

Nuevos causantes de la pudrición en panel de pica en hule: caso *Fusarium* spp.

Bernardo López-Moreno¹
Maribel Gutiérrez Contreras¹
Salvador Aguirre Paleo¹
Margarita Vargas-Sandoval²
Atahualpa Guzmán de Casa¹
Pedro Antonio García-Saucedo¹
Teresita del Carmen Ávila-Val^{1§}

¹Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo-Facultad de Agrobiología 'Presidente Juárez'. Paseo Lázaro Cárdenas esquina con Berlín, Uruapan, Michoacán, México. CP. 60040. (bernardolopez@tmtagro.com.mx; gutierrezcon.maribel@gmail.com; aguirrepaleo@hotmail.com; atahualpagc@hotmail.com; garsapan@gmail.com). ²Facultad de Biología-Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo. Avenida Francisco J. Múgica s/n, Ciudad Universitaria, Edificio B-1, Morelia, Michoacán, México. CP 58060. (vargasmarga@hotmail.com).

§Autora para correspondencia: tereavilaval@yahoo.com.mx.

Resumen

La pudrición mohosa en el panel de pica de hule disminuye el rendimiento y la regeneración de su corteza. El objetivo fue identificar el agente causal de la enfermedad en San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca y evaluar su sensibilidad *in vitro* a fungicidas. Para ello se colectó tejido del panel de pica enfermo y realizaron aislamientos. Se caracterizaron los aislados en los medios nutritivos PDA (papa-dextrosa-agar), CLA (hojas de clavel-agar), FLA (fermentación líquida-agar), CDA (café-dextrosa-agar) y ZA (zanahoria-agar). Se evaluaron tasas de crecimiento y realizaron pruebas de patogenicidad en laboratorio y campo, así como de sensibilidad *in vitro* a Mancozeb 70%, Benomilo, Carbendazin, Propiconazol, Clorotalonil, y Carboxamida, en 10 tratamientos y ocho repeticiones. Los resultados evidenciaron cuatro aislados del género *Fusarium*, que mostraron polimorfismo de acuerdo con el medio de cultivo, con crecimiento radial y anillos marcados. Se observaron microconidios y macroconidios dispersos en el micelio y en esporodocios de color blanco, naranja y azul a 36 días. La tasa de crecimiento varió con el medio nutritivo y la cepa inoculada. Se identificaron a *F. circinatum*, *F. lateririum*, *F. decemcellulare* y *F. mangiferae*. En las pruebas de patogenicidad en laboratorio todas las cepas inoculadas fueron positivas y en campo solo *F. circinatum* y *F. mangiferae*. El bioensayo de sensibilidad mostró respuesta dependiente de fungicida y aislamiento. Con estos se concluye que las especies *F. circinatum*, *F. mangiferae*, *F. lateririum* y *F. decemcellulare* pueden causar pudrición mohosa en el panel de pica del clon IAN 710. Este es un primer reporte que involucra estas especies. Su control depende de la especie de *Fusarium* y el fungicida utilizado.

Palabras claves: caracterización, identificación, medios de cultivo, sensibilidad a fungicidas.

Recibido: julio de 2019

Aceptado: septiembre de 2019

Introducción

El hule *Hevea brasiliensis* Muell Arg. es un cultivo tropical perenne bien remunerado, de importancia económica a nivel comercial por sus niveles productivos y las características de su naturaleza, materia prima necesaria para la industria, en la fabricación de artículos esenciales como llantas, componentes de ingeniería y productos de látex (Picón *et al.*, 1997). Aunque se estableció en plantaciones desde hace más de cien años en México y el mundo (Martínez, 1986), en los últimos años ha resurgido el interés por las plantaciones del látex natural ya que sus características fisicoquímicas no se pueden obtener del hule sintético derivado del petróleo (Frederico *et al.*, 1995).

En México existen 33 375 ha (INIFAP, 2014) distribuidas en los estados de Veracruz, Oaxaca, Chiapas y Tabasco, con una producción estimada de 62.4 mil t y un valor de 685.7 millones de pesos (SIAP-SAGARPA, 2016). El principal estado productor fue Veracruz, con 57.6% de la producción nacional, seguido de Oaxaca con 33%. La región de Tuxtepec en Oaxaca es la más importante con superficies de producción promedio de 3 ha (Rojo *et al.*, 2011) y constituye una de las principales fuentes de empleo e ingreso para 1 500 productores en esa zona.

Sin embargo, a pesar de las condiciones inmejorables para la producción comercial de hule, el país mantiene históricamente una situación deficitaria y se han importado más de 70 mil toneladas anuales provenientes de Tailandia, Indonesia y Malasia, equivalentes a más de 90% del consumo interno, con un costo mayor a 100 millones de dólares al año (Rojo *et al.*, 2011). No obstante, la importancia industrial de la planta y su producto, en México no existe suficiente información sobre el potencial productivo de la especie, el manejo de las plantaciones, ni de los factores que influyen sobre la producción de látex (Grist *et al.*, 1995; Priyani, 1996).

En las plantaciones jóvenes, son pocas las enfermedades que llegan a causar daños importantes, entre ellas las ocasionadas por *Botryodiplodia theobromae* Pat, *Phytophthora* sp., *Diplodia* sp. o *Colletotrichum* sp. En plantaciones maduras los daños son por *Phytophthora palmivora* Butl. *Corticium salmonicolor* Berk y por *Ceratocystis fimbriata* Elliot (Picón *et al.*, 1997). Este último puede dispersarse por el viento, la cuchilla de pica o por insectos como *Xyleborus hypocryphalus* (Goitia y Rosales, 2001), lo que disminuye el rendimiento y la regeneración de su corteza.

Por ello el objetivo del presente estudio fue corroborar el agente causal de la pudrición mohosa del panel de pica en *Hevea brasiliensis* en el ejido Santa Úrsula, Tuxtepec, Oaxaca, así como realizar pruebas de sensibilidad *in vitro* con fungicidas para inhibir el crecimiento del fitopatógeno.

