



COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS
AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO

POSTGRADO DE FITOSANIDAD

FITOPATOLOGÍA

Etiología de la marchitez de plantas de *Sechium edule* (Jacq.) Sw. en la región centro del estado de Veracruz

GILDARDO OLGUÍN HERNÁNDEZ

T E S I S

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL

PARA OBTENER EL GRADO DE

MAESTRO EN CIENCIAS

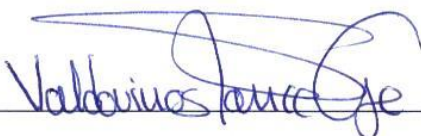
MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2013

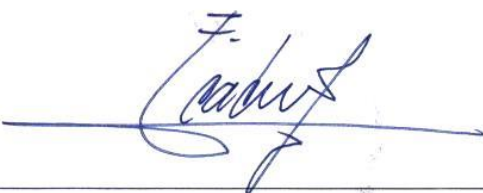
La presente tesis, titulada: **Etiología de la marchitez de plantas de *Sechium edule* (Jacq.) Sw. en la región centro del estado Veracruz**, realizada por el alumno: **Gildardo Olguín Hernández**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

MAESTRO EN CIENCIAS
FITOSANIDAD
FITOPATOLOGÍA

CONSEJO PARTICULAR

CONSEJERA:  _____

DRA. GUADALUPE VALDOVINOS PONCE

ASESOR:  _____

DR. JORGE CADENA IÑIGUEZ

ASESORA:  _____

DRA. MA. DE LOURDES ARÉVALO GALARZA

Montecillo, Texcoco, Estado de México, Junio 2013.

DEDICATORIA

A mis padres M^a del Socorro Hernández Gómez y B. Gildardo Olguín Solís

A mis hermanos: Javi, Monse, Gera y Ana, y sobrinos Ángel Darío y Angelita

A mi familia, mis tíos, tías, primos y primas

A mis amigos.

Gildardo Olguín Hernández

AGRADECIMIENTOS

Al Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT), por el financiamiento de mis estudios de Maestría.

Al Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México (GISEM), por todo el apoyo brindado en la realización de esta investigación.

A las Líneas Prioritarias de Investigación; LPI-13 Comunidades Rurales Agrarias, Ejidos y Conocimiento Local y LPI-7 Inocuidad, Calidad de alimentos y Bioseguridad por las facilidades otorgadas en esta investigación.

Al Grupo Productor de Chayotes JV, en especial a Valentín Ventura Valerio por el tiempo otorgado y su disponibilidad en la colaboración de esta investigación.

A los miembros de mi consejo particular a la Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce, Dr. Jorge Cadena Iñiguez, Dra. Ma. de Lourdes Arévalo Galarza, por su colaboración, paciencia y apoyo en la realización de este trabajo, por incluir observaciones que favorecieron la culminación de esta investigación.

A todos los docentes e investigadores del Colegio de Postgraduados.

Al M.C. Jorge Valdéz Carrasco, por su colaboración y apoyo.

A mis compañeros y amigos

CONTENIDO

ÍNDICE DE CUADROS	vii
ÍNDICE DE FIGURAS	viii
RESUMEN	ix
ABSTRACT	x
INTRODUCCIÓN GENERAL	1
CAPÍTULO I. REVISIÓN DE LITERATURA	4
Generalidades del cultivo.....	4
Producción mundial.....	5
Producción nacional.....	5
Importancia económica.....	7
Enfermedades.....	8
REFERENCIAS	14
CAPÍTULO II. ETIOLOGÍA DE LA MARCHITEZ DE PLANTAS DE CHAYOTE [<i>Sechium edule</i> (Jacq.) Sw.] EN HUERTAS COMERCIALES DE LA REGIÓN CENTRO DEL ESTADO DE VERACRUZ	21
RESUMEN	21
ABSTRACT	22
INTRODUCCIÓN	23
MATERIALES Y MÉTODOS	24
Zona de muestreo.....	24
Caracterización de síntomas y aislamiento de microorganismos.....	26
Pruebas de patogenicidad.....	26
Aislamiento de microorganismos.....	26
Preparación del inóculo.....	27
Inoculación y reaislamiento.....	27

Caracterización morfológica.....	28
Identificación molecular	28
RESULTADOS	30
Reaislamiento de microorganismos	30
Reproducción de síntomas en invernadero.....	31
Caracterización morfológica	32
Identificación molecular.....	34
DISCUSIÓN	34
CONCLUSIÓN	36
REFERENCIAS	37

ÍNDICE DE CUADROS

	Página
Cuadro 1.1. Exportación de chayote hacia Estados Unidos de América.....	5
Cuadro 1.2. Estados productores de chayote (<i>Sechium edule</i>) verde liso en México.....	6
Cuadro 1.3. Enfermedades reportadas en el cultivo de chayote (<i>Sechium edule</i>) verde liso a nivel mundial.....	10
Cuadro 1.4. Principales hongos y oomicetes causantes de enfermedades en chayote (<i>Sechium edule</i>) verde liso durante postcosecha en Coscomatepec y Huatusco, Veracruz.....	12
Cuadro 1.5. Principales enfermedades en el cultivo de chayote (<i>Sechium edule</i>) verde liso en la región centro del estado de Veracruz, México.....	13
Cuadro 2.1. Descripción geográfica, tipo de vegetación, precipitación y temperatura media anual de las localidades de colecta de plantas de chayote (<i>Sechium edule</i>) verde liso con síntomas de marchitez en Veracruz, México.....	25
Cuadro 2.2. Microorganismos aislados de plantas de chayote (<i>Sechium edule</i>) verde liso con síntomas de marchitez.....	30

ÍNDICE DE FIGURAS

	Página
Figura 2.1. Zona de muestreo de plantas de chayote (<i>Sechium edule</i>) verde liso con síntomas de marchitez en la región central de Veracruz, México.....	25
Figura 2.2. Planta de chayote (<i>Sechium edule</i>) verde liso en huerta comercial. Síntomas de marchitez (A). Zona de infección y avance de la necrosis (tejido de transición entre tallo y raíz (B)).....	26
Figura 2.3. Reproducción de síntomas en plantas de chayote (<i>Sechium edule</i>) verde liso inoculadas en invernadero. Amarillamiento foliar (A) y necrosis de la guía basal en la zona de inoculación (B).....	31
Figura 2.4. Reproducción de síntomas en planta de chayote (<i>Sechium edule</i>) verde liso inoculada en invernadero. Hojas basales senescentes.....	31
Figura 2.5. Estructuras diagnósticas de reproducción sexual y asexual de <i>Phytophthora capsici</i> aisladas de chayote (<i>Sechium edule</i>) verde liso con síntomas de marchitez. Desarrollo de esporangios en cabezuela (A). Desarrollo de esporangios sobre simpodio simple (B). Esporangios papilados (C). Esporangio con pedicelo largo (D). Germinación directa de esporangios: emitiendo hifas (E). y generando esporangios (F). Oogonios con anteridios anfígenos (G). Oospora (H).....	33

ETIOLOGÍA DE LA MARCHITEZ DE PLANTAS DE *Sechium edule* (Jacq.) Sw. EN LA REGIÓN CENTRO DEL ESTADO DE VERACRUZ

Gildardo Olgún Hernández, MC.
Colegio de Postgraduados, 2013.

