

IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL DE LA ANTRACNOSIS EN ZARZAMORA (*Rubus ulmifolius*) Y SU CONTROL *in vitro*, AISLADO DE ZIRIMÌCUARO, MICHOACÀN

José Luciano Morales García

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”
Uruapan Michoacán

Vianey Cruz Torres

Universidad Michoacana de San Nicolás De Hidalgo
Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”
Uruapan Michoacán

Karina Lizeth Morales Montelongo

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”
Uruapan Michoacán

Edna Esquivel Miguel

Universidad Michoacana de San Nicolás de Hidalgo
Facultad de Agrobiología “Presidente Juárez”
Uruapan Michoacán

All content in this magazine is licensed under a Creative Commons Attribution License. Attribution-Non-Commercial-Non-Derivatives 4.0 International (CC BY-NC-ND 4.0).



Resumen: La antracnosis en zarzamora genera pérdidas importantes en pre y poscosecha ya que reduce la calidad del fruto. Las pérdidas pueden llegar hasta el 100%. El objetivo del presente trabajo fue aislar e identificar el agente causal de la antracnosis en zarzamora y evaluar la efectividad de fungicidas químicos *in vitro*. Se colectaron plantas con síntomas de antracnosis en Zirimícuaro, Michoacán, y se procesaron en medio de cultivo PDA. Se evaluaron seis fungicidas que fueron Azoxystrobin 25SC 0.4 mL PF /L agua, Tiabendazol 60WG 0.6 g PF/L, Pyraclostrobin 25CE 1.0 mL PF/L, Fludioxonil+Ciprodinil 62.5WG 1.0 g PF/L, Azoxystrobin+Propiconazol 20SE 0.4 mL PF/L y Folpet 80WDG 1.0 g PF/L y un testigo absoluto con un diseño experimental completamente al azar con cinco repeticiones. Mediante la técnica de medio de cultivo envenenado, la cual consistió en colocar los fungicidas en el medio de cultivo PDA y un disco con micelio del hongo en el centro, diariamente se tomaron mediciones del crecimiento del micelio. De acuerdo a sus características morfológicas, se identificó a *Colletotrichum gloeosporioides* como agente causal de la antracnosis en zarzamora. Los fungicidas Azoxystrobin+Propiconazol, Tiabendazol y Pyraclostrobin lograron una inhibición del 100% del crecimiento del micelio.

Palabras clave: *Colletotrichum gloeosporioides*, agente causal, patogenicidad, control *in vitro*.

INTRODUCCIÓN

La zarzamora (*Rubus ulmifolius*), es un producto de importancia para la exportación debido a su alta rentabilidad, rápida recuperación de la inversión, versatilidad de uso y alta demanda en Norteamérica (Rojas, 2020). México se ubica como el principal productor de zarzamora a nivel mundial. Se cultiva en 12 estados del país, Michoacán su

principal productor con el 97% del total de la producción de esta frutilla (SADER, 2021).

La zarzamora requiere de gran cuidado sobre todo por las enfermedades que la atacan como son el mildew polvoso (*Oidium* sp.), la antracnosis y el moho gris (*Botrytis cinerea*) (Botero *et al.* 2002).

La antracnosis, causada por diferentes especies del género *Colletotrichum*, es una enfermedad que ocasiona pérdidas entre 53% y 70% en cultivos de zarzamora (Botero *et al.* 2002); ya que produce grandes pérdidas desde floración y hasta poscosecha, siendo en esta última etapa donde llega a disminuir drásticamente la producción y calidad de la fruta (INIFAP, 2022)

La antracnosis es una enfermedad del follaje, tallos o frutos que típicamente aparecen como manchas grandes o pequeñas de colores oscuros, o lesiones ligeramente sumidas que posee un contorno ligeramente levantado. Además de las manchas foliares, las antracnosis con frecuencia tienen una etapa inicial prolongada en la infección de los frutos y pueden producir la muerte descendente de las ramitas o ramas de las plantas. En algunas de ellas, en particular las que muestran una gran severidad sobre los árboles frutales, los síntomas aparecen como pequeñas manchas que poseen superficies corchosas salientes. Las antracnosis de los frutos con frecuencia producen la caída y pudrición de éstos (Agrios, 1989).

