



UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL
ESTADO DE MORELOS

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE
MORELOS

ESCUELA DE ESTUDIOS SUPERIORES DE XALOSTOC

**IDENTIFICACIÓN Y CONTROL QUÍMICO *in vitro*
DEL AGENTE CAUSAL DEL TIZÓN GOMOSO DEL
TALLO EN CUCURBITÁCEAS EN EL ORIENTE DE
MORELOS.**

**TESIS PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL GRADO DE INGENIERO FITOSANITARIO**

PRESENTA:

JESÚS ALBERTO BONILLA PÉREZ

DIRECTOR DE TESIS:

Dr. Dagoberto Guillén Sánchez

Codirector de Tesis: Dr. Daniel Bárcenas Santana



Cuatla, Morelos, Abril de 2021



DRA. JOSEFINA VERGARA SÁNCHEZ
DIRECTORA DE LA EESX
P R E S E N T E

Por medio del presente, los revisores de la Tesis que lleva por Título: "IDENTIFICACIÓN Y CONTROL QUÍMICO *in vitro* DEL AGENTE CAUSAL DEL TIZÓN GOMOSO DEL TALLO EN CUCURBITÁCEAS EN EL ORIENTE DE MORELOS.", que ha realizado la pasante **Jesús Alberto Bonilla Pérez** de la Licenciatura en Ingeniería en Fitosanitaria, otorgamos el **voto aprobatorio** para la impresión de la Tesis por haberse realizado las correcciones consideradas pertinentes de nuestra parte:

	Nombre	Puesto Firma
Dr. Dagoberto Guillén Sánchez	Director	_____
Dr. Daniel Bárcenas Santana	Co director	_____
Ing. Bartolo Jahen Muñoz	Revisor	_____
Dra. Yessica Flor Cervantes Adame	Revisor	_____
Ing. Juan Martín Lara Gallegos	Revisor	_____

Atentamente
Por una humanidad culta
Una universidad de excelencia

C.c.e Jesús Alberto Bonilla Pérez. Para su conocimiento.
Archivo.

Av. Nicolás Bravo S/N, Interior Parque Industrial Cuautla, Ayala, Morelos. C.P. 62715 Tel: (777) 329 7981 Ext. 6500 y 6501 Email: eesxalostoc@uaem.mx





Se expide el presente documento firmado electrónicamente de conformidad con el ACUERDO GENERAL PARA LA CONTINUIDAD DEL FUNCIONAMIENTO DE LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DEL ESTADO DE MORELOS DURANTE LA EMERGENCIA SANITARIA PROVOCADA POR EL VIRUS SARS-COV2 (COVID-19) emitido el 27 de abril del 2020.

El presente documento cuenta con la firma electrónica UAEM del funcionario universitario competente, amparada por un certificado vigente a la fecha de su elaboración y es válido de conformidad con los LINEAMIENTOS EN MATERIA DE FIRMA ELECTRÓNICA PARA LA UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE ESTADO DE MORELOS emitidos el 13 de noviembre del 2019 mediante circular No. 32.

Sello electrónico

DAGOBERTO GUILLEN SANCHEZ | Fecha:2020-08-10 12:39:25 | Firmante WdADQ6ulffd+BbDMgQZUyQiLA37TVnwm+CPhGkC99UtbY6j9LsYD+62+uVPB/2AKtSZnE2eQNsOC8RSe7nHacVug+U24iCpNmsljua6Jv3IbAKooh5hfpqmU6xcvH87hfJUXko m69757a9sNyf24OLcNpzNOAC/D0gLSWwn3S126zOpQRVO2ZoCDwJ7nTmoF5g+TgccKVS4bM5nvoDossFgHGGrfklw6jV65ByhbExj6fYxtCzYRldWgMH57RqBkyOpOTMnlmnc p4K7IjULFJIZRIIMGslsSMO4J22wHMvku6qZBKhlazs06qSCs66ZZ9uOujJy7wS+OYGtnaikKw==

BARTOLO JAHEN MUÑOZ | Fecha:2020-08-10 12:48:48 | Firmante CR17MwCMkrNmGbmS WUSfLK3z+ErRTVGrDTy3YYNg36XMMocbCJMBXyRqeApzWLKO/3HvRCVU0STZICS0c2Gxel5FR3jyBrTrUFq69rs1MoQBgfudTMQMVOd1Xk5vrvkQ mqTXgwLqXwKGjx6C2Z8FTJl2HJ+cjjiMKJz/Plll6z+cwVmS41b6hC7FeljH7SFenixADEcj0EKfZVycXaI9ycUbw71FhswWqfCjAcr9M2D6EOLjuCLJO+DYQpIFRKoTTxVerWMGW AYKbuQjaxD1zwZWphxbZlalaLYnZ8ojQhWceE3nK7Ytt0KyLBdoMmO2bGD2ephE/8KDzWeq+N8Ew==

YESSICA FLOR CERVANTES ADAME | Fecha:2020-08-10 13:51:03 | Firmante LbD3V4Hjv8uza7g6MH2aav+YwDONwx209gyRZHih73bLypqnHUQi/3WBSm0zOKIt+Ks0e5q5MHQB4zr1UuY4jBjialXftrkKjChjDv3vmOOO535JpQQHeKTo9KDaTT7zvYVihq Plis1co3OeqIBkF6g+uobXAj/wGbVvhhd4lxRje0Oxvzs4IQKMPJD79IK3W3vC2/BP31rk7wFVQap/wfNtAkclG2pqFsmhRRR0xP/X7qGS UxfUwUzm90CXUR0ovge4eMxZaJBx4tG RDHmu93EJCpNZdMTV01iyGWdaE7bIASJqh3CPy1OV2F/J7wRG9xV3Pkaajsd23kO3Hg==

DANIEL BÁRCENAS SANTANA | Fecha:2020-08-10 14:11:44 | Firmante Tmr3EpiIFho6AKfAnuO34RP3m0R15vE46vovGdZUaXx77TEfBaZbJfmaUZGTNeNlf89ZxBRH0iCJDFUGRdByTO42DpmTFjqi0hwQUf mwVwPY7t1/08DNUufryEsLsv1oucchqnp UxdqNGLXaAT+iFOYiL/x85TWNyht6zTf2qXM3DAooEtQbxjlvPwfv9mX3YLEWIEDGrEwQZwdzgzFmFUAUJJPp84j/nx+bmzVGVWISAbao/ft3hzvWb1++Vico6HHvbnKBKSUV03qGETt++45ngqvr0Bw+/6wtuw8i+vdUxinCLg5gMdlErIHyghkOC8fEEvziSqDvqEXQl8pwnQ==

JUAN MARTIN LARA GALLEGOS | Fecha:2020-08-11 17:22:46 | Firmante Q7truUvd6jWMjx3XxaLFg4P9rBtJkK+LQIFnoaXdVcNmUgqiS9hG2rRwCIR0LBkcYjtzVZjExnFcXj0Zx/8DLSposTH+S0Y6N0jT+c+0RfW uagpknfhNd3LYEYeEU7TdWxM0iOfQOF3 Xi337eWvaTD3xMr20akOfCat38IAQKe04D0lswcqo4Vkcj9ZT02En83NyJUUpVAUzW6teA5guL/1XCV59pYxsI0J3tMsaxygzMYZwN7ufih rL9sX1TyR7H2A3oVwRoxk7CKlufwmYI 0dS1563bCIVEVsQck3cFdQi/8PvQG1lwqLhpNfMQMwPwIjbgbjZi2wpVhj+86WQ==

Puede verificar la autenticidad del documento en la siguiente dirección electrónica oescaneando el código QR ingresando la siguiente clave:



C63hG1

https://efirma.uaem.mx/noRepudio/Uckzju2SdluvCRJpTh1C7M2ddrEk4t



AGRADECIMIENTOS

A la **Universidad Autónoma del Estado de Morelos** por permitirme continuar con mis estudios a través de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc, hicieron posible la obtención del presente título académico.

Al **Dr. Dagoberto Guillén Sánchez** por su amistad, paciencia, conocimientos y apoyo constante para la iniciación y culminación de esta presente tesis.

Al **Dr. Daniel Bárcenas Santana**, por las enseñanzas fundamentales, amistad, paciencia y sugerencias obsequiadas en mi formación profesional y durante la realización de la presente tesis.

A la **Lic. Leticia Lira Álvarez** por su amistad y apoyo mostrado durante la realización de esta tesis.

A mis profesores de la **Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc** por sus conocimientos aportados y apoyo a lo largo de mi carrera universitaria.

DEDICATORIA.

Con todo mi amor y cariño dedico esta tesis a mis queridos padres, por su apoyo moral, económico y deseos de superación, a lo largo de toda mi vida. Gracias a sus consejos y palabras de aliento me han ayudado a crecer como persona y a luchar por lo que quiero.

A mi esposa y a mi hija por su cariño, amistad, apoyo constante y ayuda en los momentos difíciles.

A mis hermanos gracias por el apoyo que siempre me brindaron a lo largo de mi carrera universitaria.

“Si no persigues lo que quieres, nunca lo tendrás. Si no vas hacia delante, siempre estarás en el mismo lugar”.

ÍNDICE GENERAL

	PAG.
Índice de figuras	ix
Índice de cuadros.....	xi
Resumen	xii
Abstract	xiii
I. INTRODUCCIÓN	1
II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS	3
2.1 Objetivos.....	3
2.2 Hipótesis.....	3
III. REVISIÓN DE LITERATURA	4
3.2. Taxonomía, origen y características generales.....	4
3.3 Principales enfermedades de las cucurbitáceas.....	6
3.3.1 Enfermedades virales de las cucurbitáceas.....	6
3.3.1.1 Virus del mosaico del pepino (CMV).....	6
3.3.1.2 Virus de la mancha anular del papayo.....	7
3.3.1.3 Virus mosaico de la calabaza.....	8
3.3.1.4 Virus mosaico de la sandía.....	8
3.3.1.5 Virus mosaico amarillo del Zuchini.....	9
3.3.2 Enfermedades bacterianas de las cucurbitáceas.....	10
3.3.2.1 Mancha foliar angular de las cucurbitáceas (<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>).....	10
3.3.2.2 Pudrición bacteriana o pudrición blanda (<i>Erwinia carotovora</i>).....	11

3.3.2.3 Mancha bacteriana de la hoja (<i>Xanthomonas campestris</i> pv. <i>cucurbitae</i>).....	13
3.3.2.4 Marchitez bacteriana de las cucurbitáceas (<i>Erwinia tracheiphila</i>).....	14
3.3.3 Enfermedades fungosas de las cucurbitáceas.....	15
3.3.3.1 Cenicilla (<i>Erysiphe cichoracearum</i>).....	15
3.3.3.2 Mildiu (<i>Pseudoperonospora cubensis</i>).....	15
3.3.3.3 Tizón foliar temprano (<i>Alternaria cucumerina</i>).....	16
3.3.3.4 Antracnosis (<i>Colletotrichum orbiculare</i>).....	17
3.3.3.5 Mancha foliar (<i>Cercospora citrullina</i>).....	17
3.3.3.6 Pudrición por <i>Phytophthora</i>	18
3.3.3.7 Pudrición por <i>Fusarium</i>	18
3.3.3.8 Pudrición gris (<i>Botrytis spp</i>).....	19
3.3.3.9 Tizón gomoso de las cucurbitáceas (<i>D. bryoniae</i> (Auersw.) REM).....	19
3.3.3.10 Métodos de control.....	22
IV. MATERIALES Y MÉTODOS	24
4.1 Colecta de material.....	24
4.2 Aislamiento y purificación.....	24
4.3 Identificación morfológica.....	25
4.4 Pruebas de patogenicidad.....	26
4.4.1 Pruebas de patogenicidad en plántula.....	26
4.4.2 Pruebas de patogenicidad en fruto.....	27
4.5 Pruebas de efectividad de fungicidas <i>in vitro</i>	29

4.6 Análisis de datos.....	30
V. RESULTADOS Y DISCUSIONES.....	31
5.1 Síntomas e identificación del agente causal de del tizón gomoso de las cucurbitáceas.....	31
5.2 Identificación morfológica del agente causal.....	32
5.3 Pruebas de patogenicidad.....	33
5.4 Efectividad biológica de fungicidas sobre de <i>D. bryoniae</i>	37
VI. CONCLUSIONES.....	44
VII. LITERATURA CITADA.....	45

Índice de figuras

Figura 1. Método de siembra directa para el aislamiento del agente causal del tizón gomoso. a) Muestras de tallos de pepino enfermos; b) Trozos de tallos de calabaza enfermos; c) Siembra directa en PDA y d) Cepa obtenida de los aislamientos.....	25
Figura 2. Inoculación de plantas sanas con <i>Didymella bryoniae</i> : a) Inoculación con suspensión de esporas; b) Colocación de algodón húmedo con agua estéril; c) Colocación de parafilm en las zonas inoculadas; d) Planta después del proceso de inoculación y e) Plantas de sandía 15 días después de la inoculación.....	27
Figura 3. Inoculación de <i>Didymella bryoniae</i> en frutos de calabacita; a y b) Inoculación de frutos con suspensión de esporas y c) Frutos inoculados en cámara húmeda.....	28
Figura 4. Prueba de patogenicidad de <i>Didymella bryoniae</i> en frutos de pepino; a) Cámara húmeda con frutos inoculados; b) Frutos después de 4 días de inoculación y c) Evaluación del daño.....	28
Figura 5. Prueba de efectividad <i>in vitro</i> con diferentes fungicidas para el control de <i>Didymella bryoniae</i> . a) Preparación de los fungicidas, peso de las diferentes dosificaciones; b) Mezcla de PDA más el fungicida productos en polvo; c) Mezcla de PDA más fungicida liquido; d) Perforación de los discos de PDA + micelio de la cepa y e) Siembra del hongo en los diferentes tratamientos.....	29
Figura 6. Síntomas de tizón gomoso de las cucurbitáceas en el Oriente del estado de Morelos; a) Lesión y necrosis en tallo de pepino, b) Lesiones en peciolo y hojas de sandía y c) Gomosis en frutos de pepino.....	32
Figura 7. Agente causal del tizón gomoso de las cucurbitáceas a) Cepa de <i>D. bryonidae</i> y b) Picniosporas bajo microscopio compuesto a 40X.....	33
Figura 8. Síntomas en tallos de plántulas de calabaza inoculadas con <i>D. bryoniae</i> a) Tallo de calabaza inoculado con discos de PDA con micelio, pudrición del tallo, b) Tallo de calabaza inoculado con una suspensión de	

conidios, hendidura causada por el hongo y c) Tallo de calabaza sin inoculación del hongo (testigo).....	34
Figura 9. Síntomas en tallos de plántulas de pepino inoculadas con <i>D. bryoniae</i> a) Pudrición de tallo y presencia de gomosis, inoculación con discos de PDA con micelio, b) Pudrición de tallo y presencia de micelio, inoculación con una suspensión de conidios, y c) Tallo en la planta testigo.	35
Figura 10. Síntomas en tallos de plántulas de sandía inoculadas con <i>D. bryoniae</i> a) Pudrición y cancro de tallo, inoculación con discos de PDA y micelio, b) Hendidura de tallo, inoculación con una suspensión de conidios y c) Tallo en la planta testigo.....	35
Figura 11. Síntomas en frutos de pepino inoculados con <i>D. bryoniae</i> . a) Frutos inoculados con discos de PDA+ micelio, b) Frutos inoculados con una suspensión de esporas y c) Frutos testigos inoculados con discos de PDA y con agua destilada estéril.....	36
Figura 12. Síntomas en frutos de calabacita inoculados con <i>D. bryoniae</i> . a) Frutos inoculados con discos de PDA+ micelio, b) Frutos inoculados con una suspensión de esporas y c) Frutos testigos inoculados con discos de PDA y con agua destilada estéril.....	37
Figura 13. Efecto de fungicidas <i>in vitro</i> en la inhibición micelial de <i>Didymella bryoniae</i> en la octava evaluación.....	41
Figura 14. Efecto de Livanil, Folicur, Previcur Energy y Sportak 45 CE en tres diferentes dosis en el crecimiento colonial <i>in vitro</i> de <i>Didymella bryoniae</i>	42
Figura 15. Efecto de Cabrio C, Flunclín y Merivon en tres dosis diferentes en el crecimiento colonial <i>in vitro</i> de <i>Didymella bryoniae</i>	43

Índice de cuadros

Cuadro 1. Fungicidas sistémicos y de contacto para el control <i>in vitro</i> del agente causal del tizón gomoso de las cucurbitáceas.....	30
Cuadro 2. Efecto de fungicidas <i>in vitro</i> en la inhibición del crecimiento micelial de <i>Didymella bryoniae</i>	40

RESUMEN

Con el objetivo de identificar el agente causal del tizón gomoso del tallo de las cucurbitáceas en el Oriente del estado de Morelos y determinar de manera *in vitro* la efectividad de algunos fungicidas para su control, se colectaron muestras de cucurbitáceas con síntomas de tizón gomoso en calabaza y pepino, las cuales fueron trasladadas al laboratorio de Fitopatología de la Escuelas de Estudios Superiores de Xalostoc-UAEM para su proceso. Se realizaron aislamientos para obtener cultivos puros y corroborar el agente causal de la enfermedad. Se evaluó de manera *in vitro* los fungicidas Livanil, Folicur 250 EW, Previcur Energy, Sportak 45 CE, Cabrio C, Flunclin y Merivon en dosis alta, media y baja de acuerdo a la dosis de la etiqueta de recomendación. Los resultados obtenidos demuestran que el agente causal del tizón gomoso de las cucurbitáceas es *Didymella bryoniae*. Los productos que lograron inhibir el 100% del desarrollo del hongo fueron Folicur 250 EW y Sportak 45 CE y con menos del 80% Livanil, Previcur Energy y Funclin. En las pruebas de patogenicidad tanto en plántulas como en frutos se presentaron los síntomas característicos del tizón gomoso de las cucurbitáceas.