A nivel mundial, México ocupa el primer lugar en producción y exportación de chayote (*Sechium edule*) tipo verde liso. La principal zona de producción se ubica en la región central de Veracruz, principalmente en los municipios de Coscomatepec, Huatusco, Ixhuatlán del Café, Chocamán, Tlilapan, Orizaba, Rafael Delgado y Amatlán de los Reyes. Como consecuencia del éxito comercial del chayote en los mercados de Norteamérica, la superficie de la producción nacional como monocultivo ha aumentado considerablemente, lo que ha generado la aparición de problemas fitosanitarios, principalmente la marchitez de plantas. Los productores han asociado este síntoma con *Phytophthora* spp. y aplican para su control fungicidas a base de metalaxyl, lo cual reduce la incidencia del patógeno. Posteriormente, se reportó la asociación de *Fusarium oxysporum* y *F. sambucinum* con los mismos síntomas, pero el estudio no comprobó que estos patógenos fueran los agentes causales primarios de la enfermedad. La falta de conocimiento sobre la etiología de este problema fitosanitario ha mermado la productividad del cultivo y debido a la aplicación indiscriminada de fungicidas, se han incrementado los costos de producción y el riesgo de seleccionar organismos resistentes al metalaxyl, sin que exista un control eficiente del problema. Con base en estos antecedentes, el objetivo de la presente investigación fue determinar la etiología de la marchitez de plantas de chayote verde liso en huertas comerciales de dos localidades de la región central de Veracruz.

Palabras clave: *Phytophthora* spp, metalaxyl, etiología, chayote.

ETIOLOGY OF *Sechium edule* (Jacq.) Sw. WILTING PLANTS IN THE CENTRAL REGION OF THE STATE OF VERACRUZ.

**Gildardo Olguín Hernández, MC.
Colegio de Postgraduados, 2013.**

Mexico is the main producer and exporter of smooth green chayote (*Sechium edule*) in the world. The most important producing regions are located in the municipalities of Coscomatepec, Huatusco, Ixhuatlán del Café, Chocamán, Tlilapan, Orizaba, Rafael Delgado and Amatlán de los Reyes in the state of Veracruz. As a result of its successful trade in the North American markets, chayote phytosanitary problems have significantly increased, mainly wilting plants. Chayote growers have associated wilting plant symptoms with *Phytophthora* spp., and they have been using metalaxyl for its control. Afterward, *Fusarium oxysporum* and *F. sambucinum* were associated with the same symptoms, but it was not proved that these pathogens were the causal agents of the disease. The lack of knowledge about the etiology of wilting plants has decreased crop yield, and due to the indiscriminate application of fungicides, the production costs have increased as well as the risk of selecting metalaxyl resistant organisms, without any efficient control. The objective of this research was to determine the etiology of chayote wilting plants in two commercial orchards of in the central region of Veracruz.

Key words: *Phytophthora* spp, metalaxyl, etiology, chayote.

INTRODUCCIÓN GENERAL

El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) es una cucurbitácea originaria de México y Centroamérica que se cultiva desde la época prehispánica. En la actualidad se produce en diferentes regiones de Asia, África, Oceanía y América (SAGARPA, 2008) y es de importancia comercial para México, Costa Rica, Nicaragua, Brasil, Cuba, India, Taiwán y China (Cadena *et al.*, 2001). La producción y comercialización a gran escala para México y Centroamérica recae en el tipo verde liso, cuyos tallos, hojas tiernas, flores y frutos se consumen como hortaliza (Cruz-León y Querol, 1985). La producción de frutos para mercados de exportación, principalmente hacia Estados Unidos de América, sobresale en importancia ya que México ocupa el primer lugar como productor y exportador (GISeM, 2011). Los principales estados productores son Veracruz, Michoacán, Jalisco, San Luis Potosí y el Estado de México (SIAP, 2011). El estado de Veracruz cuenta con 2,147 hectáreas con una producción de 147,944.5 toneladas, lo que genera 27,062 empleos que reflejan parte de la importancia social del cultivo (SIAP, 2011).

Dado el éxito comercial del chayote en los mercados de Norteamérica, la superficie de producción nacional ha aumentado considerablemente en los últimos años, lo que ha generado la aparición y establecimiento de enfermedades causadas por hongos y oomicetes, que representan una de las principales limitantes en la producción de este cultivo.

Olguín (2010), reportó la asociación de hongos y oomicetes con algunos síntomas en órganos aéreos de plantas de chayote cultivadas en huertas comerciales de Veracruz. *Nigrospora oryzae* y *Colletotrichum* spp., se asociaron a necrosis de tallos; *Alternaria alternata* al ahogamiento de

guías; *Golovinomyces cichoracearum* y *Pseudoperonospora cubensis* a cenicilla y mildiu en láminas foliares, respectivamente.

De las guías basales de plantas con síntomas de marchitamiento se aislaron a *Fusarium oxysporum* y *F. sambucinum*. En Costa Rica, Rivera *et al.* (1992), asociaron a *Pythium* spp., y *F. oxysporum* con síntomas de una enfermedad conocida como “la maya”, los cuales son similares a los reportados por Olguín (2010). Sin embargo, aunque estos estudios generan un acercamiento útil en la determinación del agente causal de la marchitez, no se tiene certeza de que en Veracruz sea el mismo organismo, ya que las condiciones ambientales y de manejo son diferentes en las regiones productoras.

En la región Centro del estado de Veracruz, la marchitez de plantas de chayote representa un serio problema ya que reduce el rendimiento y calidad de los frutos. Tomando en cuenta que el rendimiento por hectárea es de 130 ton y que la densidad de plantación para condiciones de bosque pino-encino y mesófilo de montaña es de 100-128 plantas ha⁻¹, se estima que una planta produce alrededor de una tonelada de fruto equivalente a 3,000 frutos por año, lo que representa 50 cajas de 20 kg. Considerando que el precio por fruto de exportación a Estados Unidos de América varía entre \$0.70-1.0 US dólar, se logra dimensionar la problemática que representa la pérdida de una planta por marchitez (datos no publicados).