En zarzamora la antracnosis se caracteriza por presentar lesiones de color castaño-claro encerradas por un borde castaño-oscuro. Las lesiones usualmente se inician en la porción basal de las espinas y en los sitios de inserción de las ramas, los pecíolos y los pedúnculos (Cedeño y Palacios, 1991) luego se produce el secamiento y la muerte de la planta (Franco y Giraldo, 2002) también produce lesiones en el estolón y en los frutos, causando importantes pérdidas de la cosecha (Smith y Black, 1987).

Dada la importancia de esta enfermedad y esclarecer el agente causal el objetivo de esta investigación fue aislar e identificar el agente causal de la antracnosis en zarzamora y evaluar el producto más efectivo para su control en condiciones *in vitro*.

MATERIALES Y MÉTODOS

MUESTREO

Las muestras se tomaron en la huerta “El Nogal” en Zirimícuaro Municipio de Ziracuaretiro, Michoacán de Ocampo, México a una altura de 1,340 metros sobre el nivel del mar. Se muestrearon hojas de zarzamora variedad Tupy de forma aleatoria con síntomas de enfermedad, las muestras colectadas se colocaron en bolsas de papel y se procesaron en el laboratorio de Fitopatología.

AISLAMIENTO E IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL

Se lavaron las hojas con agua potable y jabón y se dejó secar. Con un bisturí se hicieron cortes de aproximadamente 0.5 cm de las hojas dañadas, procurando que contuvieran parte enferma y parte sana, se colocaron los cortes en una capsula de porcelana, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% durante 30 segundos, se realizó un triple lavado con agua destilada estéril para eliminar la presencia de cloro y se colocaron en toallas de papel esterilizadas para eliminar el exceso de humedad, se colocaron cinco trozos de tejido de manera equidistante en cajas Petri con medio de cultivo Papa Dextrosa Agar PDA, se sellaron con kleen pack, se etiquetaron y se colocaron en una incubadora a 28°C a una humedad del 80%. Cuando se observó crecimiento del micelio se purifico a punta de hifa.

Para la identificación se hicieron preparaciones de micelio procedentes de cepas puras, y se utilizaron las claves de Barnett y Hunter (2006).

PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Para la inoculación se preparó 250 mL de una suspensión de conidios a una concentración de 1×10^6 esporas/mL para cada planta. El conteo de conidios se determinó con el apoyo de una cámara de Neubauer, de acuerdo con la recomendación descrita por French y Hebert (1980). Se le hicieron heridas con un alfiler entomológico a 4 plantas y se les asperjo la suspensión, después se colocó una bolsa plástica con la finalidad de mantener las condiciones adecuadas para el patógeno. Se utilizó una planta como testigo.

PRUEBAS DE CONTROL *IN VITRO*

Se utilizaron seis fungicidas químicos con dosis del producto formulado Azoxystrobin 25SC 0.4 mL PF/L agua, Tiabendazol 60WG 0.6 g PF/L, Pyraclostrobin 25CE 1.0 mL PF/L, Fludioxonil+Ciprodinil 62.5WG 1.0 g PF/L, Azoxystrobin+Propiconazol 20SE 0.4 mL PF/L y Folpet 80WDG 1.0 g PF/L. se utilizó la técnica de medio de cultivo envenenado donde se adicionaron los fungicidas al medio de cultivo PDA y un testigo absoluto sin fungicida. Se colocaron discos de PDA con micelio y fructificaciones del hongo, se sellaron, se incubaron a 28°C a una humedad del 80%, y se estuvieron monitoreando y midiendo diariamente, hasta que el testigo lleno la caja.