Palabras claves: *Didymella bryoniae*, fungicida, efectividad, plántula, cucurbitáceas y hongo.

ABSTRACT

With the objective of identifying the causal agent of the gummy blight of the stem of cucurbits in the East of the state of Morelos and determining in vitro the effectiveness of some fungicides for its control, samples of cucurbits with symptoms of pumpkin and cucumber gummy blight were collected, which were transferred to the Plant Pathology laboratory of the Schools of Higher Studies of Xalostoc-UAEM for its process. Isolations were performed to obtain pure cultures and corroborate the causative agent of the disease. Livanil, Folicur 250 EW, Previcur Energy, Sportak 45 CE, Cabrio C, Flunclín and Merivon were evaluated in vitro in high, medium and low doses according to the dose on the recommendation label. The results obtained demonstrate that the causative agent of the gummy blight of cucurbits is *Didymella bryoniae*. The products that managed to inhibit 100% of the development of the fungus were Folicur 250 EW and Sportak 45 CE and with less than 80% Livanil, Previcur Energy and Funclín. In the pathogenicity tests in both seedlings and fruits, the characteristic symptoms of cucurbit gummy blight were presented.

Key words: *Didymella bryoniae*, fungicide, effectiveness, seedling, cucurbits and fungus.

I. INTRODUCCIÓN

Las principales especies de cucurbitáceas que se cultivan en el mundo son el pepino (*Cucumis sativus* L.), melón (*Cucumis melo* L.), sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum & Nakai), y diferentes especies de calabaza (*Cucurbita pepo* L., *C. moschata* (Duchesne ex Lam.) Duchesne ex Poir y *C. máxima* Duchesne ex Poir.) (Lecoq *et al.*, 2012).

En México las cucurbitáceas se encuentran entre las hortalizas con mayor superficie sembrada con aproximadamente 91,000 ha. México ocupó el décimo lugar en la exportación de productos agroalimentarios como tomate, cebolla, ajo, pepino, pimiento, melón, sandía, y otras legumbres y hortalizas frescas. Los principales productores de calabaza en el país son Sonora, Sinaloa, Tlaxcala, Nayarit, Hidalgo, Puebla y Morelos (SAGARPA-SIAP, 2019). De pepino se sembraron 12, 466 ha en el 2019 en donde Sinaloa, Michoacán, Sonora y Guanajuato fueron los principales productores y Morelos se ubicó en octavo lugar con 423 ha. Sin embargo, en el cultivo de sandía se sembraron 25, 041 ha en donde Sonora, Veracruz, Jalisco y Nayarit destacan, pero por las condiciones y la edafología en Morelos solo se siembran 10 ha (SIAP, 2019).

Las cucurbitáceas son afectadas por diversas enfermedades fungosas que merman su producción (Keinath, 2008). Dentro de ellas se encuentran la cenicienta (*Sphaerotheca fuliginea*) (Schelecht) Pollacci), pudrición gris (*Botryotinia fuckeliana* deBary) Whetrel), pudrición blanca (*Sclerotinia sclerotiorum* (Lib) de Bary), cancro gomoso del tallo (*Didymella bryoniae*) (Auersw) REM. Sin embargo, en los últimos años *Didymella bryoniae* se ha presentado frecuentemente ocasionando pérdidas superiores al 60 % de la producción. Dicho patógeno afecta desde estado de plántula hasta postcosecha por lo que se le ha considerado un hongo cosmopolita y afecta exclusivamente a cucurbitáceas tales como pepino, calabaza, sandía y melón, entre otras. Los síntomas que origina este hongo en sus hospedantes puede ser cáncer en tallos, en donde hay gomosis color ámbar, manchas en hojas y peciolo de color amarillento, que progresa hasta su muerte

ocasionando defoliación y pudrición de frutos, los daños pueden ser severos conforme avanza la infección en las partes afectadas (Matias, 2018).

Los estudios sobre control de este hongo son escasos y las prácticas de manejo para *D. bryoniae* ha sido utilizar semillas tratadas con fungicidas, rotación de cultivos en un ciclo de dos años para reducir la prevalencia del inoculo. Sin embargo, no existen variedades en México resistentes o tolerantes a este patógeno. Algunos mejoradores han encontrado que el gen *db* en sandía le da tolerancia a este patógeno. Cuando se tienen problemas en campo se han realizado aplicaciones de benzimidazoles, pero el uso frecuente ha generado resistencia (Norton, 1979). Por ello la necesidad de realizar esta investigación para contrarrestar la baja producción debido a que en los últimos años la demanda de las cucurbitáceas se ha incrementado dentro del mercado en la región oriente del estado de Morelos, ya que tiene un elevado índice de consumo per-cápita. Los niveles de producción de las cucurbitáceas aún se mantienen por debajo de la demanda, la causa fundamental de ello se debe al ataque de hongos en especial el causante de tizón gomoso de las cucurbitáceas. Adicionalmente a la falta de asesoría los productores no saben el manejo de la enfermedad debido a su parecido con los síntomas de otros agentes causales (Piunithalingam *et al.*, 1972). Los productos químicos que se aplican, no se conoce su efectividad sobre este patógeno, lo cual ha generado incertidumbre dentro de los productores por ello se planteó esta investigación.

II. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

2.1 Objetivos

- Identificar el agente causal del tizón gomoso del tallo de las cucurbitáceas en el Oriente del Estado de Morelos.
- Evaluar la efectividad *in vitro* de fungicidas para el control del agente causal del tizón gomoso de las cucurbitáceas

2.2 Hipótesis

- El agente causal del tizón gomoso del tallo de las cucurbitáceas en el oriente del Estado de Morelos es ocasionado por un hongo y al menos un fungicida a evaluar será capaz de controlar al agente causal del tizón gomoso.

III. REVISIÓN DE LITERATURA

3.1 Importancia de las cucurbitáceas

La familia Cucurbitácea constituye un grupo vegetal muy importante desde el punto de vista económico, nutricional, medicinal y cultural. Algunas de sus especies se emplean en la medicina popular para el tratamiento de diferentes enfermedades y muestran numerosas propiedades farmacológicas muy importantes. De las cucurbitáceas se consumen los frutos, flores y semillas. La diversidad de los cultivares y la facilidad con que las especies de *Cucurbita* se hibridan lleva a mucha confusión acerca de su nomenclatura (Basurto *et al.*, 2018). Otras especies cultivadas o silvestres de esta familia, por su valor nutritivo, constituyen una parte fundamental de la dieta de los seres humanos y de los animales, en muchísimos países del mundo, durante todo el año, y se consume como alimento fresco, cocido o encurtidos (Ahmed, 2006).

3.2 Taxonomía, origen y características generales

El género está compuesto por 820 especies dentro de 120 géneros. Estos están subdivididos en dos subfamilias Cucurbitoidae y Zanonioideae, ampliamente distribuidas en las regiones tropicales y subtropicales del mundo (Lima *et al.*, 2018).

Las especies de la familia *Cucurbitaceae* poseen muchos nombres vulgares. Los mismos han sido asignados en diferentes regiones a variadas especies, con una gran multiplicidad de nombres. Sin embargo, la clasificación de esta familia se ubica en el Reino: Plantae, Subreino: Tracheobionta, superdivision: Spermatophyta, División: Magnoliophyta, Orden: Violales, Familia: Cucurbitaceae (Cabrera, 1993). Esta familia tiene los géneros de importancia agrícola y alimentaria a *Curcubita*, *Citrullus*, *Cucumis* y *Sechium*.

El punto de origen de la calabaza de este género fue América. Sin embargo, no fue conocido en el resto del mundo hasta la llegada de los españoles a este continente. Los nombres comunes más difundidos en la lengua española son los de zapallo o calabaza. El género *Cucurbita* tuvo sólo dos centros de origen en el

continente americano: el primero localizado en México para las especies *C. pepo*, *C. moschata*, *C. angyrosperma* y *C. ficifolia* y el otro ubicado en el sur de Perú, Bolivia y el Norte de Argentina que corresponde a la especie *C. maxima*, domesticada a partir de *C. máxima ssp. andreana* (Naudin) Filov. (Della *et al.*, 2013).

Existe suficiente evidencia arqueológica para considerar que las cucurbitáceas comenzaron a cultivarse por primera vez, de manera sistemática, en Mesoamérica, en la zona que corresponde a los estados de Puebla, Oaxaca y el Estado de México. Su cultivo también se practicó en épocas prehispánicas en prácticamente todo el resto de Mesoamérica, en la trilogía milpera, junto con el maíz y el frijol, conocida a veces como "Las Tres Hermanas". También se conoció y se cultivó en otras culturas americanas, como en el caso del Perú, donde se ha encontrado cerámica Mochica con representación del zapallo. Más tarde, a partir del siglo XVI, se llevó a Europa, Asia y África (Ortiz, 2015).

Las cucurbitáceas son una típica enredadera, herbácea, de tallos trepadores (guiadora trepadora), con nudos y entrenudos bien definidos. En cada uno de estos se origina una hoja, un zarcillo con el que se enreda al soporte, una yema en la axila de la hoja, y raíces adventicias que se desarrollan si el nudo está sobre la tierra. Las hojas se pueden encontrar simples palmeadas o lobuladas, palminervias. Además, poseen flores unisexuales, solitarias, axilares, opuestas a los zarcillos; el cáliz verdoso y estrellado; la corola pentalobulada, generalmente de color amarillo; androceo con estambres retorcidos, sinfiandro; ovario, tricarpelar (Valla, 2005).

Las flores abren al alba y se polinizan en la mañana de un solo día. Las masculinas, de pedicelo delgado y largo, se originan en más cantidad y más cercanas al lugar de germinación. En las femeninas se observa, en una vista lateral, el pequeño fruto (ovario) en su parte inferior y un pedicelo más grueso y cortó que el de las masculinas. Estas últimas, son producidas en menor cantidad, poseen más néctar, y se originan más alejadas del punto de germinación. La polinización es realizada por insectos tanto generalistas como especialistas. Son

plantas "monoicas", un solo pie para los dos sexos. El fruto es un pepónide, por lo general grande. Las semillas son planas, con endospermo escaso, ricas en aceite, y con cotiledones muy desarrollados (Esteras *et al.*, 2012; Zegarra *et al.*, 2012).

3.3. Principales enfermedades de las cucurbitáceas

Las enfermedades producidas por hongos, bacterias y virus son muy comunes dentro de las cucurbitáceas, sobre todo cuando las condiciones ambientales son muy favorables. En muchas ocasiones el manejo agronómico no es suficiente para minimizar el impacto negativo de estos microorganismos (Laínez *et al.*, 2008).

3.3.1 Enfermedades virales de las cucurbitáceas

3.3.1.1 Virus del mosaico del pepino (CMV)

Entre todas las enfermedades que atacan al pepino, el virus mosaico del pepino (CMV) es la más importante, la cual proviene del género de los Cucumovirus. Este virus tiene una amplia distribución en el mundo y es uno de los más infecciosos y destructivos, generando pérdidas significativas en pepino y gran cantidad de hortalizas, legumbres y frutos, principalmente en el desarrollo en campo. Este patógeno es causante de pérdidas económicas en hortalizas cultivadas a campo abierto a nivel mundial. La gravedad de esta enfermedad varía dependiendo de la presencia de los síntomas para su detección, ya que puede generar la muerte total de la planta afectada en tan solo semanas. Cabe resaltar que los virus son difíciles de combatir al no tener control de los vectores de la enfermedad (FAO, 2018).

Los síntomas del CMV varían de acuerdo con la estructura del virus y la expresión de los síntomas en el cultivo. El síntoma característico de la enfermedad es el mosaico color verde o amarillo generado en las hojas del cultivo, color que puede continuar hasta generar clorosis generalizada y finalmente necrosis. Otros síntomas que presenta son el enanismo (disminución del desarrollo de la planta), las hojas comienzan a generar una curvatura, presentan deformación y reducen

el tamaño de la lámina foliar (en casos severos solo quedan las nervaduras de la hoja), aspecto rugoso en la epidermis y sufren decoloración (SAGARPA, 2018).

En el control se recomienda utilizar variedades resistentes y semilla certificada libre de virus. Eliminar las malezas localizadas cerca del cultivo. Cubrir los cultivos durante los periodos de migración de los áfidos para mantener los cultivos libres de la infección del virus. Es recomendable también, no establecer plantaciones jóvenes al lado de cultivos viejos, ya que estos podrían servir como reservorios del virus y pulgones (Persley, *et al.*, 2010).

3.3.1.2 Virus de la mancha anular del papayo

El virus de la mancha anular del papayo (PRSV) es transmitido por los áfidos *Myzus persicae* y *Aphis gossypii* en forma no persistente. La semilla no es portadora. Este virus existe en dos formas: PRSV-W, que afecta sólo a cucurbitáceas, causando síntomas de mosaico de color amarillo a verde en las hojas, y PRSV-P, que infecta a papayas y cucurbitáceas. Estos virus están muy interrelacionados y resulta casi imposible distinguirlos, excepto por pruebas realizadas en plantas hospederas de PRSA-P, que son menos vigorosas, producen menor cantidad de fruto, y su calidad sobre todo el sabor, se ve disminuida (Zitter, *et al.*, 2004).

Los síntomas de las plantas afectadas muestran señales graves de mosaico moteado amarillo y distorsión y ampollas en las hojas. En ocasiones se presenta el síntoma del 'cordón' por el cual una pequeña cantidad de tejido foliar permanece en torno a las venas principales. También pueden verse marcas verdes oscuras sobre trazas acuosas verde claro en hojas y tallos. Pero los síntomas más distintivos se presentan en los frutos, con anillos verde oscuro sobre verde claro, manchas y marcas en forma de 'C'. Estos se vuelven de color naranja-café oscuro a medida que madura el fruto (Blancard, *et al.*, 2005).

Para el manejo se recomienda hacer aplicaciones de insecticidas para el control de áfidos vectores para limitar la diseminación del virus en infecciones primarias, pero suelen ser ineficaces en la prevención de posteriores infecciones.

Los plásticos que repelen áfidos al reflejar la luz ultra violeta son también útiles, principalmente en áreas desérticas donde suele haber luz solar continua. Sin embargo, la utilización de variedades resistentes o tolerantes al PRSV-W es la herramienta más exitosa y ampliamente usada para la producción de cucurbitáceas (Zitter, *et al.*, 2009).

3.3.1.3 Virus mosaico de la calabaza

El virus mosaico de la calabaza (SqMV) es uno de los muchos virus que producen mosaicos en las cucurbitáceas. El SqMV ocurre naturalmente en pepino, melón y diferentes clases de calabazas, pero generalmente no es encontrado en sandía. Esta enfermedad fue notificada por primera vez en 1916 y su propagación vía semilla en 1934. El uso extensivo de semillas libres de virus ha reducido enormemente su importancia económica. Se sabe que el virus aparece en varios países donde las semillas infectadas proporcionan un medio muy eficaz de diseminación local y a gran distancia. La propagación de este virus en el campo depende de la presencia de escarabajos del pepino (Lecoq, 2003).