Materiales y métodos

El presente estudio se realizó en Santa Úrsula, municipio de San Juan Bautista Tuxtepec, Oaxaca, que de acuerdo con el sistema Holdridge tiene condiciones climáticas de bosque lluvioso subtropical cálido. Temperaturas promedio anual de 26 °C. Lluvias copiosas y abundantes, precipitación anual de 2 000 a 4 500 mm.

Las muestras tomadas fueron representativas de la plantación. Para la colecta del material se realizó un corte profundo en la corteza del árbol con la herramienta de pica previamente esterilizada, hasta penetrar al xilema infectado por el hongo, las muestras se procesaron en el laboratorio de fitopatología de la Facultad de Agrobiología 'Presidente Juárez' UMSNH.

Preparación de los medios de cultivo

Para el aislamiento y caracterización de los aislados se utilizaron los medios de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA), agua-agar (AA), café-dextrosa-agar (CDA), zanahoria-agar (ZA) y spezieller-nährstoffarmer-agar (SNA) recomendados por Leslie y Summerell (2006) para el análisis y caracterización del género *Fusarium* y por Beever (1969) modificado por Christen y Raimbault (1991), que es un medio de fermentación líquida-agar (FLA) para *Ceratocystis fimbriata* (Palma-Sandoval, 1993).

Obtención de aislamientos

Se siguieron las técnicas fitopatológicas descritas por Trigiano *et al.* (2004); Agrios (2005), se sembraron las muestras en medio de cultivo 1/2X PDA e incubaron a 28 °C en obscuridad, puntas de hifa. Para la identificación mediante preparaciones fijas se comparó morfológica con las claves de Barnett y Hunter (1998); Leslie y Summerell (2006). Se realizaron cultivos monospóricos y almacenaron en glicerol 25% estéril a -70 °C para su uso.

Caracterización cultural y morfológica de los aislados de *Fusarium*

La caracterización cultural se realizó en medio 1XPDA. Se inocularon 20 µL de la suspensión de conidios en glicerol 25%. Se registraron las características de tipo y espesor del micelio, color de la colonia (anverso y reverso), pigmentación del agar, presencia y color del esporodoquio, presencia de clamidosporas, así como la posible presencia de hifas enrolladas a los 15, 30 y 60 días.

La caracterización morfológica fue en medio CLA, se inocularon 5 µL de la suspensión, a los 10 días se midió el largo y ancho de 50 macroconidios y 50 microconidios de cada aislamiento, se determinó en los macroconidios la forma, tipo de pie y célula apical, así como el número de septos y presencia de esporodoquios, de los microconidios se determinó la forma, disposición y tipo de fiálide, junto con la presencia y disposición de clamidosporas e hifas enrolladas de ser posible.

Tasa de crecimiento

Se inocularon 5 µL de la suspensión en medio SNA sin papel, que se incubaron por 7 días a 25 °C en oscuridad. De la colonia se transfirió un disco de 6 mm de diámetro al centro de una caja de Petri con los medios ZA, FLA, CDA y PDA con trozos de tallo de hule esterilizado, se incubaron por 72 h y registró la tasa de crecimiento (mm), con los datos obtenidos se realizó el análisis de varianza con el programa Statgraphics Centurión XVI (Statpoint, 2013). Se establecieron cinco repeticiones. El experimento se realizó dos veces.

Pruebas de patogenicidad

De acuerdo con Dhingra y Sinclair (1985), se extrajeron de campo 60 tallos de *Hevea brasiliensis* del clon IAN-710 con 2.5 cm de ancho y 35 cm de largo, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 5%, las puntas se sellaron con pintura vinílica y para su traslado laboratorio y procesamiento se envolvieron en papel humedecido. Bajo condiciones asépticas, se lavaron nuevamente en hipoclorito de sodio al 2%. Para la inoculación se colocaron discos de 10 mm con medio PDA con el aislado en tallos con y sin herida, mismos que se cubrieron con cinta transparente. Los tallos se colocaron dentro de cámaras húmedas. Se establecieron cinco repeticiones.

La prueba de patogenicidad en campo se realizó sobre árboles de hule del clon IAN-710 sanos de 2.5 y 4.5 años, la concentración de conidios varió con el aislado Tux 01(10.76), Tux 02 (3.0), Tux 03 (1.56) y Tux 04 (8.50) $\times 10^6$ respectivamente. Se asperjaron 200 mL de cada suspensión en una herida similar a la de pica de los cultivos comerciales, sobre la corteza externa suave. Se realizaron cuatro repeticiones. Los tratamientos se distribuyeron en bloques al azar. La evaluación de la severidad se realizó cuatro días después de la inoculación con una escala visual, en donde: A= corteza dañada; B= pudrición visible; C= micelio visible; D= necrosis; y E= ausencia de daño.

Bioensayo de sensibilidad *in vitro* de los fitopatógenos a fungicidas

Bajo la técnica de Dhingra y Sinclair (1985) de humedecimiento de papel filtro, sobre discos de papel Whatman No. 4 de 6 mm de diámetro, se aplicaron los productos Benomilo (2 g), Carbendazin (3 mL), Mancozed 70% (4 g), Mancozed 70% (1 kg/6 L testigo regional), Propiconazol (2.5 mL), Carboxamida (12 g), Clorotalonil(12 g) y las combinaciones Clorotalonil + Carboxamida (12 g), Benomilo + Mancozed 70% (2+4 g) recomendados por AGI-Hule Región Papaloapan (2012) y agua destilada (testigo absoluto).

Los discos se impregnaron con 50 μ L de la solución. Se establecieron 10 tratamientos por aislado incluidos un testigo regional y un absoluto. Cada tratamiento tuvo ocho repeticiones distribuidas completamente al azar. La unidad experimental fue un disco. La variable respuesta fue el crecimiento micelial de los aislados, éste se registró a partir de las 24 h y hasta que el micelio del tratamiento testigo tocó el disco de papel filtro. Los datos obtenidos del crecimiento se sometieron a un análisis de varianza con el programa estadístico Statgraphics Centurión XVI (Statpoint, 2013).

