueda et al. (2012) citan que la aplicación de fosetyl-Al estimula defensas en la planta contra patógenos; Ojiambo et al. (2010) encontraron que el ingrediente activo propamocarb contra oomicetes en cucurbitáceas fue de los más eficaces en el control. Matheron y Porchas (2008) estudiaron el efecto del propamocarb contra el oomicete *P. capsici* obteniendo una mayor supervivencia en plantas tratadas con este ingrediente.

### Número de frutos sanos cosechados

El producto PHC® Biopak-F® tiene la ventaja de contener varios agentes biocontroladores, entre ellos *Streptomyces*, el cual durante la esporulación, produce enzimas hidrolíticas extracelulares y antibióticos como metabolitos secundarios (Al-Askar et al., 2013), y en interacción con patógenos fúngicos se relaciona generalmente con la producción de enzimas como celulasas, hemicelulasas, quitinasas, amilasa y betaglucanasas que degradan la pared celular (Chater et al., 2010).

### Número de frutos dañados cosechados

Existe evidencia reportada de que los microorganismos como *B. subtilis*, *Streptomyces* y *Trichoderma* spp., incluidos en el producto PHC® Biopak-F®, en forma individual y en combinación, son agentes de biocontrol muy prometedores en el manejo de patógenos habitantes del suelo (Darvin y Prasanna, 2013; Köberl et al., 2013).

Diferentes autores reportan buen control en hongos del suelo similares a los de esta investigación, como *P.capsici*(Lim y Kim, 2010), *R. solani* (El-Mougy et al., 2013).

El efecto positivo de quitozeno se asocia a que afecta la integridad de la membrana y pared celulares así como las mitocondrias en los hongos fitopatógenos, disminuyendo la formación de esclerocios y propágulos infecciosos (Latin, 2011). Varios microorganismos usados en este estudio, tales como *Trichoderma* sp., *B. subtilis* y *Streptomyces* sp., han mostrado un satisfactorio bio-control en varios hongos fitopatógenos habitantes del suelo, de géneros encontrados en el presente trabajo (Rattanaporn y Hataichanoke, 2013; Ghorriet al., 2014).

### Agradecimientos

Al Centro de Estudios Profesionales del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero y a la Universidad Autónoma Chapingo, por la colaboración económica para la realización del presente estudio

### Conclusiones

Los ingredientes activos quitozeno (Pentaclor\*600F), propamocarb + fosetyl-Al (Previcur® Energy), y *Bacillus* sp. + *Streptomyces* sp. + *Trichoderma* sp. (PHC ® Biopak-F®), con los genotipos Apipilulco y Santa Teresa, en el sitio Chilapa, mostraron los resultados más sobresalientes en la mayoría de las variables estudiadas. El aporte que se hace con este estudio es la identificación de los agentes causales de la pudrición de frutos en calabaza pipiana, constituye un primer trabajo en la evaluación de estrategias de manejo para generar alternativas de control y reducir el daño en frutos, incrementar los rendimientos y hacer esta actividad más rentable para los productores.

### Referencias

Al-Askar, A.A., Y.M. Rashad, & W.M. Abdulkhair (2013). Antagonistic activity of an endemic isolate of *Streptomyces tendae* RDS16 against phytopathogenic fungi. *African Journal of Microbiology Research* 7(6), 509-516.

Asad, S.A., N. Ali, A. Hameed, K.S. Ali, R. Ahmad, M. Bilal, M. Shahzad & A. Tabassum (2014). Biocontrol Efficacy of Different Isolates of *Trichoderma* against Soil Borne Pathogen *Rhizoctonia solani*. *Polish Journal of Microbiology* 63(1), 95-103.

Ayvar-Serna, S., A. Mena-Bahena, J.A. Durán-Ramírez, R. Cruzaley-Sarabia & N.O. Gómez-Montiel (2007). La calabaza pipiana y su manejo integrado. Folleto técnico. Fundación Produce de Guerrero, A. C. Campo Experimental Iguala. CSAEGro. Iguala, Gro. México. 26 p.

Blum, M. & U. Gisi (2012). Insights into the molecular mechanism of tolerance to carboxylic acid amide (CAA) fungicides in *Pythium aphanidermatum*. *Pest ManagSci.* 68, 1171-1183.