DISEÑO EXPERIMENTAL

El diseño experimental fue completamente al azar, seis tratamientos, cinco repeticiones y un testigo absoluto. Se realizó un análisis estadístico (ANOVA) y pruebas de significancia de Tukey a $P < 0.05$, se utilizó el programa JMP.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

IDENTIFICACIÓN DEL AGENTE CAUSAL

De las cepas obtenidas se identificó a *Colletotrichum gloeosporioides* (fase anamórfica, asexual o imperfecta) y *Glomerella cingulata* (fase teleomórfica, sexual o perfecta). Se observaron hifas septadas (Roca *et al.*, 2000), los conidios son variables en tamaño, de forma cilíndrica y obtusos en el ápice, con medidas de 9 a 24 µm de largo y 3 a 4.5 µm de ancho (Cano *et al.*, 2004). El micelio se caracterizó por ser blanco y algodonoso, con masas conoidales salmón y negras (Figura 1).

Según Cedeño y Palacios (1991) y Santiago (2004), la especie *Colletotrichum gloeosporioides*, fue identificada como la causante de la enfermedad de antracnosis que destruye las cañas de zarzamora en la región de Venezuela, lo que concuerda con este trabajo sin embargo, en otras investigaciones por Álvarez *et al.* (2006) se encontró a *Colletotrichum acutatum* como agente causal identificado mediante ITS (Internal Transcribed Spacers), Olivera *et al.* (2005), Afanador *et al.* (2006) y Álvarez *et al.* (2006) mencionan que es frecuente encontrar asociación de dos especies del género *Colletotrichum*, (*C. gloeosporioides* y *C. acutatum*) como es el caso de Olivo en el que encontraron las dos especies, Así mismo, en 83 aislamientos monospóricos de *Colletotrichum* spp. procedentes de cultivos de mora se encontraron estas dos especies. Finalmente Botero *et al.* (2002) señalan que la antracnosis, en zarzamora es causada por diferentes especies del género *Colletotrichum*.

PRUEBAS DE PATOGENICIDAD

Los síntomas desarrollados en las pruebas de patogenicidad fueron similares a los síntomas de las plantas colectadas con antracnosis, se caracterizaron por presentar lesiones oscuras y hundidas, en hojas y tallos,

concordando con los síntomas descritos por Cedeño y Palacios (1991), Franco y Giraldo (2002) y Smith y Black (1987) (Figura 2).

CONTROL IN VITRO

Se determinó que *Colletotrichum gloeosporioides* es susceptible a los tratamientos utilizados, ya que presentaron diferencias significativas entre los tratamientos para la variable porcentaje de Inhibición del crecimiento del micelio (PICM). Todos los tratamientos excepto Folpet tuvieron un porcentaje de inhibición de micelio similar estadísticamente significativo (Figura 3).

Los resultados de este trabajo concuerdan con Chávez *et al.* (2012) que evaluaron la eficacia de 4 funguicidas para el control de antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en frutos de papaya en poscosecha resultando eficaces Bankit Gold (Azoxystrobin + Fludioxonil), Switch (Cyprodinil + Fludioxonil), Sportak (Procloraz) y Cabrio (Boscalid + Pyraclostrobin), también Hernández y López (2018) reportaron que el fungicida a base de Propiconazol controla el crecimiento del *Colletotrichum gloeosporioides* en Guanábana.

CONCLUSIONES

Colletotrichum gloeosporioides es el agente causal de la antracnosis en zarzamora.

Estadísticamente los mejores ingredientes activos para el control de antracnosis en zarzamora fueron Azoxystrobin+propiconazol, Tiabendazol y Pyraclostrobin.