Los síntomas causados por SqMV son variables y depende de las especies hospederas y del cultivar. Las hojas pueden manifestar una variedad de mosaicos, moteados, bandeado venal verde oscuro y manchas anulares. En algunos casos las plantas afectadas pueden desarrollar severas venaciones (hojas pequeñas, deformadas e hinchamiento de la lámina foliar). Las plantas pueden presentar enanismo, los frutos se deforman y generalmente muestran cambios en su coloración (Conti *et al.*, 2000).

Para el control se recomienda utilizar semilla certificada libre del virus, sigue siendo el método más eficaz para disminuir la incidencia del virus. La propagación del virus en el campo se puede reducir mediante la aplicación de insecticidas para controlar los escarabajos vectores (Fauquet, *et al.*, 2005).

3.3.1.4 Virus mosaico de la sandía

El virus del mosaico de la sandía (WMV) ha sido reportado en varias partes del mundo, incluyendo Australia, Checoslovaquia, Chile, Francia, Hungría, Irán,

Israel, Italia, Japón, México, Nueva Zelanda, USA, Venezuela y Yugoslavia (DPVweb, 2012). El WMV que antiguamente fue llamado WMW-2, puede infectar a la mayoría de las cucurbitáceas y 170 especies en 26 familias de monocotiledóneas y dicotiledóneas. La enfermedad puede estar presente en zonas templadas y tropicales; ha sido observada en la mayoría de los países en los que se cultivan cucurbitáceas. Además de las cucurbitáceas, WMV afecta de manera natural a zanahoria, chícharo y orquídeas (Ferguson, *et al.*, 1993).

Los síntomas varían de acuerdo a la especie de cucurbitácea. En hojas se pueden presentar mosaicos, bandeado venal, deformación de hojas, ampollas y reducción de la lámina foliar. Sobre los frutos puede haber decoloración severa y deformaciones ligeras, en este último caso sólo se observan con algunas variedades y algunas cepas del virus (Fisher, 2013).

Para el control se sugiere eliminar malezas aledañas a las zonas de cultivo y evitar establecer nuevos cultivos cerca de plantaciones viejas para reducir la presencia del virus. La utilización de acolchados con plásticos repelentes contra áfidos puede ayudar a retardar la diseminación de la enfermedad, sin embargo, su acción es temporal, ya que su eficiencia decrece a medida que va creciendo el cultivo y cubre el plástico. El uso de variedades resistentes es probablemente la mejor estrategia para el manejo del WMV (Host, 2008).

3.3.1.5 Virus mosaico amarillo del Zuchini

El virus mosaico amarillo del Zuchini (ZYMV) provoca importantes pérdidas económicas en cucurbitáceas cultivadas alrededor del mundo. El mosaico amarillo del calabacín ha llegado a tener una gran importancia económica desde que fue reconocido en 1981, ya que ha causado epidemias devastadoras. El agente causal, el virus del mosaico amarillo del calabacín (ZYMV), fue reportado casi simultáneamente en Italia y Francia, donde se le dio el nombre de virus del enanismo amarillo del melón (Desbiez, *et al.*, 1997).

El virus afecta principalmente melón, sandía y calabaza. Los síntomas típicos en hojas suelen ser mosaicos amarillos, deformaciones, ampollas,

reducción de la lámina foliar, clorosis seguida de necrosis y enanismo de la planta. Las plantas afectadas disminuyen el amarre de fruto y fructificación. En los frutos de calabaza se desarrollan áreas nudosas que causan deformaciones prominentes. Los frutos del melón y de la sandía son también deformes y suelen desarrollar profundas grietas longitudinales y radiales. La producción de semilla se reduce drásticamente, y las semillas son frecuentemente deformes (Coutts, *et al.*, 2003).

El control del virus mosaico amarillo del Zuchini (ZYMV) es sumamente difícil con el uso de insecticidas, cubiertas reflejantes y aceites minerales. Se pueden obtener mejores resultados mediante el uso de cultivares resistentes a la enfermedad. En años recientes se han desarrollado nuevas líneas de calabaza que poseen el gen de la proteína de la envoltura de este virus, y se ha demostrado que es resistente en condiciones de campo. El gen de la proteína de la envoltura ha sido también incorporado al melón y al pepino (Duffus, 1987).

3.3.2 Enfermedades bacterianas de las cucurbitáceas

3.3.2.1 Mancha foliar angular de las cucurbitáceas (*Pseudomonas syringae p.v. lachrymans*)

La mancha foliar angular es causada por la bacteria *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. Es una enfermedad que afecta la mayoría de las cucurbitáceas como el pepino, el calabacín, calabazas, melones y sandías. Esta enfermedad fue identificada por primera vez en EEUU y está muy extendida por las zonas de cultivo de cucurbitáceas. En España sólo ha sido identificada en Almería. Las temperaturas y la humedad elevada parecen ser factores favorables para la enfermedad. La bacteria puede penetrar en las hojas a través de los estomas o heridas, por lo que su diseminación es fácil a través del agua de lluvia o riego. Produce manchas angulares en las hojas de 7 a 8 mm de tamaño delimitadas por las nervaduras. En algunos casos la parte central de la hoja cae, dando aspecto de cribado. Estas manchas pueden converger formando áreas necróticas de mayor tamaño. La mancha foliar angular afecta todas las partes aéreas de las cucurbitáceas (hojas, peciolo, tallos y frutos). Los síntomas iniciales son

pequeñas lesiones acuosas, redondeadas a irregulares, con presencia o no de halo clorótico. A medida que la lesión aumenta de tamaño se observan manchas marrones y angulares, debido a la limitación que producen las venas de las hojas en el crecimiento del patógeno. En lesiones viejas el tejido necrótico se desprende, dejando un agujero en la hoja. Las lesiones en las frutas usualmente son circulares y más pequeñas que las de las hojas. Cuando el patógeno afecta el fruto, éste puede ocasionar aborto, deformaciones o lesiones superficiales agrietadas de color blanco. Las grietas sobre los tejidos permiten la entrada de patógenos secundarios ocasionando la pudrición interna del fruto. Bajo condiciones de humedad, se pueden observar exudaciones sobre el fruto que con el tiempo se secan formando costras blanquecinas (Beltrá, *et al.*, 1994).

Para el manejo se recomienda utilizar semillas certificadas o variedades tolerantes. Evite excesivas fertilizaciones nitrogenadas. Haga rotación de cultivos con intervalos de 3 o más años sin sembrar cucurbitáceas. Mantenga el follaje seco limitando el riego por aspersión. Aplicación de insecticidas para prevenir heridas y tratamientos preventivos con compuestos a base de cobre (Colino, *et al.*, 2004).

3.3.2.2 Pudrición bacteriana o pudrición blanda (*Erwinia carotovora*)

Se encuentra distribuidas por todo el mundo y producen pérdidas considerables de cosechas en el campo, durante su transporte y en el almacenamiento, dando como resultados pérdidas totales, mayores que en cualquier otra enfermedad bacteriana. Dichas pudriciones producen pérdidas económicas considerables al disminuir la cantidad de productos disponibles para la venta, al disminuir la calidad y por tanto el valor en el mercado de las cosechas y al incrementar excesivamente los gastos de medidas preventivas para combatir las enfermedades y en la preparación de la producción parcialmente afectada para su uso (Castaño, 1993).

Las condiciones favorables para el desarrollo de la enfermedad son alta humedad relativa y temperaturas entre 25 y 35°C, siendo la óptima 22°C. Esta bacteria puede sobrevivir en el suelo, agua de riego, raíces de malas hierbas,

material vegetal, etc. Suele penetrar por heridas en el cuello de las plantas o ser arrastrada por lluvia o viento a la parte aérea de la misma. Se produce una pudrición húmeda y blanda del tallo a distintos niveles. En el exterior se observan zonas negruzcas y húmedas, y en el interior la médula pasa de estar inicialmente parda hasta pudrirse, tomando un color oscuro, reblandeciéndose y desprendiendo un olor nauseabundo. Al principio, en los tejidos de dichos órganos aparece una pequeña lesión aguanosa que se extiende con rapidez en diámetro y profundidad. La zona afectada se ablanda y suaviza. La superficie puede quedar manchada y algo hundida o bien puede arrugarse y quedar ampulosa. Por lo común, los bordes de las lesiones están bien definidos al principio, pero más tarde se hacen borrosos. Los tejidos de la zona afectada se opacan en corto tiempo o adquieren un color crema y se vuelven mucilaginosos, desintegrándose hasta formar una masa blanda de células desorganizadas. En algunos frutos y tubérculos, la superficie externa puede permanecer intacta, a diferencia de todos sus contenidos que cambian hasta constituir un líquido turbio. Sin embargo, es más frecuente que se formen grietas y que exuden de ellas masas mucilaginosas hasta la superficie, cuando se expone al aire, se vuelve color canela, gris o café oscuro. Un fruto o tubérculo completo puede transformarse en una masa putrefacta blanda, aguanosa e incolora al cabo de un período de 3 a 5 días. Los frutos y tubérculos infectados de muchas plantas casi no tiene aroma alguno hasta que se colapsan sus tejidos infectados, después de lo cual 93 las bacterias secundarias, hacen que los tejidos se descompongan, producen un olor desagradable. Sin embargo, las cebollas y crucíferas, cuando han sido infectadas por bacterias de la pudrición blanda, casi siempre desprenden un olor sulfuroso repulsivo (Cepeda, 1996).

Se pueden utilizar los siguientes químicos para prevenir la incidencia de algunas bacterias: Sulfato de cobre, Hidroxido de cobre, Oxidocloruro de cobre, Kasugamicina, Sulfato de estreptomicina y Oxitetraciclina (Díaz, *et al.*, 1993).

3.3.2.3 Mancha bacteriana de la hoja (*Xanthomonas campestris* pv. *cucurbitae*)

Esta bacteria ha sido reportada en algunos países, principalmente en Australia, en la India y en Estados Unidos, sobre pepino y sobre calabaza. Este último huésped es atacado en Francia, en el Sudoeste; los daños son graves en ocasiones, especialmente durante el periodo de conservación; pueden llegar a pudrirse un 30% de los frutos durante el almacenamiento invernal (Blancard, *et al*; 1996).

La enfermedad brota esporádicamente en verano e invierno en calabacita, calabaza, calabacín y pepinos, en áreas templadas y en áreas húmedas y calientes, incluyendo Australia, Francia, India, Japón, Trinidad y Tobago, y Estados Unidos (Hopkins, *et al*; 1996).

Los síntomas suelen producir unos síntomas bastante discretos pero muy característicos sobre las hojas, pero se observan antes otros síntomas sobre los frutos. Al llegar los frutos a la madurez y sobre todo durante la conservación, la bacteria, localizada en las manchas cancrasas, se desarrollan en profundidad provocando una pudrición marrón, la licuefacción de la pulpa y la contaminación de las semillas. Unos pocos frutos podridos en contacto con frutos sanos bastan para crear focos de pudrición evolutivos (Barnett, *et al*; 1987).

No existe ningún medio de lucha verdaderamente eficaz. Se aconseja evitar los excesos de humedad, especialmente la presencia de agua libre sobre las plantas. El riego por aspersión es muy favorable al desarrollo y a la extensión de esta bacteria; así pues, conviene evitar este método de riego. Si es inevitable, regar preferentemente por la mañana (nunca al atardecer) para que las plantas puedan secarse rápidamente durante el día. Las aplicaciones de cobre en forma de caldo bordelés, mojando bien las plantas, permiten limitar la evolución de la enfermedad, sobre todo si se realizan precozmente y se renuevan después de cada lluvia o riego por aspersión. Durante el período de cultivo y al término de éste, eliminar los restos vegetales y sobre todo los frutos afectados. Recolectar solamente los frutos aparentemente sanos. Al siguiente ciclo conviene ante todo

utilizar semillas sanas, obtenidas a partir de frutos sanos. Estos frutos deben ser elegidos con mucho cuidado; en ningún caso, por cuestión de economía, se deben recoger las semillas de frutos alterados. Las semillas pueden desinfectarse con hipoclorito de sodio, aunque la eficacia de esta infección no ha sido comprobado (Holliday, 1980).

3.3.2.4 Marchitez bacteriana de las cucurbitáceas (*Erwinia tracheiphila*)

Esta bacteria se encuentra en varios países de Asia, África y sobre todo en América del Norte. Afecta a varias cucurbitáceas cultivadas y silvestres, pero solo se observan daños importantes en cultivos de melón y de pepino. Se ha señalado en Europa, pero no parece atacar actualmente en Francia, quizás debido a la ausencia de insectos vectores. Provoca graves daños en Estados Unidos, particularmente sobre melón y pepino y en un grado menor sobre las calabazas. La sandía es particularmente inmune (Boothroyd, *et al*; 1978).

Provoca inicialmente el marchitamiento de algunas hojas y posteriormente de ramas enteras. Cuando se corta el tallo transversalmente, se ve que contiene una sustancia pegajosa muy característica de la enfermedad, que forma un hilo cuando se separan delicadamente las dos partes del tallo (Chupp, *et al*; 1960).

Las medidas de control cuando sobreviene la enfermedad en un cultivo, conviene eliminar rápidamente las primeras plantas enfermas, y tan rápido como sea posible, realizar tratamientos insecticidas con el fin de acabar con los insectos vectores. Al siguiente ciclo, para ser eficaz, la lucha química contra los insectos vectores debe ser realizada de forma preventiva y precozmente. Para reducir la población de estos insectos, a veces se establecen plantas trampa tratadas con insecticidas. Todas las variedades de melón y de pepino comercializados actualmente en Francia son sensibles a esta bacteria. En los Estados Unidos, algunas variedades de pepino que poseen el gen Bw son resistentes (Dan Stephens, 1997).

3.3.3 Enfermedades fungosas de las cucurbitáceas

3.3.3.1 Cenicilla (*Erysiphe cichoracearum*)

Esta enfermedad se reporta en todas las áreas productoras de cucurbitáceas en el mundo. En México se ha encontrado en Durango, Nuevo León, el Bajío, Sinaloa, Coahuila, Michoacán, Morelos y mesa Central. También se puede presentar en áreas con climas semidesértico o bajas precipitaciones y zonas templadas (Agrios, 1994). Puede causar daños severos tan solo en una semana. La temperatura óptima para su desarrollo es de 20 a 27 °C y la infección se presenta entre 10 a 32 °C (INIFAP, 2014).

En las hojas se observan pequeñas manchas de color blanco con apariencia polvosa, posteriormente se pueden juntar con otras y pueden cubrir por completo la lámina foliar (Castillo *et al.*, 1983). Las hojas afectadas se tornan cloróticas, después café o gris claro y mueren. La ausencia de follaje afecta el desarrollo de la planta e incrementa el daño en frutos por golpe de sol (Montes, 1980).

Para el manejo de la enfermedad se recomienda hacer rotaciones de cultivos, evitar fertilización excesiva de nitrógeno, realizar aplicaciones de Dinocap pH 25 % y Morestan pH 25 %, a 120 g/100 L de agua. Los fungicidas triazoles, como triforine, triadimeton, triadimenol, bitertanol y propiconazol, controlan eficientemente, así como meltatox que es del grupo de las morfolinas. En variedades de melón resistentes a quemaduras de azufre pH, este se puede aplicar a dosis de 4 a 5 g/L de agua. En tiempo frío el azufre se puede usar dos o tres veces en calabacita y pepino, pero nunca en melón (Maroto *et al.*, 2002).

3.3.3.2 Mildiu (*Pseudoperonospora cubensis*)

El mildiu es una enfermedad muy agresiva para las especies de esta familia (Félix *et al.*, 2017). Las condiciones favorables son alta humedad relativa y temperaturas de 8 a 30 °C, con una óptima de 15 a 22 °C con prevalencia de rocíos pesados y neblinas.

En México, esta enfermedad se ha reportado en Sinaloa, Michoacán, Nayarit, Morelos, Colima y Oaxaca, entre otros. Bajo condiciones favorables reduce de 80 a 100 % la producción (Mendoza, 1996).

En pepino, el mildiu se manifiesta como manchas angulares, claramente limitadas por las nervaduras de las hojas. Después las lesiones se vuelven color café y con alta humedad relativa se observa algodoncillo ligeramente púrpura. Las hojas con daños severos mueren, lo cual causa reducción del crecimiento de plantas y frutos, éstos últimos quedan insípidos. En condiciones frías y húmedas, este hongo puede matar la planta (Anaya, 1999).