Resultados y discusión

De los aislamientos realizados se obtuvieron cuatro aislados, que por comparación de sus características morfológicas pertenecen al género *Fusarium*.

Características culturales de *Fusarium* en medios de cultivo 1X PDA con trozos de tallo de hule, ZA, CDA y FLA

Los aislados tuvieron un crecimiento radial, con marcados anillos, 75% de los aislados presentó micelio abundante, algodonoso, flocoso, aéreo, mientras que 25% restante (Tux-01 y Tux-04 en CDA, Tux-02 en PDA y ZA) tuvieron micelio ralo, inmerso en el medio. El color de la colonia fue blanco, amarillo claro a marrón por el anverso en todos los aislados y amarilla, marrón y negro por

el reverso conforme envejeció la colonia, de manera sobresaliente el aislado Tux-01 en PDA y CDA y Tux-04 en CDA mostraron una coloración azulada en el anverso. Se observó pigmentación en el medio de cultivo en 50 % de los aislamientos (Figura 1).

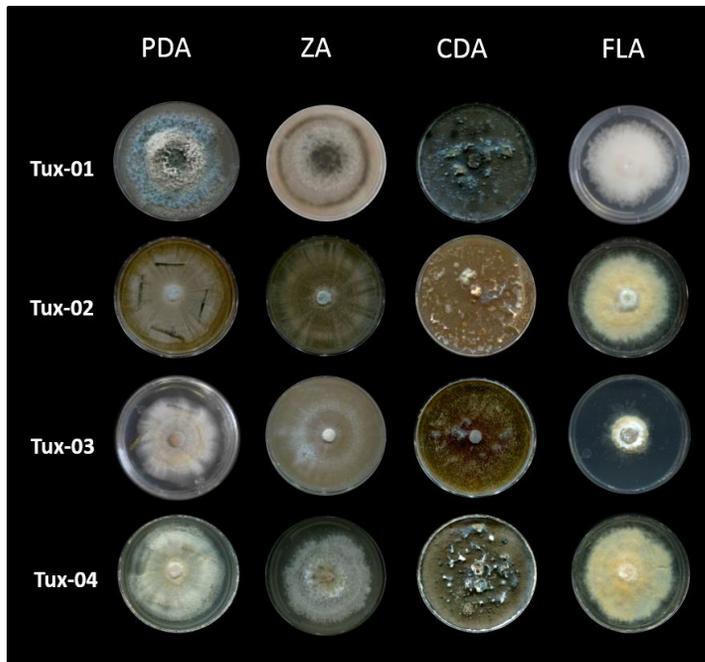


Figura 1. Caracterización cultural de los aislados de *Fusarium* en los medios de cultivo: PDA con trozos de tallo de hule, ZA, CDA y FLA.

La temperatura, oscuridad y el medio de cultivo son factores importantes para la formación rápida de pigmentos en este género, lo que facilita el hecho de observar variabilidad en la intensidad de la coloración. De manera particular el medio PDA por su alto contenido de carbohidratos permite un desarrollo y expresión ideales de sus características culturales como la forma, color, pigmentación del medio y rango de crecimiento (Leslie y Summerell, 2006).

Características morfológicas de *Fusarium* en medio de cultivo PDA con trozos de tallo de hule

Todos los aislados presentaron la formación de macroconidios, dispersos en el micelio y en esporodoquios de color blanco, naranja y azul a los 36 días. La forma predominante fue semirrecta con una curva dorsal. El número de septos varió, para Tux-01, Tux-02 y Tux-04 fue de tres a cinco, mientras que para Tux-03 fue de cinco a nueve. La célula apical observada fue papilada y en forma de gancho, la basal con ligera y clara muesca.

Los microconidios estuvieron presentes en los cuatro aislados, éstos fueron hialinos, generalmente sin septos, algunos con uno o dos. Formados en falsas cabezas, sobre mono y polifiálides, cortas y largas. Clamidosporas intercalares y terminales presentes en los aislados Tux-02, Tux-03 y Tux-04. Hifas enrolladas en Tux-01, Tux-03 y Tux-04.

De acuerdo con Dhingra y Sinclair (1985) el medio de cultivo PDA puede estimular la formación de clamidosporas, lo que pudo facilitar su observación. Por otra parte, la presencia de las hifas enrolladas puede separar especies de *Fusarium* aislados de diferentes materiales vegetales de regiones pantropicales que pertenecen al complejo de *Gibberella fujikuroi* en la sección *Liseola* (Leslie, 1995).

Características morfológicas de *Fusarium* en medio de cultivo CLA

Los macroconidios observados estuvieron dispersos en el medio de cultivo, abundantemente producidos en esporodoquios de color azul y naranja para Tux-01, naranja en Tux-02 y Tux-04 y blancos en Tux-03 que desarrollaron sobre las hojas de clavel o el medio de cultivo a los 36 días de inoculado (Figura 2A a 2D). Los macroconidios fueron hialinos, de forma semirecta con curva dorsal. En el aislado Tux-01 presentaron 3 a 4 septos, la célula apical fue papilada, la basal con apenas muesca y midieron $39.06 \times 4.4 \mu\text{m}$.

En Tux-02 tde 3 a 5 septos, célula apical papilada, la basal con apenas muesca, de $39.4 \times 4.4 \mu\text{m}$. Tux-03 de 5 a 9 septos, célula apical estrecha y la basal con clara muesca, midieron $57.72 \times 5.8 \mu\text{m}$ y Tux-04 de 3 a 4 septos, célula apical papilada, basal con apenas muesca y de $36.4 \times 4.9 \mu\text{m}$ (Figura 2E y 2F).