Carrillo, I (2009). Aflatoxinas contaminan a la pepita de calabaza. En: Gaceta, Órgano informativo de la Universidad Nacional Autónoma de México (UNAM). Disponible en: <http://www.gaceta.unam.mx/index.php/gum00/article/view/61421>.

Chater, K.F., S. Biro, K.J. Lee, T. Palmer & H. Schrempf (2010). The complex extracellular biology of *Streptomyces*. *Federation of European Microbiological Societies (FEMS). Microbiology Reviews* 34, 171-98.

- Cook, P.J., P.J. Landschoot & M.J. Schlossberg (2009). Inhibition of *Pythium* spp. and suppression of *Pythium* blight of turfgrasses with phosphonate fungicides. *Plant Dis.* 93, 809-814.
- Darvin, G. & K.V. Prasanna (2013). Effect of bio-control agents on radial growth of *Sclerotium rolfsii* in vitro. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology* 4(4), 61-64.
- Dufour, M.C. & C.M.F. Corio (2013). Variability in the sensitivity of biotrophic grapevine pathogens (*Erysiphe necator* and *Plasmopara viticola*) to acibenzolar-S methyl and two phosphonates. *Eur J Plant Pathol.* 136, 247-259.
- El-Katatny, M.H. & A.S. Emam (2012). Control of postharvest tomato rot by spore suspension and antifungal metabolites of *Trichoderma harzianum*. *Journal of Microbiology, Biotechnology* 1(6):1505-1528.
- El-Mougy, N.S., M.M. Abdel-Kader & S.M. Lashin (2013). Vegetables root rot disease management by an integrated control measures under greenhouse and plastic houses conditions in Egypt -A review. *International Journal of Engineering and Innovative Technology* 3(5), 40-54.
- Farfour, S.A. & M.A. Al-Saman (2014). Root-rot and Stem-canker Control in Faba Bean Plants by Using Some Biofertilizers Agents. *J Plant Pathol Microb* 5, 218.
- García, E. (2005). Modificación al sistema de clasificación climática de Köppen. 4ª Edición. Instituto de Geografía. Universidad Nacional Autónoma de México. 217p.
- Ghorri, S., L. Dehimat, O. Benserradj & C.N. Kacem (2014). Assays In vitro of the biological control by using three species of *Trichoderma* against various species of *Fusarium* Agent of *Fusarium*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3(1), 370-379.
- Gomashe, A.V., A.M.N. Sheikh & A.P. Gulhane (2014). Production of Bioactive Compound by *Bacillus subtilis* and its antagonistic activity against *Sclerotium rolfsii*. *Int. J. of Life Sciences* 2(2), 127-133.
- Köberl, L.M., E.M. Ramadan, M. Adam, M. Cardinale, J. Hallmann, H. Heuer, K. Smalla & G. Berg (2013). *Bacillus* and *Streptomyces* were selected as broad-spectrum antagonists against soilborne pathogens from arid areas in Egypt.
- Federation of European Microbiological Societies (FEMS). Microbiology Letters* 1-11.
- Latin, R. (2011). Practical Guide to Turfgrass Fungicides. APS Press. St. Paul, Minnesota U.S.A. 270 p.
- Le, C.N., R. Mendes, M. Kruijt & J.M. Raaijmakers (2012). Genetic and phenotypic diversity of *Sclerotium rolfsii* in groundnut fields in central Vietnam. *Plant Disease* 96, 389-397.
- Lim, J.H. & S.D. Kim (2010). Biocontrol of *Phytophthora* Blight of Red Pepper Caused by *Phytophthora capsici* Using *Bacillus subtilis* AH18 and *B. licheniformis* K11 Formulations. *Journal of The Korean Society for Applied Biological Chemistry* 53(6), 766-773.
- Matheron, M.E. & M. Porchas (2008). Efficacy of New Fungicides as Potential Management Tools for *Phytophthora* Crown and Root Rot on Pepper Plants. *Vegetable Report* (P-152), 14-16.