Para el manejo se recomienda la destrucción de residuos de cosecha, rotaciones de cultivos, evitar excesos de humedad y efectuar aspersiones con mancozeb, daconil, captafol, metalaxil, clorotalonil, fosetil-A1, y maneb en aplicación al suelo, para evitar el daño en las primeras etapas (Mendoza, 1996).

3.3.3.3 Tizón foliar temprano (*Alternaria cucumerina*)

Esta es una de las enfermedades más importantes en ciertas regiones donde se siembran cucurbitáceas, afectando principalmente al melón reticulado. En Indiana, USA se han reportado pérdidas cercanas al 50%, cuando no se han aplicado las medidas adecuadas para su manejo, mientras que en Arizona en 1991 se reportó pérdidas totales (Suheri *et al.*, 1991).

Por lo general la enfermedad inicia en las hojas más viejas. En melón aparecen pequeñas manchas foliares circulares de aspecto húmedo, color café claro, rodeados de un halo amarillento, estas manchas crecen rápidamente, llegando a cubrir toda la hoja. En sandía y melón adquiere un color negro. Con frecuencia se observan anillos concéntricos, las hojas se enrollan, se secan y caen prematuramente. En los frutos de calabaza y melón se presentan manchas hundidas, con anillos concéntricos y frecuentemente cubiertas por el micelio del hongo de color verde olivo o negro (Rodríguez, 1991). La infección se presenta en hojas viejas, apareciendo pequeñas manchas foliares circulares de aspecto

húmedo, de color café claro, rodeado de un halo amarillento; las manchas crecen rápidamente, llegando a cubrir del 70 al 100 % de la hoja (Sherf *et al.*,1986).

Aplicaciones semanales, a partir de la floración, de mancozeb, clorotalonil, anilazina, captafol, iprodiona y folpet controlan satisfactoriamente la enfermedad; además es recomendable producir cucurbitáceas en condiciones ideales de fertilidad de suelo, textura, humedad y pH; también se recomienda disminuir la cantidad de inóculo inicial, mediante la rotación de cultivos que excluya a cucurbitáceas por uno o dos años e incorporación de residuos al final de la estación, con ellas se obtiene un control parcial de la enfermedad. Adicionalmente eliminar la maleza y usar semilla sana proveniente de zonas libres de enfermedad y tratada con fungicidas protectores (Romero, 1988).

3.3.3.4 Antracnosis (*Colletotrichum orbiculare*)

Esta enfermedad, causada por *Colletotrichum orbiculare* (Berk & Mont.) Arx (sin. *C. lagenarium* (Pass.) Ellis & Halst.) (estado sexual: *Glomerella lagenarium* F. Stevens), no es muy común en calabaza. Los síntomas iniciales en hojas de calabaza son manchas de apariencia acuosa, circulares y amarillas, las cuales al aumentar de tamaño se oscurecen y se tornan marrón. Por lo general la parte central de la lesión se seca, se adelgaza, adquiere un aspecto quebradizo y se desprende dejando huecos irregulares. En los peciolo y tallos las lesiones son superficiales, amarillas y alargadas. Estas pueden unirse formando lesiones de mayor tamaño. Este patógeno puede sobrevivir en las semillas de frutos infectados, residuos de cosecha y en plantas hospederas. Se disemina por el viento, la lluvia, los instrumentos de labranza y los trabajadores. El desarrollo de esta enfermedad se favorece con temperaturas moderadas y un ambiente húmedo y lluvioso (Alahakoon *et al.*, 1996; Lu *et al.*, 2000).

3.3.3.5 Mancha foliar (*Cercospora citrullina*)

Cercospora citrullina Cooke afecta principalmente el follaje y ocasionalmente el peciolo y los tallos de la planta cuando existen condiciones ambientales favorables. Esta enfermedad es común en regiones tropicales y

subtropicales húmedas. Los síntomas iniciales se observan usualmente en el follaje más viejo como pequeñas manchas circulares, que en ocasiones pueden ser irregulares, de color marrón oscuro a negro con un centro blanco, margen oscuro y halo amarillo. Las manchas pueden unirse o aumentar de tamaño y afectar grandes áreas, causando clorosis y eventualmente la caída prematura de las hojas. Esta defoliación causa la reducción en el tamaño y calidad de los frutos. Este hongo no produce lesiones en los frutos. El patógeno sobrevive en las semillas, residuos de cosechas y malezas hospederas y se disemina por el viento. El rocío abundante y condiciones de estrés de la planta favorecen el desarrollo de la infección (Rosa, 2012).

3.3.3.6 Pudrición por *Phytophthora*

Esta enfermedad puede ser causada por diferentes especies de *Phytophthora*. Los síntomas iniciales son manchas de apariencia acuosa con leves depresiones. El lado del fruto en contacto con el suelo se afecta primero, extendiéndose gradualmente los síntomas y el daño a la parte superior. Bajo condiciones de humedad este hongo produce una masa de micelio blanco de apariencia húmeda, que contiene los esporangios, el cual puede cubrir todo el fruto afectado ocasionando pudrición blanda. Eventualmente el fruto colapsa. Frutos cosechados aparentemente sanos pueden presentar síntomas durante el transporte y almacenamiento. Este hongo sobrevive en residuos de cosecha y en el suelo por dos años o más. Se puede diseminar por insectos, obreros y maquinaria (Lim, 2010).

3.3.3.7 Pudrición por *Fusarium*

Esta enfermedad, ocasionada por varias especies de *Fusarium*, no es muy común en frutos de calabaza. Las lesiones pueden presentarse en cualquier parte del fruto, pero son más frecuentes en el extremo proximal (área cercana entre el pedúnculo “stem-end” y el fruto) y en el área del fruto en contacto con el suelo. El tejido afectado muestra una pudrición firme y de apariencia corchosa o esponjosa; en condiciones húmedas, es cubierto por una masa de esporas de color blanco a

rosado. La lesión puede ser superficial o extenderse hasta la cavidad de las semillas. No se necesita de heridas para que ocurra la infección ya que bajo condiciones de humedad el hongo puede penetrar directamente. Sin embargo, la presencia de heridas facilita la entrada del hongo. El crecimiento óptimo de este hongo es entre 21.6 y 28.8° C. El fruto puede infectarse si el cuchillo con que se cosecha toca el suelo o algún tejido infectado. La semilla puede ser portadora de la enfermedad (Rosa, 2003, Smith, 2007).

3.3.3.8 Pudrición gris (*Botrytis* spp)

En cada uno de los cultivos susceptibles y bajo condiciones de humedad relativa alta, la pudrición gris puede afectar los frutos. Además de que esta enfermedad no solo se produce en campo, si no que afecta también en poscosecha, comenzando como una infección latente y posteriormente desarrollándose durante la cosecha, transporte y almacenamiento (Rosa *et al.*, 2013).

3.3.3.9 Tizón gomoso de las cucurbitáceas (*Didymella bryoniae* (Auersw.) REM)

Este hongo está ampliamente extendido por todos los continentes, en especial en las zonas tropicales y subtropicales. Afecta a varias especies de cucurbitáceas como la sandía, melón, calabaza, calabacín y pepino, en cultivo bajo invernadero o al aire libre, ocasionando a veces daños importantes (Blancard, *et al.*; 1996). Esta enfermedad es una de las más importantes que afectan esta familia. Puede causar canchales y gomosis sobre el tallo, cuando no se toman medidas preventivas y curativas, la destrucción total, desde la plántula hasta la post-cosecha pueden ocurrir. Se registra una reducción de hasta el 90 % del rendimiento y calidad de los frutos.

La entrada de este hongo ocurre por heridas en frutos, principalmente. También por lesiones ocasionadas por insectos, o por el mal manejo durante y después de la cosecha. Además, se disemina por semillas enfermas. Este hongo permanece en residuos de cosecha de 4 a 5 años (Lebeda *et al.*, 2011).

De las enfermedades antes mencionadas varios autores (Wolukau *et al.*, 2007), han declarado que la epifitía provocada por *D. bryoniae* es de las más devastadoras, por tanto, una de las de mayor importancia a nivel mundial.

Este hongo pertenece a la subdivisión *Ascomicotyna*, orden *Dothideales* y clase *Coelomycetes* (Index Fungorum, 2018). Las primeras descripciones del hongo datan de 1891. Fueron hechas en Francia, y lo reconocen como un parásito necrófito facultativo de las plantas de la familia cucurbitacea. Su fase anamórfica, se describió con el nombre de *Ascochyta cucumis* Fautr & Roum (Svedelius, 2002). Más tarde, en 1945, se determinó la fase telomórfica como *Didymella melonis* Pass Wiant.

En la actualidad, con los avances de la ingeniería genética y las herramientas moleculares se ha podido ubicar la fase anamórfica dentro del género *Phoma* (*Phoma cucurbitacearum* (Fr:(Fr) Sacc.)). En el micelio más viejo aparecen las estructuras sexuales en forma de pseudotecios (Clase Ascomycetes) y se denomina la fase telomórfica como *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm (Pérez *et al.*, 2012a).

D. bryoniae presenta picnidios de 80 a 170 μm de diámetro. Las picnidiosporas son de tamaño variable, pues algunos picnidios las producen muy pequeñas, bi o tricelulares de 13 a 20 μm x 4 a 6 μm . Los peritecios tienen un diámetro que oscila entre los 80 μm y 170 μm y las ascas miden entre 44-56 x 7-11 μm . Las ascosporas son ovoides con 2 células desiguales de 9 μm a 13 μm x 4-5 μm (Barnett *et al.*, 1986; Pérez *et al.*, 2012a).

Los síntomas de la infección por *D. bryoniae* puede ser variada y se encuentra en función de la especie que ataque.

Los síntomas del tizón gomoso del tallo aparecen en hojas, tallos y frutos. Estos se extienden desde el centro de la planta hacia los extremos o guías. Al inicio las manchas se muestran como pequeñas áreas cloróticas o puntos que crecen rápidamente, frecuentemente aparecen por el borde de las hojas y entre las nervaduras.

En los cotiledones y tallos de las plantas jóvenes aparecen manchas circulares, de color negro a marrón. En las manchas foliares se distingue un halo pequeño de color amarillo con exudado gomoso. Al envejecer éstas, se observan en el centro fructificaciones de color negro, que en las hojas jóvenes generalmente se corresponden con picnidios producidos en la fase anamórfica, *Phoma cucurbitacearum* (Fr.:(Fr) Sacc.), y en las viejas con las estructuras sexuales de la fase teleomórfica (Pérez *et al.*, 2012a).

Las lesiones en el tallo primario comienzan por la base, sobre todo en el primer metro de longitud del mismo, pero se pueden encontrar incluso en los secundarios. Primeramente, son de forma elipsoidal y de color parduzco pálido. Posteriormente, la mancha se alarga y se hace visible una hendidura en su centro con exudado gomoso, con presencia de cuerpos de fructificación, los picnidios parcialmente inmersos en el tejido y los pseudotecios sobre el mismo (Pérez *et al.*, 2012a).

Las hojas son penetradas directamente a través de la cutícula o a través de los espacios intercelulares alrededor de la base de los tricomas. Los tallos son penetrados a través de las heridas o por la extensión de las lesiones foliares (Maroto *et al.*, 2002). El desarrollo del hongo, además de provocar los síntomas característicos, puede inducir el desprendimiento del cortex y exponer los tejidos internos. Esto llevará la planta, irremediablemente, a su muerte (Viana *et al.*, 2001).

En el continente americano, *D. bryoniae* es común desde el sur de los Estados Unidos hasta zonas subtropicales del cono sur. La mayoría de las infecciones ocurren durante las estaciones lluviosas, con humedades relativas de 90 % y temperaturas de 20 a 24 °C (Park *et al.*, 2006). Sin embargo, se puede encontrar en regiones templadas, especialmente donde se cultivan calabazas, pepino y sandía de invierno, a campo abierto (Sitterly *et al.*, 2017).

La evolución de la enfermedad se ve favorecida por la alta humedad durante el desarrollo del cultivo. Esta es la causa por la cual, este agente causal,

puede atacar la planta en cualquiera de sus fases fenológicas, incluso en el período de postcosecha (Santos *et al.*, 2011a).

Por otro lado, bajo condiciones de alta humedad, el cultivo desarrolla gran cantidad de hojas. Las mismas se solapan y crean un microclima debajo de ellas. Estas condiciones, junto a temperaturas elevadas, propician un desarrollo acelerado del patógeno (Díaz *et al.*, 2017). De igual modo, el estrés hídrico en la planta debido al exceso o insuficiencia, induce alteraciones en la capacidad de absorber agua y nutrientes. Estos últimos son factores de relevancia en la predisposición de la planta ante el patógeno (Bedendo *et al.*, 2018).

Estas circunstancias, sumadas a la capacidad del hongo de atacar, tanto a los tallos y las hojas, como a los frutos, lo convierten en un importante patógeno que provoca elevadas afectaciones a los cultivos que se traducen en rendimientos muy bajos. En adición, *D. bryoniae* posee una gran resistencia ante la radiación solar, lluvias y vientos fuertes. Su condición de necrófilo facultativo le permite permanecer en semillas y restos de cosecha por un prolongado período de tiempo. La sobrevivencia del hongo puede llegar hasta tres años si las condiciones naturales lo permiten (Cardoso *et al.*, 2001).

El agua, además de ser condición indispensable para la germinación de las esporas y penetración en el hospedero, actúa directamente en la diseminación del inóculo primario. Las salpicaduras por la lluvia y el riego esparcen los conidios y ascosporas dentro de una misma planta y a las vecinas (Bedendo *et al.*, 2018).

3.3.3.10 Métodos de control

Se recomienda, para el control de la enfermedad, la poda de las plantas a fin de disminuir la humedad relativa entre ellas (Santos *et al.*, 2011b). La rotación de cultivos con plantas no hospedantes puede ser muy efectiva para la disminución del inóculo (Bedendo *et al.*, 2018; Pérez *et al.*, 2011b). Este método conlleva a la reducción del sustrato para la sobrevivencia del patógeno en el campo, por lo que se limita el mantenimiento y aumento del inóculo primario para el próximo ciclo de cultivo (Reis *et al.*, 2011).

Como respuesta, el hongo genera estructuras de resistencia para mantener su viabilidad en ausencia de plantas susceptibles. Estas son capaces de sobrevivir por largos períodos de tiempo (Ambrósio *et al.*, 2009). Los cuerpos reproductivos sexuales (ascosporas) son más resistentes ante condiciones adversas que las producidas en la fase asexual (conidios) pudiendo permanecer latentes por varios años (Matias, 2018).

Tales características hacen que el control del patógeno mediante la rotación de cultivos no sea la práctica más eficiente desde el punto de vista de disponibilidad de áreas productivas. Se recomienda esperar como mínimo tres años para volver a sembrar alguna cucurbitácea en un mismo campo.

También se han identificado algunos antagonistas como *Trichoderma* spp. capaces de reducir la enfermedad. Sin embargo, este control biológico no ha demostrado ser suficientemente efectivo debido al acelerado desarrollo del patógeno en campo (Martínez *et al.*, 2012).

A pesar de las diferentes estrategias de control que se han investigado, la química es la más recomendada (Keinath *et al.*, 2009; Santos *et al.*, 2005). Son muchos los fungicidas utilizados para el control del tizón gomoso del tallo. Se han considerado con buena efectividad y eficacia el clorotalonil, mancozeb, maneb y tiofanato metilo (Sikora, 1994).

La aparición de nuevos productos en el mercado a partir de la mezcla de estos ingredientes activos aumenta el abanico de posibilidades para el control de la enfermedad. Entre ellos se pueden mencionar el clorotalonil con benomil y mancozeb. En Brasil, se indicó la aplicación de mancozeb y difenoconazol, tiofanato metilo y clorotalonil, mancozeb, trifloxistrobina, propiconazol, oxiclورو de cobre para el control en melón (Santos *et al.*, 2005), así como Switch® alternado con clorotalonil y cobre (Keinath *et al.*, 2009).

IV. MATERIALES Y MÉTODOS

El presente estudio se realizó en las instalaciones de la Escuela de Estudios Superiores de Xalostoc (EESX) de la Universidad Autónoma del Estado de Morelos (UAEM), ubicada en el Parque Industrial Cuautla, Cd. de Ayala, Morelos localizada entre las coordenadas 18°49' 10.40'' N de latitud y 99°01' O de longitud y a una altitud 1330 msnm. El clima que predomina es cálido y con lluvias en verano. La humedad relativa es aproximadamente del 82 %; la temperatura media oscila entre 22–24 °C, y precipitaciones en el rango de 800–1 000 mm (INEGI, 2015).