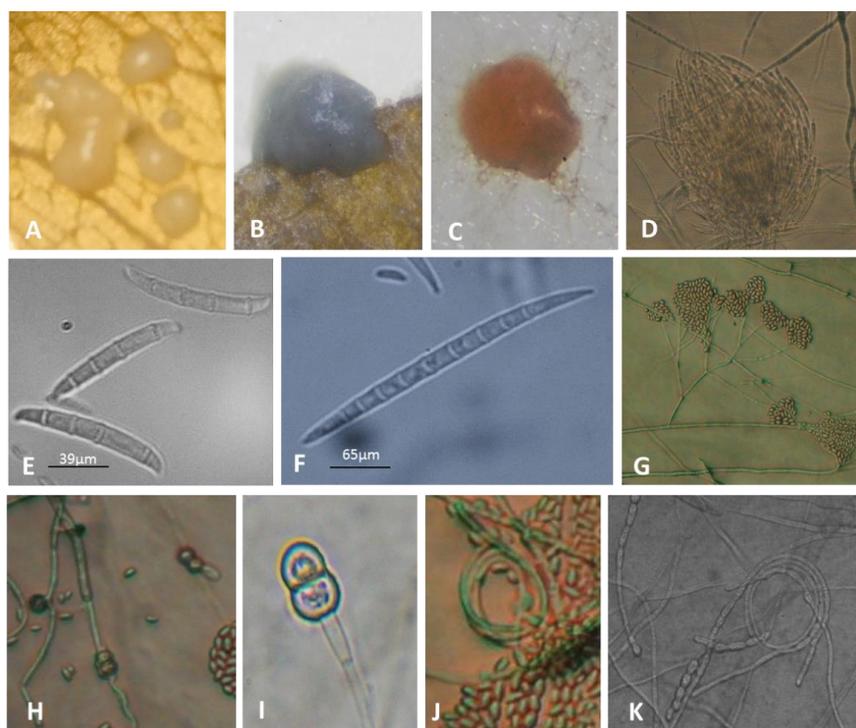


Figura 2. Estructuras de *Fusarium* observadas en el medio de cultivo CLA. A y B= esporodoquios blanco y azul sobre hoja de clavel; C= esporodoquio naranja sobre el medio; D= esporodoquio visto a 10X; E= macroconidio con cuatro septos; F= macroconidio con nueve septos; G= microconidios en falsas cabezas; H= clamidosporas intercalares; I= clamidosporas terminales; J y K= hifas enrolladas.

Este medio de cultivo es excelente para la formación de estructuras reproductivas de *Fusarium* y su preservación, ya que disminuye la degeneración del cultivo por su bajo contenido de nutrientes (Fisher *et al.*, 1982). Los macroconidios que se producen suelen ser uniformes en tamaño y forma, se presentan entre 6 y 10 días después de inoculado el medio, estas particularidades proveen la razón por la cual es el medio de cultivo recomendado para trabajos de identificación de especies. El número de septos de 3 a 5 es frecuente en las especies de este género; sin embargo, el aislamiento Tux-03 con 5 a 9 (Figura 2E y F). coincide con los reportados para las especies *F. decemcellulare*, (Ploetz *et al.*, 1996) y *F. lateritium* (Leslie y Summerell, 2006).

Los microconidios fueron formados en falsas cabezas dispuestas en mono o polifiálides (Figura 2G). De forma ovoide y sin septos, los aislados Tux-01 y Tux-02 tuvieron uno y dos septos, mientras que los Tux-03 y Tux-04 presentaron además forma arriñonada. Las medidas fueron Tux-01 de 9.48 x 3.08, Tux-02 de 8.2 x 3.2, Tux-03 de 6.52 x 3.2 y Tux-04 de 7.92 x 2.8 μm . Los microconidios no son producidos por todas las especies del género, su presencia puede ser un carácter importante, así como la talla, forma, las células conidiógenas donde nacen o el arreglo que tienen; la formación de éstas últimas puede verse afectada por el medio de cultivo utilizado.

En *F. decemcellulare* su forma es oval y sin septos, por lo general formados en cadenas, aunque pueden ocasionalmente ser en falsas cabezas y sobre monofiálides, además de abundantes en el micelio aéreo, características que coinciden con las observadas para el aislado Tux-03 y que los separan de *F. lateritium* al presentarlos elipsoides con cero a tres septos, individuales, en monofiálides y generalmente ausentes (Leslie y Summerell, 2006).

Se observaron abundantes clamidosporas intercalares y terminales en los aislados Tux-02, Tux-03 y Tux-04. La presencia de éstas puede ser un factor distintivo en algunas especies, así como su disposición, por lo general son frecuentes en cultivos con medio SNA y CLA más que en otras superficies de agar y su formación puede tardar más de seis semanas (Leslie y Summerell, 2006), su producción puede darse como respuesta a cambios de temperaturas, es un rasgo de supervivencia común en este género (Agrios, 2005).

En tres de los aislados se observaron hifas enrolladas con tres y cuatro vueltas, preferentemente en micelio aéreo, con excepción de Tux-02 en donde no se apreciaron (Figura 2). Estas hifas son semejantes a las formadas por las especies *F. sterilihyphosum*, *F. circinatum*, *F. pseudocircinatum* y *F. mexicanum* que son las únicas reportadas que las producen (Leslie y Summerell, 2006; Jacobs *et al.*, 2007; Kvas *et al.*, 2009; Otero-Colina *et al.*, 2010).

Tasa de crecimiento para los aislados de *Fusarium* spp.

El análisis de los datos de crecimiento micelial a las 72 h, mostró diferencias estadísticas significativas entre ellos y varió tanto en los aislados como en los medios usados. La prueba de comparación de medias Tukey $\alpha= 0.05$ para cada medio evidenció que en Tux-01 el mejor crecimiento se obtuvo con el medio de ZA (13.6 mm) en Tux-02 los medios ZA (9.8 mm), CDA (9.4 mm) y PDA (8.8 mm) tuvieron un crecimiento similar, para Tux-03 y Tux-04 los mejores medios fueron ZA (9.9 y 12.6 mm) y CDA (9.9 y 11.7 mm). El menor crecimiento se observó en el medio FLA en todos los aislados (Figura 3).