El desconocimiento de la etiología de esta enfermedad ha encaminado a realizar aplicaciones de plaguicidas que no han sido efectivas, por lo que es necesario determinar el agente causal involucrado para establecer estrategias de manejo más eficientes que reduzcan las aplicaciones de productos químicos, el gasto en insumos, el riesgo de intoxicación tanto del aplicador como de los consumidores, y que favorezcan la obtención de productos de calidad sostenible y de bajo impacto ambiental. Con base en estos antecedentes, los objetivos de esta investigación fueron

determinar e identificar al agente causal de la marchitez de plantas de *S. edule* en la región centro del estado de Veracruz.

CAPÍTULO I

REVISIÓN DE LITERATURA

Generalidades del cultivo

El chayote (*Sechium edule*), es una especie que presenta una amplia variación en la forma y color de frutos, muchos de los cuales se conocen únicamente en mercados locales. La importancia económica de cada tipo de chayote se basa principalmente en la preferencia local, la cual, aunque en la mayoría de los casos es muy limitada, ha permitido conservar su identidad fenotípica y nomenclatura etnobotánica (Cadena-Iñiguez, 2005).

Los frutos y hojas de chayote poseen propiedades diurética (Jensen y Lai, 1986), anti-inflamatoria e hipotensora; además ayudan a la eliminación de cálculos renales y se utilizan como complemento en el tratamiento de arteriosclerosis e hipertensión; alivian la inflamación intestinal y cutánea, y favorecen la cauterización de úlceras (Diré *et al.*, 2003). Además, los frutos contienen peroxidasas, esteroides, alcaloides, saponinas, fenoles, polifenoles, flavonoides y cucurbitacinas, a los que se les atribuye actividad anti-alérgica, antiviral y antitumoral (Jayaprakasam *et al.*, 2003; Setzer y Setzer 2003, Siciliano *et al.*, 2004; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007).

Actualmente, el uso principal de la planta de chayote radica en el consumo en fresco del fruto en madurez hortícola. Existen diferentes tipos de chayote, de sabor simple o neutro, o ligeramente dulce y amargo que se consumen en diferentes guisos, caldos y sopas. También se utiliza en la industria para la elaboración de alimentos infantiles, jugos, salsas y pastas (Cadena-Iñiguez y Arévalo-Galarza, 2011).

Producción mundial

A la fecha, la información concerniente a la producción y exportación de chayote es limitada. No obstante, desde el 2008 México ocupa el primer lugar en producción y exportación de chayote verde liso a nivel mundial con el 53 % del mercado, seguido de Costa Rica y Nicaragua (Cuadro 1.1). Otros países como Guatemala, Brasil, Puerto Rico, Argelia, India, Nueva Zelanda y Australia, canalizan la producción para autoconsumo. (Cadena-Iñiguez y Arévalo- Galarza, 2011)

Cuadro 1.1. Exportación de chayote hacia Estados Unidos de América (WTA, 2009).

Año	Millones de dólares por año		
	México	Costa Rica	Nicaragua
2006	4.40	6.46	0.00
2007	5.86	7.62	0.00
2008	8.76	7.60	0.04

Producción nacional

En México, la producción de chayote se concentra en los estados de Veracruz, Michoacán y Jalisco (Cuadro 1.2), siendo Veracruz el principal productor con una superficie aproximada de 2,147 ha anuales, las cuales aportan el 83 % del volumen nacional (SIAP, 2011). Este estado produce todo el año, debido a que ha ampliado la superficie de cultivo en dos regiones agroclimáticas que se ubican en el corredor del bosque de niebla o mesófilo de montaña (Williams-Linera, 1994), en donde se encuentran los municipios de Huatusco, Ixhuatlán del

Café, Coscomatepec, Orizaba e Ixtaczoquitlán, y en la zona de selva baja caducifolia (Gómez-Pompa, 1982), donde se localizan los municipios de Actopan y Emiliano Zapata (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2001).

Cuadro 1.2. Estados productores de chayote (*Sechium edule*) verde liso en México.

Estados	Superficie Cultivada (ha)	Producción Total (Ton)	Jornales año	Empleos Equivalente¹
Veracruz	2, 147	147, 944.5	2,029,687	27,062
Michoacán	242.5	19, 136.43	229,249	3,056
Jalisco	230	8, 839	217,432	2,899
San Luis Potosí	60	1, 320	56,722	756
Estado México	50	950	47,268	630
Puebla	44	23.2	41,595	554
Yucatán	19	451.5	17,961	239
Tabasco	5	30	4,726	63
Nayarit	3.1	4	2,930	39
Total	2,800.6	178, 228.63	2,644,570	35,260

1:75 jornales equivalen a un empleo fijo (INEGI, 2005).

Fuente: (SIAP, 2011).

En condiciones naturales del sotobosque, el chayote verde liso se desarrolla como una planta trepadora eminentemente ortotrópica, mientras que en los campos de cultivo su crecimiento se ha transformado a plagiotrópico estableciendo un dosel que le permite recibir durante el día mayor radiación solar por más tiempo (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2001).

De acuerdo con Cadena-Iñiguez *et al.* (2001), la expansión del chayote, originada por su éxito comercial, ha dado lugar a la apertura de nuevas regiones de cultivo con condiciones ambientales muy diferentes a aquellas en las que la especie se desarrolla de forma natural, principalmente

regiones con baja precipitación y humedad ambiental, y alta temperatura. Este cultivo demanda aproximadamente de 936 mil a tres millones 750 mil litros de agua por hectárea y ciclo, por lo que es muy claro que bajo estas condiciones de estrés las plantas pierdan vigor y aborten las flores y frutos (Vozari-Hampe *et al.*, 1992; Dzib *et al.*, 1993; Lira-Saade, 1996), abatiéndose los niveles de producción.

Cuando la temperatura es más alta, las hojas presentan una condición de marchitez temporal que llega a confundirse con enfermedades causadas por hongos y oomicetes (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2001).