4.1 Colecta de material

Se colectaron hojas, tallos y frutos de cucurbitáceas en parcelas de la zona Oriente del Estado de Morelos con síntomas y signos de tizón gomoso en los cultivos de calabacita, pepino, melón y sandía. Las muestras se colocaron en bolsas de polietileno para evitar la contaminación con agentes ambientales no asociados a los síntomas de la enfermedad. Además, fueron etiquetadas con el sitio de colecta, genotipo, órgano muestreado y fecha de colecta. Se colocaron en una hielera para evitar la deshidratación y se transportaron al laboratorio de Fitopatología de la EESX - UAEM. Se almacenaron bajo condiciones de refrigeración (4 °C) hasta su posterior proceso.

4.2 Aislamiento y purificación

El material vegetativo colectado en campo antes de procesarlo se lavó con agua corriente, para eliminar los restos de tierra presentes, posteriormente, bajo condiciones de asepsia y uso de material esterilizado se procedió al aislamiento del patógeno mediante procedimientos de rutina.

Las muestras de hoja, tallo y fruto de calabacita fueron fraccionadas en tamaños de 0.5 cm², posteriormente se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% durante tres minutos, fueron lavadas con agua destilada estéril tres veces y se dejaron secar sobre sanitas esterilizadas, para eliminar el exceso de agua. Se sembraron cinco trozos de tejido enfermo en cada caja Petri en medio de cultivo Papa Dextrosa Agar (PDA), se etiquetaron con los datos correspondiente a cultivo, lugar y fecha de siembra (Figura 1). Se incubaron a una temperatura de 25 °C por 7 días, una vez esporulados se realizaron cultivos monospóricos y por la técnica de punta de hifa se transfirieron a cajas de Petri con medio de cultivo PDA para tener las cepas puras (Siller, 2010).



Figura 1. Método de siembra directa para el aislamiento del agente causal del tizón gomoso. **a)** Muestras de tallos de pepino enfermos; **b)** Trozos de tallos de calabaza enfermos; **c)** Siembra directa en PDA y **d)** Cepa obtenida de los aislamientos.

4.3 Identificación morfológica

La identificación de los aislados obtenidos de calabacita se basó en variables morfológicas y morfométricas, así como el agrupamiento derivado del análisis multivariado comparado con las descripciones y claves de las principales características Tsay *et al.*, 1990, Zitter, 1992, Boerema *et al.*, 2004, Santos *et al.*, 2004 y Furukawa y Kishi 2007. Se tomó en cuenta tipo de crecimiento, color del micelio, forma y tamaño de conidios (evaluación de 50 conidios).

4.4 Pruebas de patogenicidad

4.4.1 Pruebas de patogenicidad en plántula

Con la finalidad de evaluar la capacidad de inducir enfermedad (patogenicidad) y el grado con el que los síntomas se presentan (virulencia) el aislado, fue inoculado en plántulas de calabacita, pepino, melón y sandía.

a) Siembra

A partir de semillas certificadas de los cultivares Centauro de pepino, África F1 de sandía y Adelita de calabacita (predominantes en la región) se obtuvieron las plántulas para demostrar los síntomas del agente causal. Estas semillas se sembraron en bolsas de polietileno (No.6), con una capacidad para 4 kg de sustrato. El sustrato utilizado fue la mezcla de peat-moss y lombricomposta en una relación 6:3. Se esterilizó previamente en una autoclave durante dos horas a 121°C y 1.2 atm de presión en dos días. Se sembraron 12 bolsas para cada cultivar. En cada bolsa se colocaron 2 semillas a la profundidad de 2 cm, posteriormente se dio un riego ligero y se llevaron a condiciones semi-controladas en invernadero.

b) Inoculación

A los quince días después de la germinación se realizó la inoculación de la siguiente manera: inoculación con 1 mL de suspensión de conidios 1×10^6 UFC y la segunda con discos de 5 mm de PDA con micelio (Anexo 1-A y 1-B), y los dos testigos: uno con 1 mL de agua destilada esterilizada y el segundo con discos de PDA de 5 mm, los tratamientos en el punto de inoculación fue cubierto con algodón húmedo con agua destilada estéril y Parafilm para generar las condiciones de humedad relativa (Trionfetti *et al.*, 2000) (Figura 2). Todos los tratamientos tuvieron cuatro repeticiones sometidos en un diseño completamente al azar. Ha dichas plantas se les dio un manejo agronómico de dos riegos por semana y dos fertilizaciones a los 5 y 30 días después de la emergencia con formula 17-17-17.

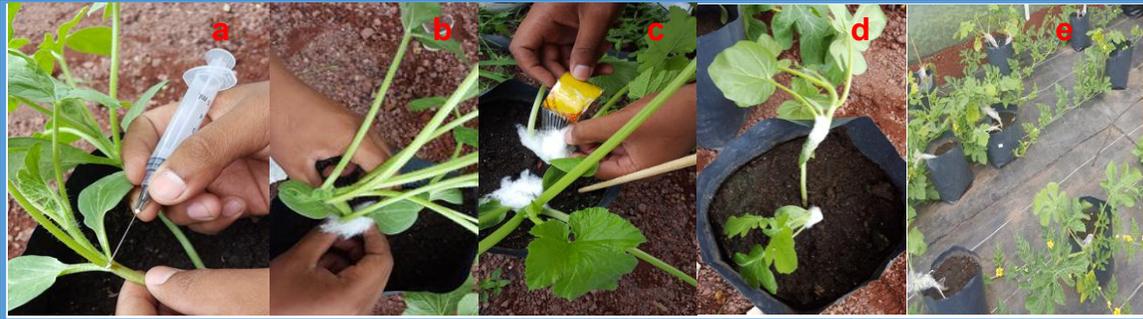


Figura 2. Inoculación de plantas sanas con *Didymella bryoniae*: **a)** Inoculación con suspensión de esporas; **b)** Colocación de algodón húmedo con agua estéril; **c)** Colocación de parafilm en las zonas inoculadas; **d)** Planta después del proceso de inoculación y **e)** Plantas de sandía 15 días después de la inoculación.

4.4.2 Pruebas de patogenicidad en fruto

Frutos de calabacita y pepino, libres de síntomas, fueron lavados con agua corriente, posteriormente desinfectados en hipoclorito de sodio al 2% por 5 minutos y enjuagados dos veces en agua destilada esterilizada. Los frutos enjuagados se dejaron escurrir y secar durante 15 minutos. Posteriormente fueron seleccionados con base a uniformidad en tamaño. Los frutos fueron etiquetados y colocados en charolas de unicel de 15 x 10 cm las cuales contenía sanitas y agua destilada estéril. Los frutos fueron inoculados de dos formas: 1) con discos de medio de cultivo de 5 mm de diámetro que contenían micelio del cultivo monospórico. Un disco se colocó sobre el tejido intacto y el otro sobre una herida realizada con una aguja de disección a una profundidad de 3 mm y 2) con una suspensión de conidios con una concentración de 1×10^6 esporas/mL (Figura 3).

Las charolas que contenían a los frutos inoculados se colocaron dentro de bolsas de polietileno transparentes de 50 x 70 cm, las cuales fueron selladas para proporcionar humedad relativa de 100 %. Las charolas fueron incubadas a temperatura de 25°C durante 5 días (Sumerell *et al.*, 2003) (Figura 4).

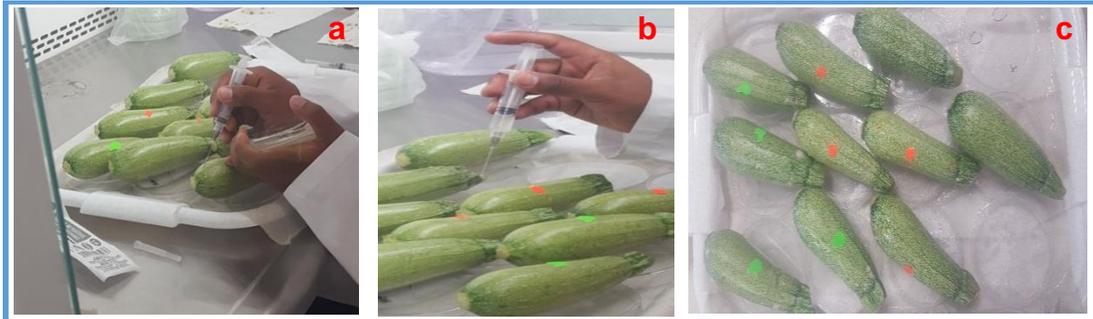


Figura 3. Inoculación de *Didymella bryoniae* en frutos de calabacita; **a y b)** Inoculación de frutos con suspensión de esporas y **c)** Frutos inoculados en cámara húmeda.



Figura 4. Prueba de patogenicidad de *Didymella bryoniae* en frutos de penino; **a)** Cámara húmeda con frutos inoculados; **b)** Frutos después de 4 días de inoculación y **c)** Evaluación del daño.

4.5 Pruebas de efectividad de fungicidas *in vitro*

Las pruebas de efectividad se realizaron con 6 fungicidas sistémicos y 1 de contacto (Cuadro 1). Se pesaron las cantidades de las dosis sugeridas por los fabricantes, se manejaron tres dosis por cada producto: baja, media y alta (Cuadro 1); se utilizó un diseño completamente al azar con 22 tratamientos y cinco repeticiones, donde la unidad experimental fue una caja Petri. Se preparó medio de cultivo PDA en un matraz Erlenmeyer, se agregaron 50 mL del medio de cultivo previamente esterilizado, se colocó la cantidad de producto de acuerdo con la dosis, se agitó para mezclar el medio con el producto para posteriormente vaciar en las cajas Petri y dejar solidificar (Figura 5). Se procedió a sembrar en las cajas discos de 4 mm de diámetro de la cepa de cuatro días de edad colocándolo en el centro de la caja. Se incubaron una temperatura de 25 ± 2 °C con una humedad relativa del 80 %. El diámetro de la colonia se midió cada 24 horas por siete días, se utilizó un Vernier (Carbon Fiber Vernier Digital Caliper 0-150 mm). Se determinó el diámetro de la colonia en dos direcciones perpendiculares entre sí cada 24 horas hasta que el tratamiento testigo llenara la caja.



Figura 5. Prueba de efectividad *in vitro* con diferentes fungicidas para el control de *Didymella bryoniae*. **a)** Preparación de los fungicidas, peso de las diferentes dosificaciones; **b)** Mezcla de PDA más el fungicida productos en polvo; **c)** Mezcla de PDA más fungicida líquido; **d)** Perforación de los discos de PDA + micelio de la cepa y **e)** Siembra del hongo en los diferentes tratamientos.

Cuadro 1. Fungicidas sistémicos y de contacto para el control *in vitro* del agente causal del tizón gomoso de las cucurbitáceas.

Nombre comercial	Ingrediente activo	Tratamiento/ Dosis empleada en 100 mL			Modo de acción
		alta	media	Baja	
Livanil	Clorotalonil	1.87*	0.94*	0.63*	Contacto
Folicur 250 EW	Tebuconazol	0.71*	0.36*	0.24*	Sistémico
Previcur Energy	Fosetil-AL+Propamocarb	2.53*	1.31*	0.88*	Sistémico
Sportak 45 CE	Procloraz	2.63*	1.31*	0.88*	Sistémico
Cabrio C	Boscalid+pyraclostrobin	1.13 g	0.56 g	0.38 g	Sistémico
Flunclin	Carbendazin	0.19*	0.09*	0.06*	Sistémico
Merivon	Fluxapyroxad+Piraclostrobin	0.53*	0.26*	0.18*	Sistémico

*=productos en µL.

Las mediciones obtenidas permitieron determinar la eficiencia del producto para el control del patógeno en estudio, a través de la fórmula descrita a continuación (Abbott, 1925).

Donde:

$$ET = \frac{DT - DX}{DT} * 100$$

ET=Efectividad de tratamiento

DT=Diámetro de la colonia testigo

DX=Diámetro de la colonia en el tratamiento

4.6 Análisis de datos

Los datos se sometieron a un análisis de varianza y una prueba de comparación de medias Tukey ($P \leq 0.05$), se utilizó el programa SAS (SAS institute Inc, 1996).

V. RESULTADOS Y DISCUSIONES

Las muestras procesadas con síntomas de tizón gomoso de las cucurbitáceas en la zona oriente del estado de Morelos, presentaron los síntomas descritos en la literatura y al procesarlas se obtuvieron los siguientes resultados.

5.1 Síntomas e identificación del agente causal de del tizón gomoso de las cucurbitáceas

En las parcelas monitoreadas la enfermedad se presentó tanto en tallos como hojas y se extiende desde el centro de la planta hacia los extremos apicales. Este comportamiento ha sido descrito por varios autores en diferentes cucurbitáceas de importancia agrícola (Sikora, 1994; Keinath, 2013).

Durante la colecta del material infectado se observó que en el tallo primario las lesiones se originaron por la base, usualmente cerca de los nudos, con un característico exudado color marrón de textura gomosa y conforme avanza la enfermedad puede manifestarse a lo largo del mismo hasta en los tallos secundarios (Figura 6). Al inicio, las lesiones fueron de forma elíptica y de color ocre pálido. En los primeros estadíos, es difícil de distinguir la enfermedad, debido a que solo presenta lesiones inferiores a 7 mm, pero al evolucionar se hace evidente el síntoma. Posteriormente, las lesiones se alargaron rápidamente hasta que se hacen visibles y en el centro se forma una hendidura o cráter característica del daño. Las hojas pueden exhibir lesiones circulares marrón obscura que comienzan en los márgenes y rápidamente se extienden por el resto de la hoja. Estas lesiones foliares pueden variar en color, desde marrón claro hasta negro (Figura 6). Los frutos infectados muestran pequeñas lesiones húmedas hasta alcanzar grandes lesiones color marrón, donde en algunas ocasiones también muestran las secreciones gomosas (Figura 6). La incidencia y severidad de la enfermedad en las parcelas se presentó en un 60% de las parcelas monitoreadas en la región de Cuautla, Morelos.



Figura 6. Síntomas de tizón gomoso de las cucurbitáceas en el Oriente del estado de Morelos; **a)** Lesión y necrosis en tallo de pepino, **b)** Lesiones en peciolo y hojas de sandía y **c)** Gomosis en frutos de pepino.

5.2 Identificación morfológica del agente causal

Las colonias aisladas presentaron micelio de color blanco septado semidenso que conforme pasa el tiempo tiende a ponerse de color café amarillento hasta oscurecerse (Figura 7). En las preparaciones permanentes que se realizaron se observaron el micelio septado y conidios.

El desarrollo de este hongo se favorece bajo condiciones de alta humedad relativa. *D. bryoniae* presenta picnidios de 80 a 170 μm de diámetro. Las picniosporas son de tamaño variable, ya que algunos picnidios las producen muy pequeñas, bi o tricelulares de 13 a 20 μm x 4 a 6 μm (Figura 7). Estas observaciones coinciden con las realizadas por Furukawa *et al.*, (2007). De acuerdo con Messiaen *et al.* (1995), *D. bryoniae* puede atacar tallos y frutos, y, en ciertos casos a las hojas. Es característico de los climas tropicales y subtropicales húmedos pudiéndose, además, desarrollar durante el verano en países templados cálidos y lluviosos. Puede provocar en los tallos lesiones de color claro, en un principio de margen eventualmente irregular, pero bien delimitado. Sobre estas lesiones el hongo fructifica y produce picnidios (diseminación de picniosporas por la lluvia) y peritecios a la vez (proyección de ascosporas).