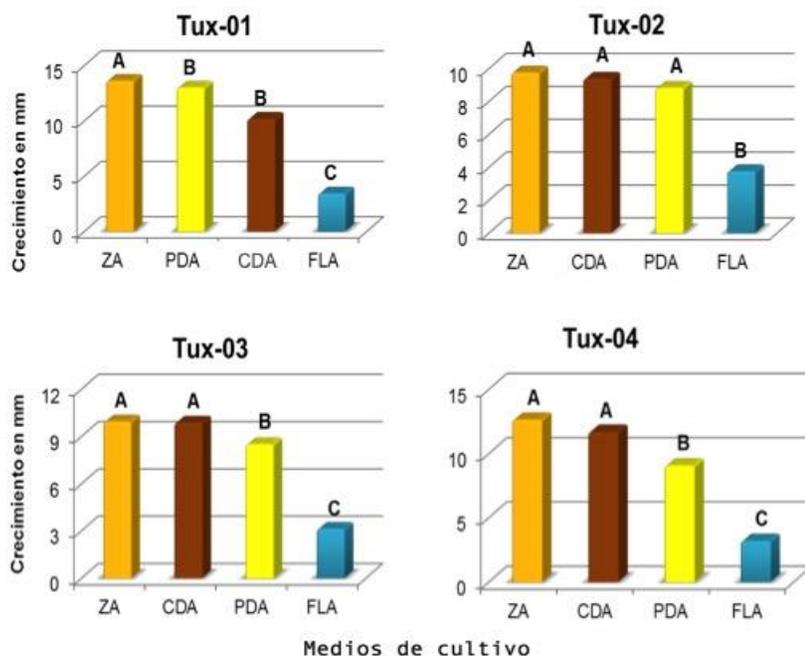


Figura 3. Prueba de comparación de medias de Tukey $\alpha=0.05$ de los aislados de *Fusarium* para cada medio de cultivo.

La tasa de crecimiento es un carácter secundario, tradicionalmente se utiliza el medio PDA y se deja crecer por tres días a una temperatura de 25 o 30 °C. Por lo general permite distinguir las especies de rápido o lento crecimiento (Leslie y Summerell *et al.*, 2006).

La tasa de crecimiento para *F. sterilihyphosum* a 25 °C es de 4.8 mm día⁻¹ (Britz *et al.*, 1999), en *F. circinatum* es relativamente rápida (4.7 mm día⁻¹) a 20 °C (García, 2011), *F. decemcellulare* es de 5-8.3 mm día⁻¹ a 25 °C, *F. mangiferae* Britz, Wingfield & Marasas 3.4 mm día⁻¹ y *F. lateritium* de 2.6-6.6 mm día⁻¹ (Leslie y Summerell, 2006).

Los datos registrados para el aislados Tux-01 se asemejan a las de las especies *F. sterilihyphosum* y *F. circinatum*, con quienes comparte la característica morfológica de hifas enrolladas. Los otros aislados estudiados son similares a los reportados para *F. lateritium*, y *F. mangiferae*, ya que Tux-02 creció 2.9 mm día⁻¹, Tux-03 (2.8 mm día⁻¹) y Tux-04 (3 mm día⁻¹); sin embargo, Tux-03 y Tux-04 presentan hifas enrolladas y las otras especies no.

Al comparar las características culturales, morfológicas y tasa de crecimiento observadas en los aislamientos estudiados con las descripciones hechas por (Klitiich y Leslie, 1992; Leslie, 1995; Huss *et al.*, 1996; Ploetz *et al.*, 1996; Klitiich *et al.*, 1997; O'Donnell *et al.*, 1998; 2000; Britz *et al.*, 1998; 1999; Steenkamp *et al.*, 1999a; Leslie y Summerell, 2006; Jacobs *et al.*, 2007; Kvas *et al.*, 2007; Kvas *et al.*, 2009), se podría sugerir que el aislado Tux-01 pertenece a la especie *F. circinatum* Nirenberg & O'Donnell emend. Britz, Coutinho, Wingfield & Marasas, el aislamiento Tux-02 a *F. lateritium* Nees, Tux-03 a *F. decemcellulare* Brick, y finalmente Tux-04 a *F. mangiferae* Britz, Winfield & Marasas, aunque se hace evidente e indispensable la necesidad de confirmar; a través, del uso de herramientas moleculares y análisis multigénico que permitan distinguir con precisión cada aislamiento.

Pruebas de patogenicidad

En la prueba bajo condiciones controladas en laboratorio, se observó que los tallos inoculados sin herir no presentaron ningún signo de la enfermedad al igual que los testigos, mientras que los tallos con heridas presentaron los síntomas característicos en un lapso de 8 a 10 días. La prueba de patogenicidad en campo fue positiva para *F. circinatum* y *F. mangiferae* en todos los árboles en los que fueron inoculadas. *F. mangiferae* desarrolló una pudrición y micelio visibles, necrosis coincidente con los síntomas esperados a las 72 h, mientras que *F. circinatum* lo hizo a las 92 h y en 50% de los árboles inoculados. Las plantas testigo permanecieron libres de la enfermedad a pesar de haber sido heridas.

Los síntomas descritos para la enfermedad son similares a los ocasionados por el género en el tronco del pino *Pinus halepensis* (García, 2011), pino ‘Alepo’ (Garbelotto *et al.*, 2007), durazno (Jacobs *et al.*, 2007), donde *F. circinatum* al bloquear los haces vasculares de las plantas, genera un marchitamiento de esta, con disminución en el tamaño y fortaleza. El daño que ocasionan se observa fácilmente al desprenderse la corteza, debajo de estas lesiones elongadas, oscuras a negras con abundante resina hay presencia de micelio si existe alta humedad relativa.

Las especies *F. lateritium* y *F. decemcellulare* no causaron los síntomas de la enfermedad en campo, esto contradice sus resultados en laboratorio, la importancia que tienen las condiciones ambientales es trascendente para que pueda llevarse a cabo el ciclo de una enfermedad.