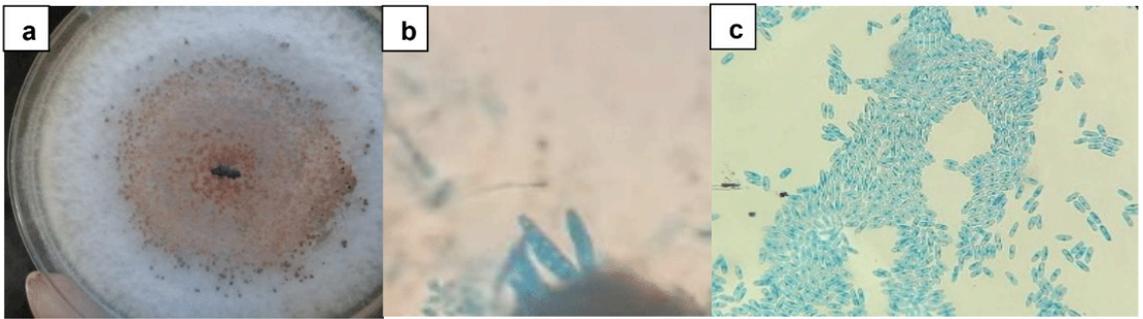
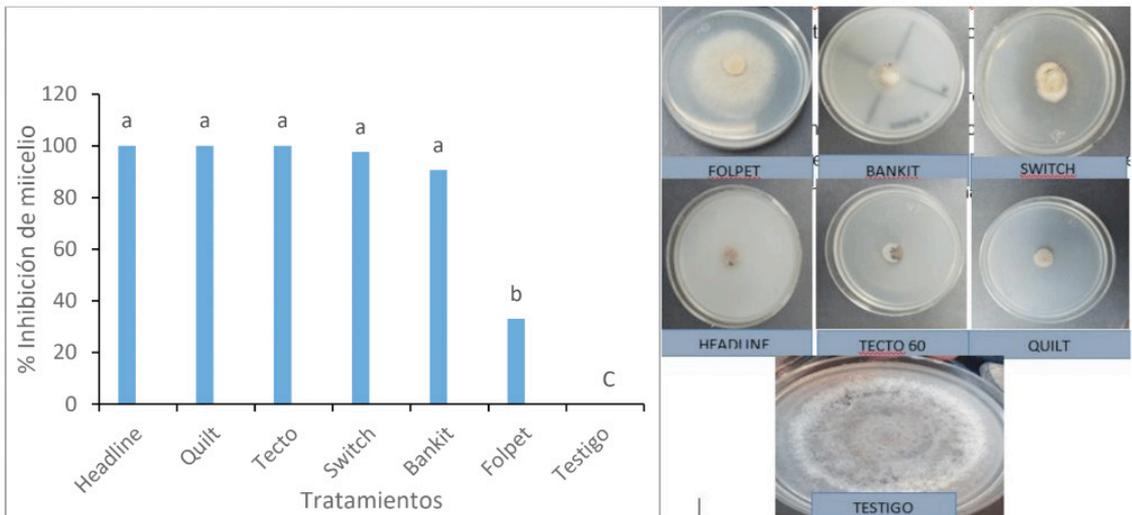


Figura 1. a) micelio blanco algodónoso con masas conidiales salmon, b) ascas de *Glomerella cingulata* c) conidios cilíndricos y obtusos en el ápice.



Figura 2. Síntomas de plantas inoculadas con aislados de *Colletotrichum gloeosporioides*



Letras diferentes indican diferencias estadísticamente significativas de acuerdo con la prueba de Tukey ($\alpha = 0.05$).

Figura 3. Porcentaje de inhibición de micelio de cada fungicida sobre *Colletotrichum gloeosporioides* donde se puede observar que estadísticamente Folpet obtuvo el menor porcentaje de inhibición.