Mukherjee, P.K., B.A. Horwitz, A. Herrerra-Estrella, M. Schmoll & C.M. Kenerley (2013). *Trichoderma* Research in the Genome Era. *Annu. Rev. Phytopathol.* 51, 105-29.

Ojiambo, P.S., P.A. Paul & G.J. Holmes (2010). A quantitative review of fungicide efficacy for managing downy mildew in cucurbits. *Phytopathology* 100, 1066-1076.

Osorio-Hernández, E., F.D. Hernández-Castillo, G. Gallegos-Morales, R. Rodríguez-Herrera & F. Castillo-Reyes (2011). In-vitro behavior of *Trichoderma* spp. against *Phytophthora capsici* Leonian. *African Journal of Agricultural Research* 6(19), 4594-4600.

Rattanaporn, T. & N. Hataichanoke (2013). Inhibitory activity of *Bacillus subtilis* BCC 6327 metabolites against growth of aflatoxigenic fungi isolated from Bird Chili Powder. *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics* 3(1), 27-32.

Robledo-Esqueda, M.N., H. Lozoya-Saldaña & M.T. Colinas-León (2012). Inducción de defensa en papa (*Solanum tuberosum* L.) contra *Phytophthora infestans* Mont. de bary por fungicidas. *Interciencia* 37(9), 689-695.  
SAS. Institute Inc. (2013). *SAS User's guide: Statistics*. Release 6.03. Ed. SAS Institute incorporation, Cary, N.C. USA. 1028p.

Cuadro 2. Variables fenológicas evaluadas en control químico y biológico de hongos fitopatógenos en calabaza pipiana (*C. argyrosperma*), en dos localidades del Estado de Guerrero (Chilapa y CSAEGro), tres genotipos (Apipilulco, Chilapa, y Santa Teresa), y 10 tratamientos.

Factor	Variables			
	NFTS	NFTD	NFSC	NFDC
Localidad				
Chilapa	11.35 A*	5.66 A	37.15 A	1.08 B
CSAEGro	3.22 B	1.04 B	32.44 A	8.06 A
DMS	2.43	0.92	15.20	3.30
Genotipo				
Apipilulco	8.48 A	3.81 B	33.76 A	3.74 A
Chilapa	8.44 A	4.12 AB	34.41 A	4.53 A
Santo Tomás	8.96 A	4.41 A	36.38 A	5.26 A
DMS	1.80	0.44	5.50	1.60
Tratamiento				
Benomil	8.73 A	4.89 BC	34.46 A	4.71 B
Previcur® Energy	8.95 A	2.62 E	37.85 A	2.84 C
Pentaclor® 600F	8.87 A	3.95 CD	38.39 A	2.45 C
Ridomil Gold® Bravo SC	9.02 A	2.74 ED	34.33 A	4.76 B
PHC® Biopak-F®	8.61 A	3.54 ED	38.54 A	2.19 C
Q 2000	9.40 A	5.50 B	36.61 A	5.19 B
PHC® Root Mate®	9.67 A	3.20 ED	35.25 A	4.82 B
Trichoderma cepa CSAEGro	9.38 A	3.18 ED	35.20 A	6.01 AB
Trichoderma cepa Chilapa	9.48 A	3.30 ED	35.59 A	5.39 AB
Testigo	4.16 B	8.22 A	21.82 B	6.98 A
DMS	1.50	1.27	4.50	1.67

x: Medias con la misma letra por columna para localidad, genotipo, o tratamiento, no son estadísticamente diferentes ( $P=0.05$ ); DMS: Diferencia Mínima Significativa al 5%; NFTS: Número de frutos tiernos sanos; NFTD: Número de frutos tiernos dañados; NFSC: Número de frutos sanos cosechados y NFDC: Número de frutos dañados cosechados.

Tabla 2

Zitter, T.A., D.L. Hopkins & C.E. Thomas (2004). *Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas*. The American Phytopathological Society. Ediciones Mundi Prensa. 88 p.

Živković, S., S. Stojanović, Ž. Ivanović, V. Gavrilović, T. Popović & J. Balaž (2010). Screening of antagonistic activity of microorganisms against *Colletotrichum acutatum* and *Colletotrichum gloeosporioides*. *Arch. Biol. Sci., Belgrade* 62(3), 611-623.