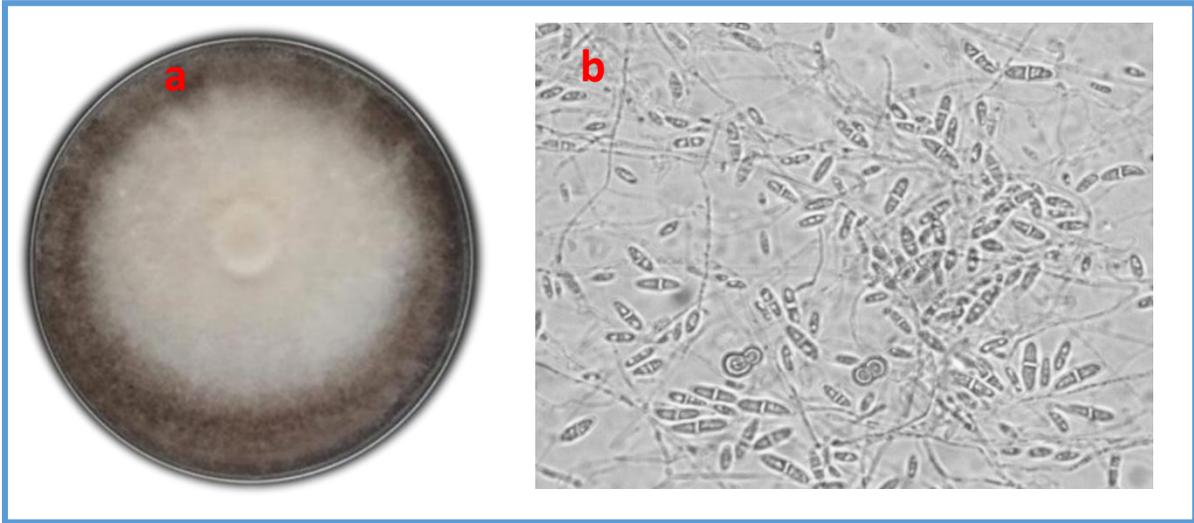


Figura 7. Agente causal del tizón gomoso de las cucurbitáceas **a)** Cepa de *D. bryonidae* y **b)** Picniosporas bajo microscopio compuesto a 40X.

5.3 Pruebas de patogenicidad

Las áreas afectadas se tornaron de coloración amarillenta alrededor de la pudrición y en la superficie se desarrolló micelio blanco. El crecimiento de este hongo se promueve en condiciones de alta humedad relativa. Puede provocar en los tallos lesiones de color claro, en un principio de margen eventualmente irregular, pero bien delimitado. Estas lesiones al paso del tiempo son de forma elíptica y de color ocre pálido o café oscuro, tal como lo mencionan Ariasi *et al.* (2009); Díaz *et al.* (2017); Lima *et al.* (2018); Pérez *et al.* (2012a); Santos *et al.*, (2009); Santos *et al.* (2013) (Figura 8).

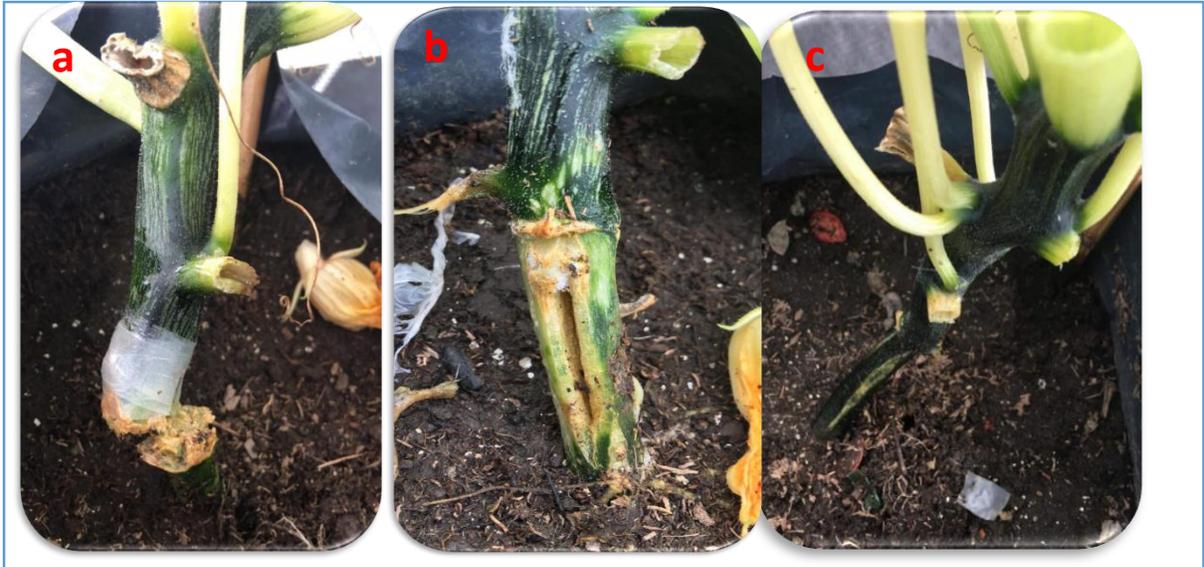


Figura 8. Síntomas en tallos de plántulas de calabaza inoculadas con *D. bryoniae*
a) Tallo de calabaza inoculado con discos de PDA con micelio, pudrición del tallo,
b) Tallo de calabaza inoculado con una suspensión de conidios, hendidura causada por el hongo y **c)** Tallo de calabaza sin inoculación del hongo (testigo).

Los síntomas en las cucurbitáceas a los 15 días fueron notorios, aunque las plantas más afectadas fueron las de pepino debido a los tipos de inoculaciones, en los tallos se observaron pudrición de tejido por ende hendiduras y gomosis en el tallo en el caso de inoculación con los discos de PDA + micelio. Por lo contrario, en la inoculación con la suspensión de conidios los tallos presentaron pudrición, flacidez y presencia de micelio y el testigo no presentó síntomas (Figura 9).

En el caso de las plántulas de sandía los síntomas que se presentaron con los dos métodos de inoculación fueron similares, en ambas el daño partió en dos partes al tallo provocando un cancro y hendidura que impedía el transporte de agua y nutrientes; en comparación con la planta testigo, los tallos ante el ataque tomaron una consistencia semileñosa (Figura 10). Estos resultados concuerdan con los reportados por Pérez *et al.*, (2012) con el estudio realizado de síntomas e identificación del agente causal del tizón gomoso del tallo en sandía en la isla de la juventud, quienes mencionan que en los tallos observaron lesiones de forma de cráter en el tejido, con presencia de exudado gomoso de color amarillo y ocasionalmente pardo rojizo.



Figura 9. Síntomas en tallos de plántulas de pepino inoculadas con *D. bryoniae*
a) Pudrición de tallo y presencia de gomosis, inoculación con discos de PDA con micelio, **b)** Pudrición de tallo y presencia de micelio, inoculación con una suspensión de conidios, y **c)** Tallo en la planta testigo.



Figura 10. Síntomas en tallos de plántulas de sandía inoculadas con *D. bryoniae*
a) Pudrición y cancro de tallo, inoculación con discos de PDA y micelio, **b)** Hendidura de tallo, inoculación con una suspensión de conidios y **c)** Tallo en la planta testigo.

Los frutos inoculados de pepino y calabaza con discos de PDA + micelio y la suspensión causaron los síntomas característicos de la enfermedad de tizón gomoso de las cucurbitáceas. Sin embargo, el método de inoculación en donde el patógeno logró penetrar más el mesocarpio fue con la suspensión (Figura 11 y 12). Esto se debe a que como ya se mencionó anteriormente al inyectar la suspensión las esporas van inmersas en agua y la humedad relativa favorece el desarrollo de la enfermedad.

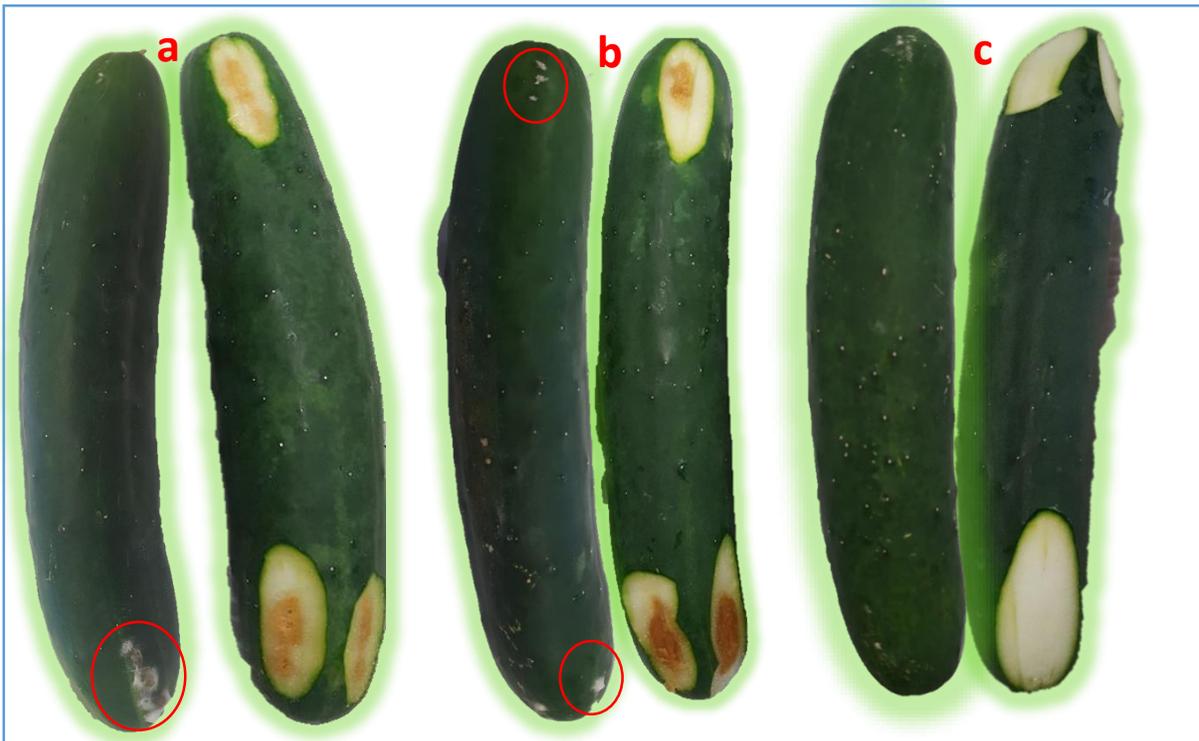


Figura 11. Síntomas en frutos de pepino inoculados con *D. bryoniae*. **a)** Frutos inoculados con discos de PDA+ micelio, **b)** Frutos inoculados con una suspensión de esporas y **c)** Frutos testigos inoculados con discos de PDA y con agua destilada estéril.

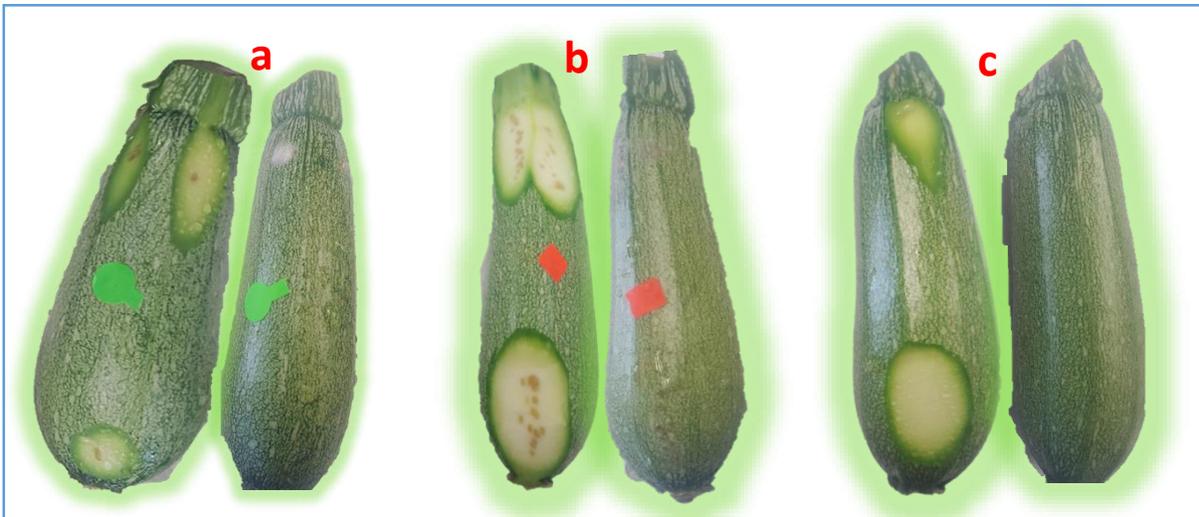


Figura 12. Síntomas en frutos de calabacita inoculados con *D. bryoniae*. **a)** Frutos inoculados con discos de PDA+ micelio, **b)** Frutos inoculados con una suspensión de esporas y **c)** Frutos testigos inoculados con discos de PDA y con agua destilada estéril.

5.4 Efectividad biológica de fungicidas *in vitro* sobre *D. bryoniae*

Algunos productos tuvieron una acción fungicida, como es el caso de Folicur y Sporta 45 EC y una acción fungistática como Merivon y Cabrio C. Sin embargo, Livanil, Previcur Energy y Flunclín fueron los fungicidas que no lograron inhibir el crecimiento del hongo en donde su crecimiento fue ponderado por la tanto existió diferencias significativas entre los fungicidas (Cuadro 2 y Figura 13).

En la octava evaluación los fungicidas que mostraron 100 % de inhibición del crecimiento micelial fueron Folicur 250 EW y SportaK 45 EC en sus tres diferentes dosis, esto se debe a que estos productos actúan en la biosíntesis del esteroles en las membranas del hongo, y más específicamente tiene que ver con la demetilasa en la biosíntesis de esteroides (Kapteyn *et al.*, 1994; Vinggaard *et al.*, 2005; FRAC, 2018a). Con el 85.59 % de inhibición del crecimiento Cabrio C en dosis alta (DA), seguido de Merivon en dosis alta con 84.79%, con 82.39 % Merivon dosis media y con 81.59 % Cabrio C dosis media. El comportamiento similar de Cabrio C y Merivon se debe a que ambos productos tienen el ingrediente activo piraclostrobin

que tiene que ver con la respiración al inhibir los externos de la quinona. Aunque el Cabrio C tiene como segundo ingrediente activo al boscalit (Töfoli *et al.*, 2019) y Merivon tiene fluxapyroxad ambos ingredientes activos atacan la respiración y tiene que ver con el inhibidor del succinato deshidrogenasa. Por lo contrario, los productos que tuvieron menos del 80% de inhibición fueron Merivon dosis baja, Cabrio C en dosis baja, Livanil dosis alta, Livanil dosis media con 79.73, 66.39, 58.38 y 50.91% respectivamente. El Livanil es un fungicida de contacto preventivo que contiene como ingrediente activo al Clorotalonil, (benzonitrilo halogenado). Varios autores han descrito los efectos de este compuesto sobre diferentes hongos fitopatógenos, tanto en condiciones controladas como a escala de campo. Actúa como protectante de la planta ante el ataque del patógeno, por consiguiente, el fungicida debe estar presente en la superficie antes del inicio de la infección. Se considera que el Clorotalonil actúa como un fungitóxico multisitio no específico, que inhibe la respiración de las células del hongo, debido a que las moléculas se unen a grupos sulfhidrilo de los aminoácidos. Las enzimas que afectan al ciclo de Krebs se desactivan y no se produce ATP. Al no poder completar este proceso esencial, la célula muere (Gowan, 2019). Sin embargo, los productos con menos del 50% de inhibición fueron Previcur Energy en sus tres dosis, a pesar de que este producto tiene los ingredientes activos Fosetil Al que induce la defensa de la planta huésped y el propamocarb que tiene que ver con la permeabilidad de la membrana celular y los ácidos grasos. Por lo contrario, Livanil ingrediente activo clorotalonil encargado de la actividad de contacto multi-sitio sobre los cloro nitrilos, su eficacia no fue favorable en dosis baja y Flunclin que tiene como base al carbendazim que afecta la síntesis del ergosterol no fue eficaz para el control en sus tres dosis para *D. bryoniae* y el testigo que presentó el 0% de inhibición (Figura 13). Estos resultados fueron el indicativo de una baja sensibilidad de *D. bryoniae* al Flunclin y por tanto alta resistencia a su ingrediente activo (Carbendazim). Keinath y Zitter (1998) definieron una respuesta similar de *D. bryoniae* ante al Benomyl, que pertenece al grupo de los Benzimidazoles con igual modo de acción que el Carbendazim. En sus estudios el 100% de los aislados colectados en áreas cultivadas con cucurbitáceas de Carolina del Sur y Nueva York (EUA) presentaron

resistencia al Benomyl. Asimismo, la resistencia de este agente causal fue corroborada ante otros compuestos químicos, entre ellos se destacan, además del Carbendazim el Oxicloruro de Cobre, Tiofanato de Metilo y su conjugación con Clorotalonil (Santos *et al.*, 2005).