Bioensayo de sensibilidad *in vitro* a fungicidas

El análisis de varianza indicó diferente respuesta en presencia de los fungicidas dependiendo del aislamiento. La interacción aislamiento por fungicida mostró alta significancia estadística, así como la prueba de comparación de medias de Tukey $\alpha=0.05$ ($p=0.0001$), en el efecto de los tratamientos empleados sobre los aislamientos evaluados a los 11 días de establecido el bioensayo (Figura 4).

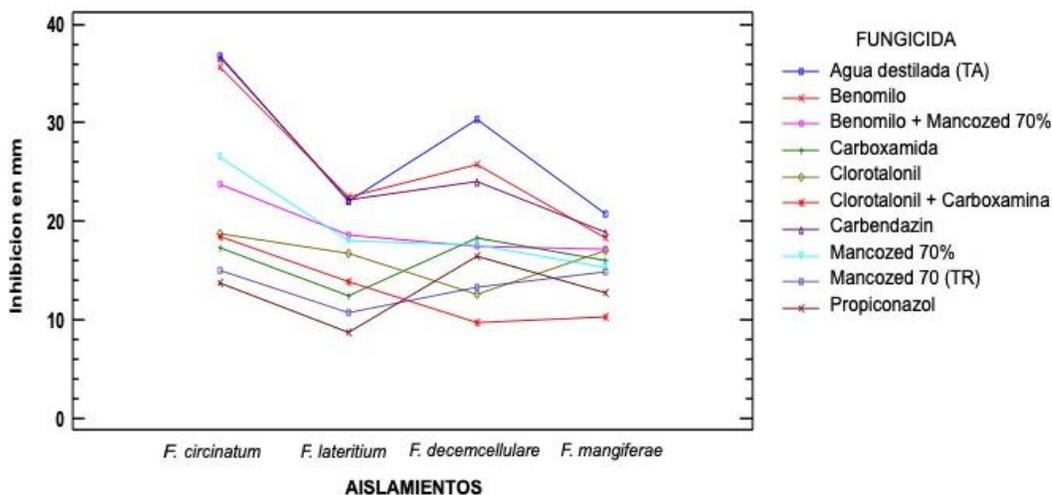


Figura 4. Interacciones, acción y efecto de los fungicidas, variación sobre las cepas del género *Fusarium*.

Los resultados de las pruebas de Tukey $\alpha= 0.05$ para *F. circinatum* mostraron que los mejores productos para la inhibición del crecimiento micelial fueron Propiconazol, Mancozed (TR), Carboxamida, Clorotalonil + Carboxamida y Clorotalonil. Los productos con menor inhibición fueron Benomilo, Carbendazin y agua destilada. Para el aislado *F. lateritium* los mejores efectos se presentaron con Propiconazol, Mancozed (TR) y Carboxamida, mientras que Mancozed, Benomilo + Mancozed, Benomilo, Carbendazin y agua destilada tuvieron la menor inhibición.

Para *F. decemcellulare* Clorotalonil + Carboxamida y Propiconazol fueron los mejores; Benomilo y Carbendazin tuvieron un bajo desempeño. *F. mangiferae* mostraron que los mejores productos para su inhibición fueron Clorotalonil + Carboxamida, Propiconazol; Mancozed (TR) y Mancozed 70%. El resto de los productos no tuvo buen desempeño.

Los resultados positivos observados con el uso de Propiconazol para *F. circinatum*, *F. lateritium* y *F. mangiferae* son similares a los reportados por Serrano *et al.* (2014) para *F. circinatum* aislado de plantas muertas de *Pinus radiata*, en donde fue eficiente. En *F. decemcellulare* tuvo un desempeño regular.

El fungicida Mancozed aplicado solo también ejerció un buen control sobre las cuatro especies, situación contraria a la referida por Mamza *et al.* (2010) en su evaluación sobre *F. pallidoroseum*, aislado de *Ricinus communis*. Sin embargo, cuando Mancozed 70% fue probado junto con Benomilo tuvo una respuesta baja para *F. circinatum* y *F. decemcellulare* y nula para *F. lateritium* y *F. mangiferae* donde se comportó como el testigo de agua destilada.

El Benomilo aplicado solo, tuvo un funcionamiento nulo al no evitar el crecimiento del micelio en ninguna de las especies probadas, situación cercana a la observada por Lara *et al.* (2013) para *F. oxysporum* de gerbera con secadera, Mendoza *et al.* (2011) con *F. nivale* y *F. oxysporum* en jícama *Pachyrhizus erosus*, Negrete *et al.* (2007) en *Fusarium* sp., aislado de Heliconia *Heliconia wagneriana* y Jiménez *et al.* (2007) con *Fusarium* sp., de Ginger *Alpinia purpurata* en ambos casos de pudrición radical.

El fungicida Carboxamida tuvo resultados variables, así cuando fue aplicado solo fue eficiente para las especies *F. circinatum* y *F. lateritium*, pero fue regular para *F. decemcellulare* y *F. mangiferae*. Cuando estuvo en combinación con Clorotalonil su efecto fue bueno para *F. circinatum*, *F. mangiferae* y *F. decemcellulare*, pero medio para *F. lateritium*, situación contraria a la reportada por Jiménez *et al.* (2007) donde tuvo un buen control. Finalmente, el fungicida Carbendazin no ejerció ningún control sobre el micelio de ninguna de las especies estudiadas, situación que dista de la reportada por Jiménez *et al.* (2007) y Negrete *et al.* (2007).

Conclusiones

De la corteza del panel de pica de hule con síntomas de pudrición mohosa se aislaron cuatro especies del género *Fusarium*. Este es un primer reporte que involucra este género. De acuerdo a las características morfológicas observadas el aislamiento Tux-01 correspondió a la especie *F. circinatum* Nirenberg & O'Donnell emend. Britz, Coutinho, Wingfield & Marasas. Tux-02 a *F. lateritium* Nees, Tux-03 a *F. decemcellulare* Brick y Tux-04 a *F. mangiferae* Britz, Winfield & Marasas.