Importancia económica

En términos económicos, el chayote verde liso representa para México una fuente de divisas por concepto de exportaciones. La preferencia en los mercados de Norteamérica, sobre todo en la costa oeste de los Estados Unidos de América, lo ubican en la cuarta posición de importancia después del aguacate (*Persea americana* Mill.), jitomate (*Solanum lycopersicum* Mill.) y café (*Coffea arabica* L.) (Bancomext, 2004). En Veracruz, es un cultivo tan importante como el limón persa (*Citrus limon* (L.) Burm.), naranja (*Citrus sinensis* (L.) Osbeck) y papa (*Solanum tuberosum*) (Bancomext, 1999).

El chayote representa una valiosa alternativa para el manejo ecológico de laderas en sustitución de áreas cafetaleras bajo depresión económica, ya que no se usa el azadón ni herbicidas y disminuye el riesgo erosivo por efecto de lluvia debido al amortiguamiento que hace el dosel vegetal (emparrillado o tarima) a la gota de agua (GISeM, 2008).

El aporte continuo de materia seca debido a la poda e intercalado de cultivos como frijol ejotero (*Phaseolus vulgaris*), permite la recirculación de nutrientes, lo que a la vez favorece la nutrición

del cultivo, la estructura del suelo y la reducción del uso de insumos como mejoradores de suelo (Cadena-Iñiguez, 2005).

Las labores constantes de poda y deshoje que se realizan en las huertas convierten al chayote en un eficiente sistema generador de empleo local (Cuadro 1.2). Una superficie de 30 hectáreas produce de 2,700-3,900 ton de fruta, y su periodo de cosecha se extiende a seis meses, cortando cada tercer día (Cadena-Iñiguez y Arévalo-Galarza, 2011).

Enfermedades

A nivel mundial, se han reportado diferentes patógenos como agentes causales de enfermedades en varias especies de cucurbitáceas, incluyendo al chayote, cuya incidencia y severidad varían en función de las condiciones ambientales y del manejo del cultivo (Zitter *et al.*, 2004).

En Estados Unidos de América, Israel, Irán, Canadá y China, se presenta la pudrición de plántulas y el damping-off en melón (*Cucumis melo*), pepino (*Cucumis sativus*), sandía (*Citrullus lanatus*) y calabaza (*Cucurbita pepo*) inducidas por varias especies de *Pythium* y *Phytophthora* (Ho *et al.*, 1984). Otros microorganismos del suelo que ocasionan pérdidas en la producción de estos cultivos son *Fusarium* spp (fusariosis) y *Veticillium dahliae* (verticiliosis). En calabaza y pepino algunas especies de *Phytophthora*, especialmente *P. capsici*, causan la descomposición de frutos, lo que a la vez favorece la pudrición de la corona y raíces (Café- Filho *et al.*, 1995).

En chayote, se han reportado hongos, bacterias, oomicetes, virus y fitoplasmas. Dicha información se limita a la descripción morfológica del agente causal y de los síntomas que se inducen, sin que se aborden las repercusiones económicas que los patógenos causan al cultivo (Cuadro 1.3).

En Estados Unidos de América e India, se reportó a *Podosphaera xanthii* como el responsable de la cenicilla en hojas (Singh *et al.*, 2009; Baiswar *et al.*, 2008), y en Taiwán a *Pseudoperonospora cubensis* y *Didymella bryoniae*, como agentes causales del mildiu en hojas y del tizón gomoso del tallo, respectivamente (Ko *et al.*, 2005; Tsai y Chen, 2012).

En plantaciones comerciales de Costa Rica, se reportaron alrededor de 30 tipos de insectos y 23 enfermedades (Ochoa *et al.*, 1989; López y Solano, 1994; Gamboa y Pohlen, 1996). En la década de los años noventa, en épocas de mayor incidencia, *Ascochyta phaseolorum* causó pérdidas en la producción total de chayote de hasta el 70 %, y aun cuando la enfermedad fue persistente hacia el año 2005, las pérdidas no fueron tan perjudiciales debido al uso de la variedad UJ28, la cual presentó tolerancia a este patógeno. También se asoció aun fitoplasma con la enfermedad denominada “chayote blanco”, caracterizada por la pérdida de color (clorofila) en hojas, tallos y frutos, no obstante, la identificación de este microorganismo no fue comprobada con exactitud (Gamboa, 2005).

En Brasil, Montano *et al.* (2000), reportaron al fitoplasma escoba de bruja del chayote (ChWB) como el agente causal del acortamiento de entrenudos y proliferación excesiva de tallos.

Cuadro 1.3. Enfermedades reportadas en el cultivo de chayote (*Sechium edule*) verde liso a nivel mundial.

Enfermedad	Agente causal	País	Referencia
Mancha de la hoja	<i>Phoma cucurbitacearum</i>	Costa Rica	Gamboa, 1986; Rivera y Brenes, 1993.
Mancha anular de la hoja	<i>Pseudomonas syringae</i> pv. <i>lachrymans</i>	Costa Rica	CABI, 2007
Cenicilla	<i>Podospaera xanthii</i>	EE.UU. India	Singh <i>et al.</i> , 2009. Baiswar <i>et al.</i> , 2008.
Mildiu	<i>Pseudoperonospora cubensis</i>	Taiwán India	Ko <i>et al.</i> , 2005. Baiswar <i>et al.</i> , 2010.
Tizón gomoso del tallo	<i>Didymella bryoniae</i>	Taiwán	Tsai y Chen, 2012.
Ascochita	<i>Ascochyta phaseolorum</i>	Costa Rica	Gamboa, 2005.
La maya	<i>Pythium</i> sp., y <i>Fusarium</i> <i>oxysporum</i>	Costa Rica	Rivera <i>et al.</i> , 1992.
La vejiga	<i>Mycovellosiella</i> <i>cucurbiticola</i>	Costa Rica	Rivera y Brenes, 1993.
Virus mosaico del chayote	Chayote mosaic virus (ChMV) Tymovirus	Costa Rica	Hord <i>et al.</i> , 1997; Bernal <i>et al.</i> , 2000.
Escoba de bruja del chayote	Chayote witch broom (ChWB)	Brasil	Montano <i>et al.</i> , 2000.

A la fecha, en México no se tienen datos oficiales sobre la situación fitosanitaria que guarda el cultivo de chayote en los estados de Veracruz, San Luis Potosí, Michoacán, Estado de México, Puebla, Chiapas y Jalisco. Sin embargo, en huertas comerciales de estos estados se presentan plantas con síntomas similares a los causados por el *Chayote mosaic virus* y el fitoplasma de la









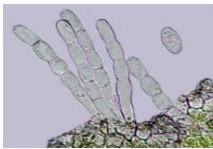

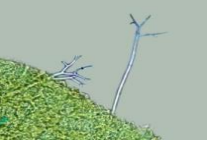

escoba de bruja del chayote (datos no publicados), descritos por Bernal *et al.* (2000) y Montano *et al.* (2000) en Costa Rica y Brasil respectivamente.