REFERENCIAS

- Afanador L., Alvarez E., González A. 2006. Antracnose of blackberry (*Rubus glaucus* Benth.): Variability in species and races of the causal agent and identification of sources of resistance to the disease. CIAT. Annual Report
- Agrios, G. 1989. Plant pathology, 3th. ed. Academic Press.
- Álvarez E., Arenas A., Mejía J. 2006. Molecular and pathogenic characterization of isolates of *Colletotrichum* spp. associated with anthracnose of Andean blackberry on accessions from Valle del Cauca. 2006. CIAT Annual Report
- Botero M., Ríos G., Franco G., Romero M., Pérez J., Morales J., Gallego J., y Echeverry D. 2002. Identificación y especialización de enfermedades asociadas a los cultivos de mora (*Rubus glaucus* Benth) en el eje cafetero. IV Seminario de frutales de clima frío moderado. pp, 87-92
- Cano, J., Guarro, J., and Gene J. 2004. Molecular and morphological identification of *Colletotrichum* species of clinical interest. Journal of Clinical Microbiology 42:2450–2454.
- Cedeño M. y Palacios P. 1991. Antracnosis en mora de Castilla (*Rubus glaucus*) causada por *Glomerella cingulata* en Venezuela. Fitopatología Venezolana 4: 17-2
- Chávez A. J. Jesús, A. C.-C., G. E.-L., (2012). Control Químico en postcosecha de la Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en el cultivo de papayo (*Carica papaya* L.). Disponible en <http://inifapcirne.gob.mx/Congreso/RESUMENES%20EN%20PDF/200.pdf>
- Franco G. y Giraldo M. 2002. El cultivo de la mora. Corpoica Regional 9. 78 pp.
- Hernández B. G. y López R. N. A. 2018. Evaluación de fungicidas para el control de la enfermedad Antracnosis (*Colletotrichum gloeosporioides*) en el cultivo de Guanábana (*Annona muricata* L.). Disponible en <https://repositorio.unillanos.edu.co/bitstream/handle/001/1369/EVALUACION%20DE%20FUNGICIDAS%20PARA%20EL%20CONTROL%20DE%20LA%20ENFERMEDAD%20ANTRACNOSIS%20%28Colletotrichum%20gloeosporioides%29%20en%20el%20cultivo%20de%20guanabana.pdf?sequence=3>
- INIFAP, Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias (2022). Fungicidas para el control de la antracnosis del mango en postcosecha. Disponible en <https://www.gob.mx/inifap/articulos/fungicidas-para-el-control-de-la-antracnosis-del-mango-en-postcosecha>.
- Oliveira R., Moral J., Bouhmidj K., Traperó A. 2005. Caracterización morfológica y cultural de aislados de (*Colletotrichum* spp.) causantes de la antracnosis del olivo. Bol san veg. Plagas 31
- Roca, M.M.G., Ongarelli, M.G., Davide, L.C., and Mendes, C.M.C. 2000. Ultrastructural aspects in perithecia hyphae septal pores of *Glomerella cingulata* f. sp. *phaseoli*. Brazilian Journal of Microbiology 31:223–225.
- Rojas, B. S. (2020). Análisis morfológico de plantas de Zarcamora (*Rubus Subgenero Eubatus*) inoculadas con bacterias endófitas y hongos fitopatogénos.
- SADER. Secretaría de Agricultura, ganadería y Desarrollo Rural . (2021). Zarcamora, La Frutilla número uno de México Obtenido de <https://www.gob.mx/agricultura/articulos/zarcamora-la-frutilla-numero-uno-de-mexico#:~:text=Con%20una%20producci%C3%B3n%20de%202015,la%20producci%C3%B3n%20de%20esta%20frutilla>.
- Santiago, J. C. (2004). Actividad antifúngica *in vitro* e *in vivo* de Quitosan, *Larrea tridentata* (D.C) Coville y mezclas de ambos bioproductos en cinco cepas de *Colletotrichum gloeosporioides* (PENZ.) Disponible en <http://repositorio.uaaan.mx:8080/xmlui/bitstream/handle/123456789/4194/T14722%20SANTIAGO%20%20%20CABRERA%20%20JOSE%20%20TESIS.pdf?sequence=1&isAllowed=y>
- Smith B. y Black L. 1987. Resistance of strawberry plants to *Colletotrichum fragariae* affected by environmental conditions. Plant Dis. 71: 834-837