En la tasa de crecimiento los aislados de *Fusarium* desarrollaron eficientemente sobre los medios de cultivo ZA, CDA y PDA no así sobre FLA donde tuvo un crecimiento discreto. Las pruebas de patogenicidad en laboratorio fueron negativas cuando no se hicieron heridas en el tallo, pero positivas cuando se realizaron heridas. El clon IAN-710 resultó susceptible a la acción de estos fitopatógenos. Las pruebas de patogenicidad en campo fueron positivas para *F. circinatum* y *F. decemcellulare*.

El estudio de sensibilidad *in vitro* a fungicidas mostró gran variación, la respuesta dependió de la especie y fungicida. Se hace evidente e indispensable la necesidad de confirmar a través del uso de herramientas moleculares y análisis multigénicos cada aislamiento descrito.

Agradecimientos

Al laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agrobiología ‘Presidente Juárez’, de la Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo, bajo la coordinación de la Dra. Ma. Blanca Nieves Lara Chávez quien ofreció el espacio necesario para llevar a cabo esta investigación.

Literatura citada

- AGI-Hule Región Papaloapan. 2012. Identificación y control de enfermedades de tableros de pica en plantaciones de hule. Tuxtepec, Oaxaca. Folleto técnico.
- Agrios, G. N. 2005. Plant pathology. Department of Plant Pathology University of Florida. Fifth edition. Elsevier Academic Press. USA. 922 p.
- Barnett, H. L. and Hunter, B. B. 1998. Illustrated genera of imperfect Fungi. 4th Ed. Burgess Publishing Company Minneapolis, Minnesota USA. 218 p.
- Beever, D. J. 1969. Nutrition of the silverleaf pathogen *Stereum purpureum* (Pers.) Fr. New Zealand journal of science. 12(4):268-275.
- Britz, H.; Coutinho T. A.; Wingfield, M. J.; Marasas, W. F. O. and Gordon, T. R. 1999. Establishment of *Gibberella fujikuroi* mating population in H for *Fusarium subglutinans* f.sp. pini. Appl. Environ. Microbiol. 65(3):1198-1201.
- Britz, H.; Wingfield, M. J.; Coutinho, T. A. and Marasas, W. F. O. 1998. Female fertility and mating type distribution in a South African population of *Fusarium subglutinans* f. sp. pini. Appl. Environ. Microbiol. 64(6):2094-2095.
- Christen, P. and Raimbault, M. 1991. Optimization of culture medium for aroma production by *Ceratocystis fimbriata*. Biotechnology Letters. 13(7):521-526.
- Dhingra, O. D. and Sinclair, J. B. 1985. Basic plant pathology methods. CRC Press, Inc. Boca Raton, Florida. 355 p.
- Fisher, N. L.; Burgess, L. W.; Toussoun, T. A. and Nelson, P. E. 1982. Carnation leaves as a substrate and for preserving cultures of *Fusarium* species. Phytopathology. 72(1):151-153.
- Frederico, J. C.; Aparecida, P. C. and Atamar, A. 1995. Rubber growing soils Sao Paulo, Brazil. Indian J. Natural Rubber Res. 8(2):75-84.
- Garbelotto, M.; Schweigkofler, W. and Shaw, D. 2007. First report of *Fusarium circinatum*, causal agent of pitch canker disease, from the roots of mature Aleppo pines in California. Online. Plant Health Progress doi: 10.1094/PHP-2007-0219-01-BR.

- García, S. I. 2011. *Diplodia pinea* (Desm.) Kickx y *Fusarium circinatum* Nirenberg & O'Donnell, principales hongos de chancro de las masas forestales de *Pinus radiata* D. Don del País Vasco. Tesis Doctoral. Universidad del País Vasco. 228 p.
- Goitia, W. y Rosales, C. J. 2001. Relación entre la incidencia de escolitidos y la necrosis del cacao en Aragua, Venezuela. Manejo Integrado de Plagas. 62(4):65-71.
- Grist, P.; Ken, M. and Lo, T. 1995. Modelling rubber growth as a function of climate and soils. Indonesian Rubber Research Institute: Imperata Project Paper 1995/6. 67 p.
- Huss, M. J.; Campbell, C. L.; Jennings, D. B. and Leslie, J. F. 1996. Isozyme variation among biological species in the *Gibberella fujikuroi* species complex (*Fusarium* section *Liseola*). Appl. Environ. Microbiol. 62(10):3750-3756.
- INIFAP. 2014. Potencial productivo de especies agrícolas de importancia socioeconómica en México. Primera edición. ISBN 978-607-425-766-3. 140 p.
- Jacobs, A.; Coutinho, T. A.; Wingfield, M. J.; Ahumada, R. and Wingfield, B. D. 2007. Characterization of the pitch canker fungus, *Fusarium circinatum*, from Chile. South Afr. J. Sci. 103.
- Jiménez, C. M.; Ávila, T. C.; Pedraza, M. E. y Rodríguez, A. G. 2007. Etiología de la pudrición radical de ginger *Alpinia purpurata* K. Schum y su control químico *in vitro*. In: Memoria de la quincuagésima tercera reunión anual de la sociedad interamericana para la horticultura tropical realizada en Morelia Michoacán, México.
- Klittich, C. J. R. and Leslie, J. F. 1992. Identification of a second mating population within the *Fusarium moniliforme* anamorph of *Gibberella fujikuroi*. Mycologia. 84(4):541-547.
- Klittich, C. J. R.; Leslie, J. F.; Nelson, P. E. and Marasas, W. F. O. 1997. *Fusarium thapsinum* (*Gibberella thapsina*): a new species in section *Liseola* from Sorghum. Mycologia. 89(4):643-652.
- Kvas, M.; Steenkamp, E. T.; Al Adawi, A. O.; Deadman, M. L.; Jahwari, A. A.; Marasas, W. F. O.; Wingfield, B. D.; Ploetz, R. C. and Winfield, M. J. 2007. *Fusarium mangiferae* associated with mango malformation in the Sultanate of Oman. Eur. J. Plant Pathol. 121:195-199. Doi 10.1007/s10658-007-9231-8.
- Kvas, M.; Marasas, W. F. O.; Wingfield, B. D.; Wingfield, M. J. and Steenkamp, E. T. 2009. Diversity and evolution of *Fusarium* species in the *Gibberella fujikuroi* complex. Fungal Diversity. 34(1):1-21.
- Lara-Chávez, M. B. N.; Belmonte-Ruíz, D. C.; Salgado-Salgado, R.; Ávila-Val, T. C.; Vargas-Sandoval, M.; Aguirre-Paleo, S.; García-Gutiérrez, A.; Olalde-Lira, G. G. y Guillén-Andrade, H. 2013. Etiología de la secadera en *Gerbera* sp. y su sensibilidad *in vitro* a fungicidas. In: Memoria del décimo quinto Congreso Nacional y primer Internacional de SOMECH, celebrado en Puebla, Puebla, México.
- Leslie, J. F. 1995. *Gibberella fujikuroi*: available populations and variable traits. Can. J. Bot. 73(Suppl. 1):S282-S291.
- Leslie, J. F. and Summerell, B. A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Blackwell Publishing. Iowa, USA. 387 p.
- Mamza, W. S.; Zarafi, A. B. and Alabi, O. 2010. *In vitro* evaluation of six fungicides on radial mycelial growth and regrowth of *Fusarium pallidoroseum* isolated from castor (*Ricinus communis*) in Samaru, Nigeria. Archiv. Phytopathol. Plant Protec. 43(2):116-122.
- Martínez, C. F. 1986. Las lecciones de historia. In: el hule en México. Ediciones Copilco, SA. México. 102-113 pp.