Debido a que la incidencia de hongos y oomicetes en huertas comerciales y empacadoras de Veracruz es la principal causa de rechazo en la comercialización de chayote para el mercado de exportación, se han determinado los agentes causales de las principales enfermedades postcosecha (Juárez, 2006; Romero, 2011) (Cuadro 1.4), y la asociación de diferentes hongos y oomicetes con el amarillamiento y marchitez de plantas, necrosis y ahogamiento de guías (Olguín, 2010) (Cuadro 1.5). Esta información, aunque preliminar, ha permitido establecer un antecedente sobre la condición fitosanitaria que guarda este cultivo en huertas comerciales de la región centro del estado de Veracruz.

Cuadro 1.4. Principales hongos y oomicetes causantes de enfermedades en chayote (*Sechium edule*) verde liso durante postcosecha en Coscomatepec y Huatusco, Veracruz (Juárez, 2006; Romero, 2011).

Enfermedad	Agente causal	Síntomas
Antracnosis	<i>Colletotrichum orbiculare</i>	Manchas café hundidas con acérvulos de color rosa salmón a negros.
Moho blanco	<i>Phytophthora capsici</i>	Pudrición blanda con micelio blanquecino.
Vejiga o ampolla	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i>	Pústulas acuosas con relieve y de color verde – amarillento.
Pudrición amarga o ácida	<i>Geotrichum sp.</i>	Pudrición blanda con micelio superficial blanco cremoso.
Moho púrpura-rojizo	<i>Fusarium oxysporum</i>	Pudrición blanda con micelio esponjoso blanco-rojizo.
Moho rosado	<i>Fusarium solani</i>	Pudrición seca con micelio blanco rosáceo.
Mancha negra	<i>Didymella bryonae</i>	Pudrición seca y lesiones hundidas con esporulación oscura.

Cuadro 1.5. Principales enfermedades de chayote (*Sechium edule*) verde liso en la región centro del estado de Veracruz, México (Olgúin, 2010).

Enfermedad	Agente asociado	Síntoma	Descripción
Amarillamiento y marchitez de la planta	<i>Fusarium oxysporum</i> 		Planta con marchitamiento prolongado durante el patrón diurno de transpiración. Hojas de color verde más intenso. Guía basal y raíces con pudrición suave.
	<i>Fusarium sambucinum</i> 		
Necrosis de guías	<i>Colletotrichum gloeosporioides</i> 		En general marchitamiento de una guía, con lesión de consistencia seca.
Ahogamiento de guías	<i>Alternaria alternata</i> 		Estrangulamiento de las guías ascendentes en etapas tempranas de desarrollo de la planta, presenta apariencia húmeda.
Cenicilla	<i>Golovinomyces cichoracearum</i> 		Crecimiento fúngico tipo oídio color blanquecino que se desarrolla sobre las superficies abaxial y adaxial de la hoja, en peciolo y en guías tiernas.
Mildiu	<i>Pseudoperonospora cubensis</i> 		Manchas amarillas irregulares en el haz de hojas completamente expandidas. En el envés, se presenta micelio de color blanco opaco.

REFERENCIAS

- Baiswar, P. Chandra, S. and Ngachan, S. V. 2008. Powdery mildew en *Sechium edule* in India. Australasian Plant Disease Notes. 3: 160-161.
- Baiswar, P. Chandra, S. and Ngachan, S. V. 2010. *Pseudoperospora cubensis* on *Sechium edule* in India. Australasian Plant Disease Notes. 5: 3-4.
- Bancomext, SNC. 1999. Estudio de factibilidad económica para la exportación de chayote sin espinas (*Sechium edule*). Informe ejecutivo. Centro Bancomext, Veracruz, México. 179 p.
- Bancomext, SNC. 2004. Exportaciones de México al mercado hispano de E. U. Periódico El Financiero, México, D. F. Sección Economía, 8 de junio, 2004. P. 18.
- Bernal, J. J., Jiménez, I., Moreno, M., Hord, M., Rivera, C., Koenig, R., and Rodríguez-Cerezo, E. 2000. *Chayote mosaic virus*, a new *tymovirus* infecting Cucurbitaceae. Phytopathology 90:1098-1104.
- CAB International. 2007. Crop Protection Compendium, 2007 Edition. Wallingford, UK: CAB International. www.cabcompendium.org
- Cadena-Iñiguez, J., Ruíz-Posadas. L. M, Trejo-Lopez, C., Sánchez, G. P. y Aguirre-Medina, J. F. 2001. Intercambio de gases y relaciones hídricas del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.). Revista Chapingo Serie Horticultura 7: 21-35.
- Cadena-Iñiguez, J. 2005. Caracterización morfoestructural, fisiológica, química y genética de diferentes tipos de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw. Tesis Doctorado. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México. 156 p.

Cadena-Iñiguez, J., Arévalo- Galarza, L., Avendaño-Arrazate, C. H., Soto- Hernández, M., Ruiz- Posadas, L. M., Santiago- Osorio, E., Acosta- Ramos, M., Cisneros- Solano, V. M., Aguirre- Medina, J. F., and Ochoa- Martínez, D. 2007. Production, genetics, postharvest management and pharmacological characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Fresh produce 1(1): 41- 53.

Cadena-Iñiguez, J., Avendaño-Arrazate, C. H., Soto-Hernández, M., Ruiz-Posadas, L. M., Aguirre-Medina, J. F. and Arévalo-Galarza, L. 2008. Intraspecific variation of *Sechium edule* in the state of Veracruz, Mexico. Genetic Resources and Crop Evolution 55: 835-847.

Cadena-Iñiguez J., y Arévalo-Galarza, L. 2011. Las variedades del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) y su comercio mundial. Biblioteca de Agricultura. Colegio de Postgraduados. Primera edición. 98 p.

Café-Filho, A. C., Duniway, J. M. and Davis, R. M. 1995. Effects of the frequency of furrow irrigation on root and fruits rots of squash caused by *Phytophthora capsici*. Plant Disease 79: 44-45.