El Carbendazim se ha empleado en la formulación de varios fungicidas comerciales. Su presencia le confiere al formulado un carácter sistémico con acción protectante y curativa. Se absorbe a través de raíces y tejidos verdes y se trasloca de forma acropétala. Pertenece al grupo de fungicidas benzimidazoles, grupo 1, B1 del FRAC (Comité de Acción contra Resistencia a Fungicidas) (FRAC, 2018c). Sin embargo, el Flunclín (i. e. Carbendazim) solamente está limitado a este sitio de acción, lo cual es un riesgo para la aparición de la resistencia. El grupo de los Benzimidazoles presenta resistencia común en muchas especies de hongos, asociadas a varias mutaciones del sitio objetivo, principalmente E198A/G/K, F200Y en el gen de la β -tubulina. Es un grupo de alto riesgo, dentro del cual se encuentran: benomyl, carbendazim, fuberidazole y el tiabendazol (FRAC, 2018b; Keinath *et al.*, 1998).

Folicur 250 EW y Sportak 45 CE inhibieron el 100% del crecimiento de *D. bryoniae*, a diferencia del testigo donde el hongo creció favorablemente (Figura 13). Durante las ocho evaluaciones se mantuvo el valor nulo del diámetro de la colonia, sin diferencias significativas entre ellos, pero sí con el resto de los tratamientos. Sin embargo, en los demás tratamientos el hongo presentó crecimiento moderado lo que indica que tienen un efecto fungistático (Figura 14 y 15). Pero, Previcur Energy favoreció el crecimiento del hongo después de la octava evaluación lo que indica que su efecto fungistático actúa durante los siete primeros días (Cuadro 2, Figura 14).

Cuadro 2. Efecto de fungicidas *in vitro* en la inhibición del crecimiento micelial de *Didymella bryoniae*.

Fungicida	Evaluaciones							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Livanil DA	3.3 bcd	7.3 de	10.7 ghi	11.8 fg	17.1 gh	20.9fg	24.0 h	34.7hi
Livanil DM	2.7 bcd	10.4 abc	13.1 defg	20.0 cd	24 cde	28.0de	33.1fg	40.9gh
Livanil DB	4.2 abc	11.3 ab	15.3bcde	21.3 bc	27. abc	34.4bc	45.1de	50.7de
Folicur 250 EW DA	0.0 e*	0.0 e	0.0 j	0.0 h	0.0 k	0.0 i	0.0 k	0.0 l
Folicur 250 EW DM	0.0 e	0.0 e	0.0 j	0.0 h	0.0 k	0.0 i	0.0 k	0.0 l
Folicur 250 EW DB	0.0 e	0.0 e	0.0 j	0.0 h	0.0 k	0.0 i	0.0 k	0.0 l
Previcur Energy DA	3.8abcd	8.7 bcd	11.6 fgh	15.8 e	18.0 fg	22.2 fg	32.7 g	43.8gh
Previcur Energy DM	3.8abcd	8.7 bcd	12.7 efg	16.4 de	20.2 efg	24.9 ef	35.3 fg	46.4 fg
Previcur Energy DB	4.2abcd	10.7 abc	16.2abcd	20.2 cd	21.8 def	26.4de	37.6 ef	48.7 ef
Sportak 45 CE DA	0.0 e	0.0 e	0.0 j	0.0 h	0.0 k	0.0 i	0.0 k	0.0 l
Sportak 45 CE DM	0.0 e	0.0 e	0.0 j	0.0 h	0.0 k	0.0 i	0.0 k	0.0 l
Sportak 45 CE DB	0.0 e	0.0 e	0.0 j	0.0 h	0.0 k	0.0 i	0.0 k	0.0 l
Cabrio C DA	3.3 bcd	10.2 bcd	10.9 ghi	10.7 g	12.7 ij	10.7 h	11.6 j	12.0 k
Cabrio C DM	3.1 bcd	8.4 cd	9.1 hi	10.4 g	12.0 j	13.6 h	13.8 ij	15.3 j
Cabrio C DB	5.1abcd	10.9 abc	12.2 efg	14.2 ef	16.4 ghi	19.6 g	22.2 h	28.0 i
Flunclin DA	4.9 ab	10.9 abc	14.4 cdef	21.3 c	24.0cde	32.7cd	53.3cd	74.4cd
Flunclin DM	6.2 abc	8.9 bcd	16.7 abc	23.6abc	26.2bcd	34.9bc	55.6cb	76.7bc
Flunclin DB	4.9 ab	10.2 abc	20.0 ab	26.9 ab	29.6 ab	38.2ab	58.9ab	80.0ab
Merivon DA	2.2 cde	7.8 d	8.7 i	11.1 fg	13.3 hij	14.2 h	15.6 i	12.7 j
Merivon DM	1.6 de	7.8 d	8.4 i	10.2 g	10.8j	11.6 h	12.4 ij	14.7 k
Merivon DB	3.6 bcd	7.8 d	9.1 hi	9.8 g	10.7 j	13.1 h	14.7 i	16.9 jk
Testigo	10.5 a	18.7 a	23.3 a	30.2 a	32.9 a	41.6 a	62.2 a	83.3a

*Letras diferentes en una misma columna muestran diferencias significativas según prueba de Tukey ($P \geq 0.05$).
DB = Dosis baja, DM = Dosis media y DA = Dosis alta.

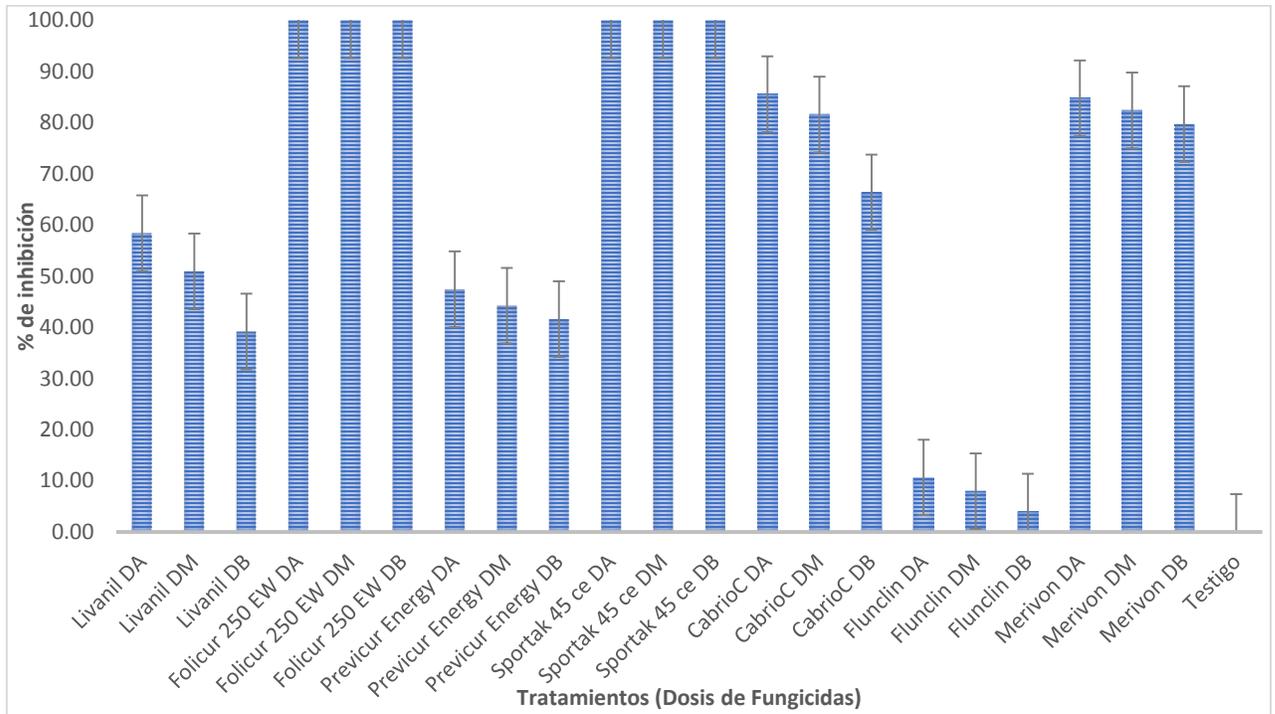


Figura 13. Efecto de fungicidas *in vitro* en la inhibición micelial de *Didymella bryoniae* en la octava evaluación.

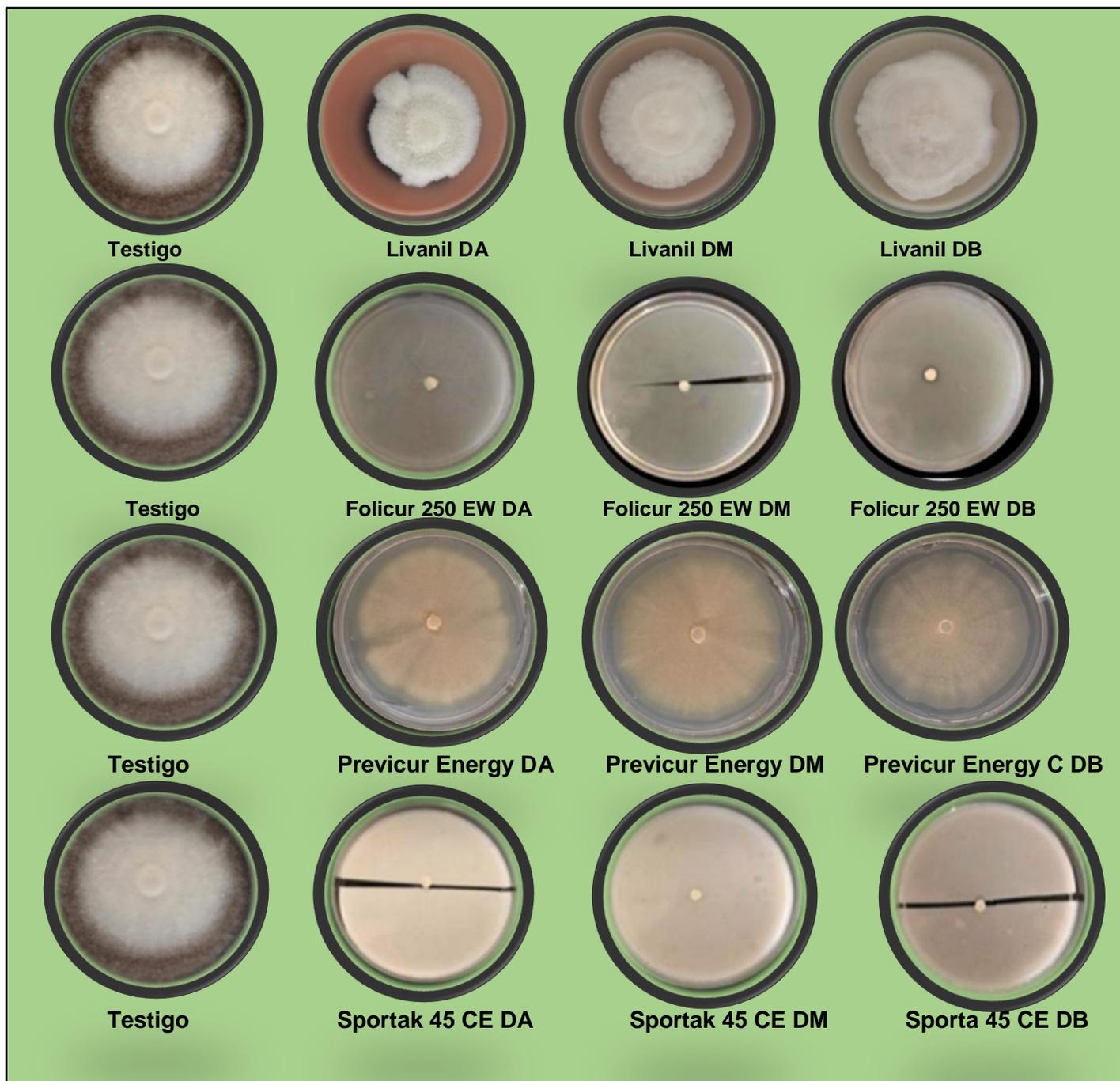


Figura 14. Efecto de Livanil, Folicur, Previcur Energy y Sportak 45 CE en tres diferentes dosis en el crecimiento colonial *in vitro* de *Didymella bryoniae*.



Figura 15. Efecto de Cabrio C, Flunclin y Merivon en tres dosis diferentes en el crecimiento colonial *in vitro* de *Didymella bryoniae*.

VI. CONCLUSIONES

1.- El agente causal del tizón gomoso de cucurbitáceas en el Oriente del estado de Morelos, con base a las características morfológicas, corresponde con *Didymella bryoniae*, debido a que en las pruebas de patogenicidad mostro los síntomas en cucurbitáceas.

2.- Los fungicidas Folicur 250 EW y Sportak 45 CE inhibieron el crecimiento micelial de *Didymella bryoniae* en sus tres diferentes dosis en 100%, pero Flunclin no tuvo efecto significativo al inhibir solo el 10% de su crecimiento.

VII. LITERATURA CITADA

- Abbott, W.S. (1925). A method of computing the effectiveness of fan Insecticide. *Journal of Economic Entomology* 18:265-267.
- Agrios, G.N. (1994). Fitopatología. 2ª. Edición. Editorial Limusa, S.A. de C.V. México, D.F. 838 P.
- Ahmed, S. (2006). Las cucurbitáceas. Importancia económica, bioquímica y medicinal. *Colombia: universidad nacional de Colombia*, 1: 405-430.
- Alahakoon, P., Screnivasana, S., Brown, A. and Mills, P. (1996). Selection of genetic variant within *Colletotrichum gloeosporioides* isolates pathogenic on mango by passaging thorough wounded tomato fruits. *Physiological and Molecular Plant Pathology* 41:227-240.
- Ambrósio, M.M.Q., Bueno, C.J., Padovani, C.R. & Souza, N.L. (2009). Sobrevivência de fungos fitopatogênicos habitantes do solo, em microcosmo, simulando solarização com prévia incorporação de materiais orgânicos. *Summa Phytopathologica* 35: 20-25.
- Anaya, R.S. (1999). *Hortalizas Plagas y Enfermedades* (1ª ed.). México. D. F: Editorial Trillas.
- Ariasi, M.F. & Gatica, M.E. (2009). *Didimella bryoniae*, causante de la podredumbre negra en frutos de zapallo. Paper presented at the XIII Jornadas Fitosanitarias Argentinas, Termas de Río Hondo.
- Barnett, H.I. & Hunter, B.B. (1986). Illustrated genera of imperfect fungi. St. Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society.
- Barnett, H.L. and Hunter, B.B. (1987). Illustrated genera of imperfect fungi. 4ta. Ed. MacMillan Publishing Company. U.S.A. 218 P.

- Basurto, F., Castro, D., Mera, L.M. & Juárez, T. (2018). Etnobotánica de las calabazas cultivadas (*Cucurbita* spp.) en Valles Centrales de Oaxaca, México. *Agro Productividad* 1(10): 47-53.
- Bedendo, I.P., Amorim, L. & Mattos, Jr, D. (2018). Ambiente e Doença. In L. Amorim, J. A. M. Rezende & A. Bergamin Jr (Eds.), *Manual de Fitopatologia* (pp. 93-102). Ouro Fino: Agronômica Ceres Ltda.
- Beltrá, R. y López, M.M. (1994). Mancha angular. *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans*. En (Díaz Ruiz, J.R.; García Jiménez, J.). Enfermedades de las cucurbitáceas en España. Monografías de la SEF 1: 23.
- Blancard, D., Lecoq, H. y Pitrat, M. (1996). Enfermedades de las Cucurbitáceas (Observar, Identificar, Luchar) Edición Español. Ediciones Mundi – Prensa, Libros, S.A.; Castellón, Madrid. 301 P.
- Blancard, D., Lecoq, H. and Pitrat, M. (2005). A color atlas of cucurbits diseases (observation, identification and control). Manson Publishing, London.
- Boothroyd, C.W. y Daniel, A.R. (1978). Fundamentos de Patología Vegetal. Editorial ACRIBIA, Zaragoza, España. 392 P.
- Cabrera, A.L. (1993). Cucurbitaceae, en: A. L. Cabrera (ed.), Fl. Prov. Jujuy, Colec. Ci. INTA. 13(9): 472-515.
- Cardoso, M.O., Boher, B. & Ávila, A.C. (2001). Doenças das cucurbitáceas do Estado do Amazonas. *Circular Técnica*. Consultado 5 de junio de 2014, from http://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/CPAA-2009-09/7055/1/circ_tec9.pdf[13]
- Castaños, C.M. (1993). Horticultura (Manejo Simplificado) 1ª. Edición. Universidad Autónoma Chapingo. Estado de México. 527 P.