- Mendoza, G. Z. Y.; Rodríguez, G. G. A.; Ávila, V. T. C.; Ochoa, A. S. y Lara, Ch. M. B. N. 2011. Bioensayo de control *in vitro* de patógenos fúngos de la jícama (*Pachyrhizus erosus*). In: Memoria del décimo sexto Congreso Nacional de Ciencias Hortícolas, realizado en Culiacán, Sinaloa, México. 226 p.
- Negrete, G. R.; Pedraza, M. E.; Fernández, S.; Ávila, T. C. y Negrete N. 2007. Etiología y control químico *in vitro* de la pudrición radical en *Heliconia wagneriana* Petersen. In: Memoria de la quincuagésima tercera reunión anual de la sociedad interamericana de la horticultura tropical, realizada en Morelia, Michoacán, México. 190 p.
- O'Donnell, K.; Cigelnik, E. and Nirenberg, H. I. 1998. Molecular systematic and phylogeography of the *Gibberella fujikuroi* species complex. *Mycologia*. 90(3):465-493.
- O'Donnell, K.; Nirenberg, H. I.; Aoki, T. and Cigelnik, E. 2000. A multigene phylogeny of the *Gibberella fujikuroi* species complex: detection of additional phylogenetically distinct species. *Mycoscience*. 41(1):61-78.
- Otero-Colina, G.; Rodríguez-Alvarado, G.; Fernández-Pavía, S.; Maymon, M.; Ploetz, R. C.; Aoki, T.; O'Donnell, K. and Freeman, S. 2010. Identification and characterization of a novel etiological agent of mango malformation disease in México, *Fusarium mexicanum* sp. nov. *Phytopathology*. 100(11):1176-1184.
- Palma-Sandoval, 1993. Reportes de biotecnología. Contribución al estudio del crecimiento del hongo *Ceratocystis fimbriata* en medio de cultivo líquido y sólido para la producción de metabolitos volátiles. UAM. ORSTOM. 48 p.
- Picón, R.; Cervantes, O. L. E. y Hernández, C. J. M. 1997. Manual para el cultivo el hule *Hevea brasiliensis* Muell Arg. Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (INIFAP)-Centro de Investigación Regional Golfo Centro-Campo Experimental El Palmar. Tezonapa, Ver. Folleto técnico núm. 18. 103 p.
- Ploetz, R. C.; Vazquez, A. and Bensch, D. 1996. First report of *Fusarium decemcellulare* as a pathogen of mango in the United States. *Plant Disease*. 80(10):1207.
- Priyani, S. 1996. The growth, phase change and rejuvenation of trees with special reference to *Hevea brasiliensis* Müll. Arg. *Journal of the Rubber Res. Institute of Malaysia*. 78:1-14.
- Rojo, M. G.; Martínez, R. R. y Jasso, M. J. 2011. El cultivo del hule en México. Universidad Autónoma Indígena de México y Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo, Estado de México. Libros Técnicos. Serie Forestal. 317 p.
- Serrano, Y.; Elvira-Recuenco, M.; Conde, M.; Troya, M. T. and Raposo, R. 2014. *In vitro* evaluation of wood preservatives to prevent dispersal of pitch canker pathogen, *Fusarium circinatum*. *J. Phytopathol.* 163(9):783-786.
- SIAP-SAGARPA. 2016. Cierre de la producción agrícola por cultivo. Anuario estadístico de la producción agrícola. Consultado 17- 08-16 en <http://www.siap.sagarpa.gob.mx/>.
- Statpoint, V16.2.04. 2013. Statgraphics centurion XVI.I, statistical analysis system. Copyright 2009 by StatPoint Technologies, Inc. All rights reserved. V16:2:04.
- Steenkamp, E. T.; Wingfield, B. D.; Coutinho, T. A.; Wingfield, M. J. and Marasas, W. F. O. 1999a. Differentiation of *Fusarium subglutinans* f. sp. pini. By histone gene sequence data. *Appl. Environ. Microbiol.* 65(8):3401-3406.
- Trigiano, N. R.; Windham, T. M. and Windham, S. A. 2004. Plant pathology, concepts and laboratory exercises. CRC Press. 413 p.