Cruz-León, A. y Querol-Lipovich, D. 1985. Catálogo de recursos genéticos de chayote (*Sechium edule* Jacq. Sw.) en el Centro Regional Universitario de Oriente de la Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México pp. 5-25

Diré F., Lima, G. E., Gomes, M. and M. Bernardo-Filho. 2003. The effect of chayote (*Sechium edule*) extracts on the labeling of blood elements with Technetium-99m and on the

- biodistribution of the radiopharmaceutical sodium pertechnetat in mice: an *in vitro* and *in vivo* analysis. *Pakistan Journal of Nutrition* 2(4): 221-227.
- Dzib, A. L. A., Beristáin, B. R. y Rosete, B. X. 1993. El cultivo del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw) en el Municipio de Ixtaczoquitlán Veracruz. CRUO Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. México. 41 p.
- Erwin, D. C. and Ribeiro, O. K. 1996. *Phytophthora* diseases worldwide. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. 562 p.
- Flores, M. E. 1989. El chayote, *Sechium edule* Swartz (Cucurbitaceae) *Revista Biología Tropical*. 37(1): 1-54.
- Gamboa, W. 1986. El chayote. Escuela de producción Vegetal. Universidad Autónoma de Nicaragua. Managua, Nicaragua. 65 p.
- Gamboa, W. and Pohlan, J. 1996. Strategies of integrated plan protection for the sustainable cultivation of chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw) in the valley of Ujarras, Costa Rica. *Deutsche Pflanzenschutztagug, Münster*. pp 85-94.
- Gamboa, W. 2005. Producción agroecológica, una opción para el desarrollo del cultivo del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw). Universidad de Costa Rica. Primera edición. San José, Costa Rica. 219 p.
- GISeM. 2008. Rescatando los recursos fitogenéticos mesoamericanos. Volumen 1. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México. Colegio de Postgraduados. Texcoco, México. Primera edición. 17 p.

- GISeM. 2011. Rescatando y aprovechando los recursos fitogenéticos de Mesoamérica volumen 2: Chayote. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. 24 p.
- Gómez-Pompa, A. 1982. Ecología de la vegetación del Estado de Veracruz. Instituto Nacional de Investigaciones sobre Recursos Bióticos, CECSA. D.F., México. pp. 61-63.
- Ho, H. H., Lu, J., and Gong, L. 1984. *Phytophthora drechsleri* causing blight of *Cucumis* species in China. *Mycology* 76:115:121.
- Hord, M., Villalobos, W., Macaya-Lizano, A. V. and Rivera, C. 1997. Chayote mosaic, a new disease in *Sechium edule* caused by a tymovirus. *Plant Disease* 81:374-378.
- INEGI. 2005. Instituto Nacional de Estadística Geografía e Informática. Informe anual. 106 p.
- Jayaprakasam, B., Seeram, N. P. and Nair, M. G. 2003. Anticancer and anti-inflammatory activities of cucubitacins from *Cucurbita andreana*. *Cancer Letters* 189: 11-16.
- Jensen, L. P. and Lai A. R. 1986. Chayote (*Sechium edule* Jacq. Sw) Causing Hypokalemia in pregnancy. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* 155(5): 1048-1049.
- Juárez, M. K. 2006. Diagnóstico de enfermedades del chayote (*Sechium edule* Jacq/ Sw.) en postcosecha en Coscomatepec, Veracruz, México. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 76 p.

- Ko, Y., Chen, C. Y., Liu C. W., Chen, S. S., and Lin, C. H. 2005. First Report of Downy Mildew Caused by *Pseudoperonospora cubensis* on Chayote (*Sechium edule*) in Taiwan. Plant Disease 92: 1706.
- Lira-Saade, R. 1996. Chayote. *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Promoting the Conservation and Use of Underutilized and Neglected Crops. 8. Institute of Plant Genetics and Crop Plant Research, Gatersleben/International Plant Genetic Resources Institute, Rome, Italy. 57 p.
- López, L. y Solano, W. 1994. Sanidad vegetal, Ministerio de Agricultura y Ganadería, San José, Costa Rica. 11 p.
- Montano, H. G., Davis, R. E., Dally, E. L., Pimentel, J. P., and Brioso, P. S. T. 2000. Identification and phylogenetic analysis of a new phytoplasma from diseased chayote in Brazil. Plant Disease 84: 429-436.
- Ochoa, R., Aguilar, H. y Merino, F. 1989. Combate químico de arañas rojas (Acari: Tetranychidae) en chayote (*Sechium edule* Jacq. Sw.). Manual de Manejo integrado de plagas. Costa Rica. No. 14. pp 31-45.
- Olguín, H. G. 2010. Identificación y caracterización morfológica, cultural y molecular de hongos asociados a *Sechium edule* (Jacq.) Sw. en México. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, México. 118 p.
- Rivera, G., Brenes, F. y Gamboa, W. 1992. Hoja divulgatoria sobre las principales enfermedades del chayote (*Sechium edule* Jacq./ Swartz). El Cocoro, COOPECHAYOTE R. L. 2 p.

- Rivera, G. y Brenes, A. 1993. Enfermedades del chayote (*Sechium edule* Jacq/ Sw). Serie de documentos del banco de germoplasma *Sechium* en Costa Rica (No. 1). Heredia, Costa Rica. 40 p.
- Romero, V. S. D. 2011. Hongos causantes de enfermedades postcosecha en chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw). Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Edo. de México. 56 p.
- SAGARPA 2008: Secretaria de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Disponible en <http://www.sagarpa.gob.mx/snics/sinarefi/chayote.html>.
- Setzer, W.N., and Setzer, M.C. 2003. Plant-derived triterpenoids as potential antineoplastic agents. Mini reviews in Medicinal Chemistry 3(6): 540-556.
- SIAP. 2011 Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en http://www.siap.gob.mx/index.php?option=com_wrapper&view=wrapper&Itemid=350. (consulta 11 mayo 2012)
- Siciliano, T., De Tommasi, N., Morelli, I. and Braca, A. 2004. Study of flavonoids of *Sechium edule* (Cucurbitacea) different edible organs by liquid chromatography photodiode array mass spectrometry. Journal Agriculture Food Chemistry 5: 6510-6515.
- Singh, R., Ferrin, D. M and Aime, M. C. 2009. First Report of Powdery Mildew Caused by *Podosphaera xanthii* on *Sechium edule* in the United States. Plant Disease 93(12): 1348.
- Tsai, Y. C. and Chen, J. F. 2012. First report of *Didymella bryoniae* causing gummy stem blight of chayote in Taiwan. Disease Notes. 96 (10): 1578.