- Castillo, P.N. & Briones, C.F. (1983). El Pepino en Invernadero. España: Caja Rural Provincial de Almería.
- Cepeda, S.M. (1996). Nematología Agrícola. 1ª. Edición. Edit. Trillas, S.A. de C.V. México, D.F. 305 P.
- Chupp, Ch. and Sherf, A.F. 1960. Vegetable disease and their control. The Ronald Press Company. United States of America. 693 P.
- Colino, M.I., Santiago, R., Arribas, M.C. (2004). *Pseudomonas syringae* pv. *lachrymans* (Smith y Bryan) Young, Dye y Wilkie. Fichas de diagnóstico en laboratorio de organismos nocivos de los vegetales. Ficha 233. Ministerio de Agricultura, Pesca y Alimentación. Madrid.
- Conti, M., Gallitelli, D., Lisa, V., Lovisolo, O., Martelli, G.P., Ragozzino, A., Rana, G.L. y Volvas, C. (2000). Principales virus de las plantas hortícolas. Traducido al español de J M Mateo Box. (Ed.) Mundi Prensa. España 206
- Coutts, B.A., Kehoe, M.A. and Jones, R.A.C. (2013). Zucchini yellow mosaic virus: Contact transmission, stability on surfaces, and inactivation with disinfectants. Plant Disease 6: 765-771.
- Dan, S. (1997). Productores de Hortalizas. La marchitez misteriosa ataca los cultivos de melón. Febrero. Año 6. No. 2.
- Della, P., & Miglierina, A.M. (2013). Manual del cultivo del zapallo Anquito (*Cucurbita moschata* Duch.) San Carlos, Mendoza: Ediciones INTA.
- Desbiez, C. and Lecoq, H. 1997. Review: Zucchini yellow mosaic virus. Plant Pathology 46: 809-829.
- Díaz, F.A. (1993). Enfermedades infecciosas de los cultivos; 1ª. Edición. Editorial TRILLAS, S.A. de C.V. México D.F. 288 P.

- Díaz, J. & Monge, J. (2017). Producción de melón (*Cucumis melo* L.) en invernadero: efecto de poda y densidad de siembra. *Revista Electrónica del Sistema de Estudios de Posgrado* 15(1): 1-12. <http://investiga.uned.ac.cr/revistas/index.php/posgrado/article/viewFile/1821/2037>
- Duffus, J.E. (1987). Whitefly transmission of plant viruses. *Current Topics Vector Resume* 4:73-91.
- Esteras, C., Nuez, F. & Picó, B. (2012). Genetic diversity studies in Cucurbits using molecular tools. In Y. Wang, T. Behera & C. Kole (Eds.), *Cucurbits: Genetics, Genomics and Breeding of Cucurbits* (pp. 140-198). New Hampshire: Science Publishers Inc, Enfield.
- FAO. (2018). Producción agrícola. Citricultura. Organización de la Naciones Unidas para la Alimentación y la Agricultura. Disponible en: <https://bit.ly/2L1KZxh>. Fecha de consulta: 10/05/2020.
- Fauquet, C., Mayo, M.A., Maniloff, J., Desselberg, U. and Ball, L.A. (2005). Virus taxonomy. Eight Report of International Committee on Taxonomy of virus. Elsevier, London.
- Félix, R., Maldonado, I., Beltran, H., Apodaca, M., Espinoza, S., Martínez, M. & Olivas, N. (2017). Powdery mildews in agricultural crops of Sinaloa: Current status on their identification and future research lines. *Revista Mexicana de Fitopatología*, 35(1): XXXXX.
- Ferguson, J.S. and Chapman, R. K. (1993). Factors involved in Carbaryl-induced population buildups 57 of *Myzus persicae* (Sulzer) (Homoptera: Aphididae) on potato. *J. Agric. Entomol.* 10(1): 51-64.
- Fisher, J.R. (2013). Identification of a cucumber mosaic virus subgroup II strain associated with virus-like symptoms on Hosta in Ohio. Online. *Plant Health Progress* doi: 10.1094/PHP2013-123-01-BR.

- FRAC. (2018a). Definition of fungicide resistance. Consultado 12 de noviembre 2018, from <http://www.frac.info/resistance-overview>
- FRAC. (2018b). FRAC (Fungicide Resistance Action Committee) Code List ©*2018: Fungicides sorted by mode of action (including FRAC Code numbering) Consultado mayo 29 de 2018, from <http://www.phibase.org/images/fracCodeList.pdf>
- FRAC. (2018c). Site of action and mechanism (s) of resistance. Consultado 17 de julio de 2018, from [http://www.frac.info/expert-fora/benzimidazoles/soa-and-mechanism\(s\)-of-resistance](http://www.frac.info/expert-fora/benzimidazoles/soa-and-mechanism(s)-of-resistance)
- Furukawa, T., Ono, Y. & Kishi, K. (2007). Gummy stem blight of balsam pear caused by *Didymella bryoniae* and its anamorph *Phoma cucurbitacearum*. *Jour. General Plant Pathology* 73(2): 125-128.
- Gowan. (2019). TREVANIL[®] 720 FW. Ficha Técnica. Mexico.
- Holliday, P. 1980. Fungus Disease of Tropical Crops. Cambridge University Press, G. B.
- Hopkins, D.L., Thomas, C.E. y Zitter, T.A. (1996). Compendium of Cucurbit Diseases; PAsPRESS, The American Phytopathological Society. USA. 87 P.
- Host, R.K. (2008). Westcott's plant disease handbook. 7 th ed. Springer. New York. 1317 p.
- Index Fungorum. (2018). Consultado 8 septiembre de, 2018, from <http://www.indexfungorum.org/Index.htm>
- INIFAP. (2014). El melón: Tecnologías de Producción y Comercialización. Consultado 9 octubre de 2017, from <http://www.siea.sagarpa.gob.mx/InfOMer/analisis/anmelon.htm>

- Kapteyn, J., Milling, R., Simpson, D. & De Waard, M. (1994). Inhibition of sterol biosynthesis in cell-free extracts of *Botrytis cinerea* by prochloraz and prochloraz analogues. *Pestic Sci*, 40:313-319.
- Keinath, A.P. (2008). Survival of *Didymella bryoniae* in infested muskmelon crowns in South Carolina. *Plant Disease* 92(8): 1223-1228.
- Keinath, A.P. (2013). Diagnostic guide for gummy stem Blight and black rot in cucurbits. OnLine *Plant Management Network*. doi: 10.1094/PHP-2013-1024-01-DG
- Keinath, A.P. & DuBose, V.B. (2009). Evaluation of triazoles and other fungicides for control of gummy stem blight on watermelon. *Rev. Plant Dis. Manag. Reports* 3:34.
- Keinath, A.P. & Zitter, T.A. (1998). Resistance to Benomyl and Thiophanate-methyl in *Didymella bryoniae* from South Carolina and New York. *Plant Disease*, 82: 479-484.
- Laínez, D., & Krarup, C. (2008). Caracterización en pre y poscosecha de dos cultivares de melón reticulado del tipo Oriental (*Cucumis melo* Grupo Cantalupensis). *Ciencia e Investigación Agraria*, 35(1): 59-66. doi: <https://dx.doi.org/10.4067/S0718-16202008000100006>
- Lebeda, A. & Cohen, Y. (2011). Cucurbit downy mildew (*Pseudoperonospora cubensis*): Biology, ecology, epidemiology, host-pathogen interaction and control. *European journal of plant pathology* 129(2): 157-192.
- Lecoq, H. (2003). Cucurbits. p. 670-688. In G. Loebenstein and G. Thottappilly (ed). *Virus and virus-like diseases of major crops in developing countries*. Kluwer Academic Publishers, The Netherlands.
- Lecoq, H. and Desbiez, C. 2012. Virus of cucurbits crops in the Mediterranean Region: an everchanging picture. p. 67-126. In G. Loebenstein and H.

- Lecoq (ed). Viruses and virus diseases of the vegetables in the Mediterranean basin. Academic Press, San Diego, CA, USA.
- Lim, J.H. & Kim, S.D. (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: 766-773.
- Lima, L., da Silva, W.L., Lima, D.C., Schmitz, A., Mayumi, J. & Fernandes, F. (2018). Controle biológico de cancro das hastes (*Didymella bryoniae*) em cultivo de melancia. *Congrega urcamp*, 15(15): 941-959.
- Lu, H., Zou, W.X., Meng, C.J., Hu, J. & Tan, R. 2000. New bioactive metabolites produced by *Colletotrichum* spp., an endophytic fungus in *Artemisa annua*. Plant Science 151: 67-73.
- Maroto, J.V., Gómez, A.M. & Pomares, F. (2002). El Cultivo de la Sandía (1^{ra} ed.). España: Fundación Caja Rural.
- Martínez, B.C., Pérez, J.G., Infante, D., Duarte, Y. & Moreno, M. (2012). Evaluación in vitro de aislamientos de *Trichoderma* spp. frente a *Didymella bryoniae* (Fuckel) Rehm. *Rev. Protección Veg*, 27(3): 10-18.
- Matias, L. (2018). Reação de génotipos de meloeiro à *Didymella bryoniae* e ajuste na metodologia de avaliação. (Tesis en opción al título de Master en Agronomía. Genética y Mejoramiento de Plantas), Universidad Estadual Paulista.
- Mendoza, Z.C. (1996). Enfermedades Fungosas de Hortalizas. UACH. Chapingo, México. 88 P.
- Messiaen, C.M., Blancard, D., Rouxel, F. & Lafon, R. 1995. Enfermedades de la Hortaliza. Tercera Edición. Ediciones Mundi Prensa. España. Pág.227-253.

- Montes, A. (1980). Horticultura. Manual Práctico Ilustrado. 2ª Edición Editores Mexicanos. México D. F. pp. 123-124.
- Norton, J.D. (1979). Herencia de la resistencia al tizón del tallo gomoso en la sandía. HortScience 14: 630-632.
- Ortiz, M.A. (2015). Investigación del Zambo que se produce en el cantón Cotacachi y propuesta gastronómica. (Trabajo de Titulación previo a la obtención del título de Administrador Gastronómico), Universidad Tecnológica Equinoccial, Quito, Ecuador.
- Park, S.M., Jung, H.J., Kim, H.S. & Yu, T.S. (2006). Aislamiento y condiciones óptimas de cultivo de *Brevibacillus sp.* KMU-391 contra patógenos de raíz negros causados por *Didymella bryoniae*. *Korean J Microbiology*, 42: 135-141.
- Pérez, J.G., Martínez, B.C., Covas, B.C. & García, H. (2012a). Sintomatología e identificación del agente causal del tizón gomoso del tallo en sandía (*Citrullus lanatus* (Thunb.) Matsum and Nakai) en la Isla de la Juventud. *Rev. Protección Veg.* 27, 3.
- Persley, D., Akem, C. and Martin, H. (2010). Cucurbits. p. 113-138. In D. Persley, T. Cooke and S. House (ed) Diseases of vegetable crops in Australia. CSIRO Publishing.
- Piunithalingam, E. and Holliday, P. (1972). *D. bryoniae*. CMI Descriptions of pathogenic fungi and bacteria No 332. Plant Dis. 86:32-38.
- Reis, E.M., Casa, R.T. & Bianchin, V. (2011). Controle de doenças de plantas pela rotação de culturas. *Summa Phytopathologica* 37: 85-91.
- Romero, C.S. 1988. Hongos Fitopatógenos. Patronato Universitario. UACH. Chapingo, México.

- Rosa, E. & Fornaris, G.J. (2003). Survey on fungal diseases affecting vegetable crops in southern Puerto Rico. *J. Agric. Univ. P. R.* 87(2-3):155-160.
- Rosa, E. & Fornaris, G.J. (2013). Survey on fungal diseases affecting vegetable crops in southern Puerto Rico. *J. Agric. P.R.* 87(2-3): 155-160.
- Rosa, M.E. (2012). Conjunto Tecnológico para la Producción de Calabaza. Estación Experimental Agrícola P-155. 136.145.11.14/eea/wp-content/uploads/sites/17/2016/04/10.-CALABAZA-ENFERMEDADES.pdf
- SAGARPA. (2018). Módulo Agrícola Estatal y Nacional. Sistema de Información Agroalimentaria de Consulta. Disponible en: <https://bit.ly/2MYdf24>. Fecha de consulta: 10/05/2020
- SAGARPA-SIAP. (2019). Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera. Base de datos en línea. Consultado febrero de 2016. http://www.sagarpa.gob.mx/subagri/desarrollo_agricola/fao/2001/nac/ABAC
- Santos, G.R., Café, F., Leao, F.F., Cesar, M. & Fernandez, E.L. (2005). Progreso do crestamento gomoso e perdasna cultura da melancia. *Hort. Bras*, 23: 230-234.
- Santos, G.R., Café, F., Leao, F.F., Cesar, M. & Fernandez, E.L. (2005). Progreso do crestamento gomoso e perdasna cultura da melancia. *Hort. Bras*, 23: 230-234.
- Santos, G.R., Leão, E.U., Castro, H.G.D., Nascimento, R.D., Sarmiento, R.D.A. & Sarmiento-Brum, R.B.C. (2011a). Crestamento gomoso do caule da melancia: Etiologia, epidemiologia e medidas de controle. *Journal of Biotechnology and Biodiversity*, 2(2): 52-58.
- SAS Institute Inc. (1996.). SAS Use's Guide. Statistics. Cary, NC: Release 6.12

- Sherf, A.F. y A.A. MacNav. 1986. Vegetables diseases and their control. 2da. Edición. John Wiley and Sons. United States of America. 328-331, 334-338 P.
- SIAP. (2019). Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Base de datos en línea. Consultada marzo 2019. <http://infosiap.siap.gob.mx/gobmx/datosAbiertos.php>
- Sikora, E.J. (1994). Gummy stem blight of cucurbits. *Plant Disease*. Consultado 31 de mayo 2014, from <http://www.desaveal.ual.es/sifa/ayudas/tmelon.htm>
- Sikora, E.J. (1994). Gummy stem blight of cucurbits. *Plant Disease*. Consultado 31 de mayo 2014, from <http://www.desaveal.ual.es/sifa/ayudas/tmelon.htm>
- Sitterly, W. & Keinath, A. (2017). Gummy Stem Blight. APS. Consultado 22 de octubre de 2017, from <http://www.apsnet.org/publications/apsnetfeatures/Pages/GummyStemBlight.aspx>
- Smith, S.N. (2007). An overview of ecological and habitat aspect in the genus *Fusarium* with special emphasis on the soil-borne pathogenic forms. *Plant Pathology Bulletin* 16:97-120.
- Suheri, H. and Latin, R.X. 1991. Retencton of fungicides for control of *Alternaria* leaf blight of muskmelon under greenhouse conditions. *Plant Disease*. 75 (10): 1013-1015.
- Svedelius, G. (2002). Effects of environmental factors and leaf age on growth and infectivity of *Didymella bryoniae*. *Mycological Research* 97: 885-889
- Töfoli, J.G. & Domingues, R.J. (2019). Effect of various fungicides in the control of *Alternaria* leaf blight in carrot crops. *Biológico* 81(1): 1-30.

- Valla, J.J. (2005). Botánica: morfología de las plantas superiores. Buenos Aires, Hemisferio Sur. ISBN 950-504-378-3.
- Viana, F.M.P., Santos, A.A., Freire, F.C.O., Cardoso, J.E. & Vidal, J.C. (2001). *Recomendações para o controle das principais doenças que afetam a cultura do melão na Região Nordeste. Circular Técnica, 12*. Brasil: Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical.
- Vinggaard, A., Hass, U., Dalgaard, M., Andersen, H., Jørgensen, E., Christiansen, S. & Poulsen, M. (2005). Prochloraz: an imidazole fungicide with multiple mechanisms of action. *Int J Androl*, 29: 186-192.
- Wolukau, J.N., Zhou, X.H., Li, Y., Zhang, Y.B., & Chen, J.F. (2007). Resistance to gummy stem blight in melon (*Cucumis melo* L.) germplasm and inheritance of resistance from plant introductions 157076, 420145, and 323498. *Hort Science*, 42: 215-222.
- Zitter, T.A. and Murphy, J.F. (2009). Cucumber mosaic. The Plant Health Instructor. DOI: 10.1094/PHI-I2009-0518-01.
- Zitter, T.A., Hopkins, D.L. and Thomas, C.E. 2004. Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas "The American Phytopathological Society". Ediciones Mundi-Prensa, España.