- Vozari-Hampe, M. M., Viegas, C., Saucedo, C., Rosseto, S., Manica, G. G. and Hampe, O.G. 1992. A lectin from *Sechium edule* fruit exudate. *Phytochemistry* 31(5): 1447-1480.
- Williams-Linera, G. 1994. El Bosque de Montaña: Un Ecosistema muy Frágil. *Problemática Ambiental en el Estado de Veracruz. Los Recursos Vegetales*, Xalapa, Veracruz, México. pp. 51-58.
- WTA, 2009. World Trade Atlas Database: Datos sobre estadísticas en hortalizas: chayote. http://www.gtis.com/Spanish/GTIS_sp.html (consulta 30 julio 2012).
- Zitter, A. T., Hopkins L. D., and Thomas, E. C. 2004. *Compendium of cucurbit diseases*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. USA. 88 p.

CAPÍTULO II

ETIOLOGÍA DE LA MARCHITEZ DE PLANTAS DE CHAYOTE [*Sechium edule* (Jacq.) Sw.] EN HUERTAS COMERCIALES DE LA REGIÓN CENTRO DEL ESTADO DE VERACRUZ.

México ocupa el primer lugar en producción y exportación de chayote (*Sechium edule*) verde liso a nivel mundial. En el estado de Veracruz, en donde se produce más del 80 % de volumen nacional, la marchitez de plantas se ha presentado desde 1990 como uno de los principales problemas fitosanitarios del cultivo. En un estudio preliminar se asociaron a *Fusarium oxysporum* y *F. sambucinum* con los síntomas de marchitamiento, pero no se estableció su papel como los agentes causales, por lo que el objetivo de este trabajo fue determinar la etiología de la marchitez de plantas de chayote en la región Centro del estado de Veracruz. Durante el ciclo de producción 2011-2012, se realizaron tres muestreos dirigidos a 14 plantas con síntomas de marchitez y se recolectaron las raíces cercanas a la zona de origen de nuevos brotes. Para aislar al patógeno, se cortaron 30 segmentos de la zona de avance del tejido necrosado. Las muestras obtenidas se desinfectaron en hipoclorito de sodio al 3 %, se lavaron con agua destilada estéril y se sembraron en los medios de cultivo PARPNH, PDA y V8-agar. Los microorganismos que crecieron se purificaron mediante cultivos monozoospóricos y monoconidiales. Para determinar el agente causal de la marchitez, se inocularon por deposición de esporangios las guías basales de 60 plantas, las cuales se mantuvieron en invernadero. Los síntomas aparecieron 22 días después de la inoculación como marchitamiento y amarillamiento foliar. De las plantas inoculadas se re-aisló y describió aun oomicete, el cual presentó características morfológicas iguales al aislamiento original. La identificación morfológica y molecular del patógeno demostró que *Phytophthora capsici* es el agente causal de la marchitez de plantas de *S. edule*.

Palabras clave: *Phytophthora capsici*, marchitamiento, diagnóstico, identificación molecular

**ETIOLOGY OF CHAYOTE [*Sechium edule* (Jacq.) Sw.] WILTING PLANTS IN
COMMERCIAL ORCHARDS OF THE CENTRAL REGION OF THE STATE OF
VERACRUZ.**

Mexico is the main producer and exporter of smooth green chayote (*Sechium edule*) worldwide. The state of Veracruz, where it is produced more than 80 % of the national volume, wilting of chayote plants has been there since 1990 as an important phytosanitary problem. Preliminary studies associated *Fusarium oxysporum* and *F. sambucinum* with wilting symptoms, but it was not determined their role as a causal pathogens, so the objective of this work was to determine the etiology of wilting plants of chayote in the Central region of the state of Veracruz. During the 2011-2012 production cycle, 14 plants with wilting symptoms were sampled, and roots were harvested at the shoot emerging zone. For microorganisms isolation, 30 segments of each sample were dissected at the advancing zone of necrotic tissue. Samples were disinfested with 3 % sodium hypochlorite, washed with sterile distilled water and cultured onto PARPNH, PDA and V8-agar media. The isolated microorganisms were purified by monosporic and monoconidial methods. In order to determine the causal agent of the wilting disease, the basal guides of 60 plants were inoculated by sporangium deposition and kept under greenhouse conditions. Symptoms appeared 22 days after inoculation as wilting and yellowing of leaves. Former inoculated microorganism was re-isolated and identified as *Phytophthora capsici*. According to these results, we conclude that this oomycete is the causal agent of chayote wilting plants.

Key words: *Phytophthora capsici*, wilting, diagnosis, molecular identification.

INTRODUCCIÓN

El fruto de chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.) se cosecha en madurez hortícola a los 18±2 días después de antesis (Aung *et al.*, 1996; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2007) y se consume principalmente como verdura. El cultivo ha evolucionado comercialmente de hortaliza de traspatio a producto de exportación con amplia demanda en Estados Unidos de América y Canadá, ubicándose dentro de las principales hortalizas no tradicionales de exportación para México (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2001). Tiene importancia social por la mano de obra que demanda, ya que en una huerta comercial de 4 ha se emplean de 30 a 35 personas (80 % mujeres) por un periodo de 6 a 9 meses; además, debido a que el fruto se puede dañar fácilmente, su cosecha y empaque requieren mano de obra adicional (GISeM, 2008).

Como consecuencia del éxito comercial del chayote en los mercados de Norteamérica, la superficie de la producción nacional como monocultivo ha aumentado considerablemente, lo que ha generado la aparición de problemas fitosanitarios, principalmente la marchitez de plantas, que no solo limitan el volumen y la calidad de la producción, sino también ponen en riesgo las fuentes de empleo (GISeM, 2011).

En México, la principal zona de producción de chayote se ubica en la región central de Veracruz, principalmente en los municipios de Coscomatepec, Huatusco, Ixhuatlán del Café, Chocamán, Tlilapan, Orizaba, Rafael Delgado, Amatlán de los Reyes, Cuichapa e Ixtaczoquitlán (Cadena-Iñiguez *et al.*, 2010).

Durante los meses de mayor precipitación (junio-noviembre), incrementa la incidencia de plantas de chayote con síntomas de marchitez por pudrición de raíces. Los productores han asociado estos síntomas con *Phytophthora* spp. y aplican para su control fungicidas a base de metalaxyl, lo cual reduce la incidencia del patógeno. Sin embargo, no existen reportes que indiquen que

Phytophthora spp. sea el agente causal de la marchitez en chayote. Olguín (2010), reportó la asociación de *Fusarium oxysporum* y *F. sambucinum* con los mismos síntomas, pero el estudio no comprobó que estos hongos fueran los agentes causales primarios de la enfermedad.

La falta de conocimiento sobre la etiología de este problema fitosanitario ha mermado la productividad del cultivo y, debido a la aplicación indiscriminada de fungicidas, se han incrementado los costos de producción y el riesgo de seleccionar organismos resistentes al metalaxyl, sin que exista un control eficiente del problema (Lamour y Hausbeck, 2000; Café-Filho y Ristiano, 2008; Jackson *et al.*, 2010; FRAC, 2012). Con base en estos antecedentes, el objetivo de este estudio fue determinar la etiología de la marchitez de plantas de chayote en huertas comerciales de dos localidades de la región central de Veracruz.

MATERIALES Y MÉTODOS

Zona de muestreo

Las zonas de muestreo se localizaron en los municipios de Coscomatepec y Huatusco en Veracruz, México, los cuales forman parte de la principal región productora de chayote (Figura 2.1), en donde prevalece vegetación de bosque pino-encino y mesófilo de montaña en altitudes de 1,300 a 1,500 msnm, respectivamente (Cuadro 2.1) (Vázquez *et al.*, 1992). En esta región productora las plantaciones se manejan en condiciones de temporal y con densidades de plantación que varían entre 100-128 plantas por hectárea.

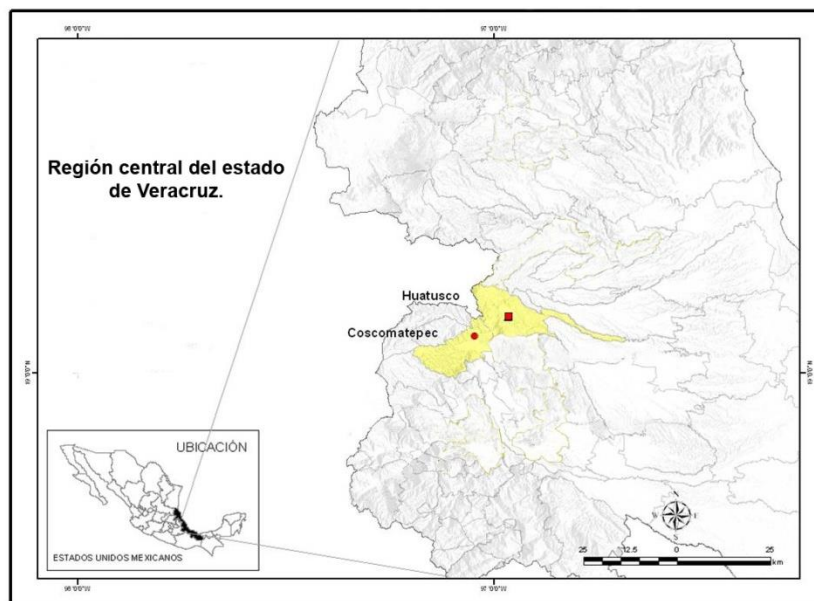


Figura 2.1. Zona de muestreo de plantas de chayote (*Sechium edule*) verde liso con síntomas de marchitez en la región central de Veracruz, México (Adaptado de GISem, 2011).

Cuadro 2.1. Descripción geográfica, tipo de vegetación, precipitación y temperatura media anual de las localidades de colecta de plantas de chayote (*Sechium edule*) verde liso con síntomas de marchitez en Veracruz, México (Soto y Gómez, 1994; Cadena-Iñiguez *et al.*, 2005).

Municipio	Localidad	Características de la zona				
		Altitud (m)	Longitud	Latitud	Vegetación	Precipitación (mm)/ Temperatura (°C)
Coscomatepec	Tlaltengo	1480	97° 00' O	19° 05' N	BM	2259/ 19
Huatusco	Huatusco	1300	95° 58' O	19° 09' N	BM-BPE	1825/ 19

BM = Bosque mesófilo de montaña; BPE = Bosque pino encino.

Caracterización de síntomas y aislamiento de microorganismos

Se realizaron recorridos en las parcelas comerciales de chayote verde liso en los meses de junio, agosto y octubre del 2011. Las plantas con síntomas de marchitez se identificaron de forma visual por la flacidez y coloración verde oscuro de las hojas (Figura 2.2 A), y por la consistencia blanda de apariencia acuosa de las guías basales. Se cortó la zona de transición entre el tallo y la raíz (zona de origen de nuevos brotes en donde la corteza y el tejido vascular presentaron lesiones de apariencia necrótica y exudados) (Figura 2.2 B) de 11 y 3 plantas recolectadas en Coscomatepec y Huatusco respectivamente, para hacer el aislamiento de microorganismos.

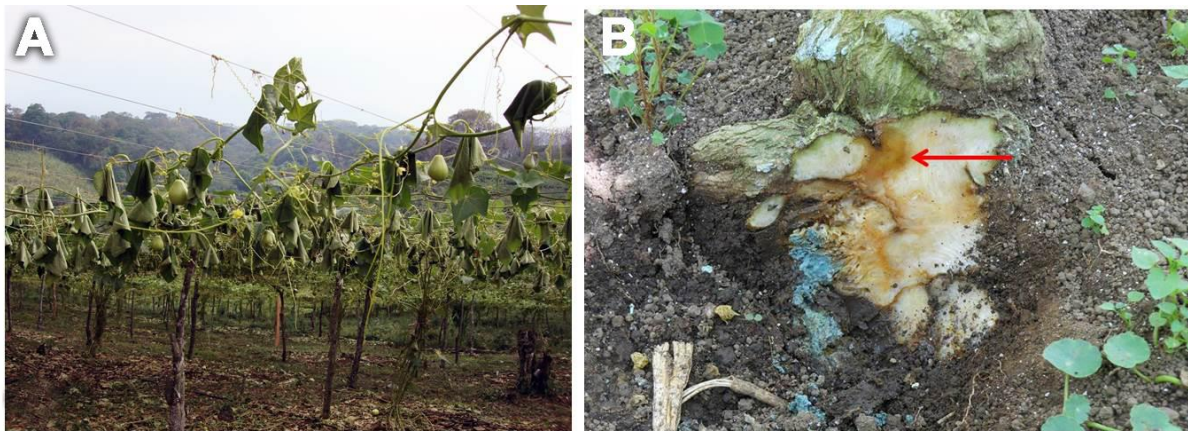


Figura 2.2. Planta de chayote (*Sechium edule*) verde liso en huerta comercial. Síntomas de marchitez (A). Zona de infección y avance de la necrosis (tejido de transición entre tallo y raíz) (B).

Pruebas de patogenicidad

Aislamiento de microorganismos.

La zona de transición entre el tallo y las raíces de cada una de las 14 plantas se disectó en 30 fragmentos de aproximadamente 5 mm de longitud. Las 420 muestras obtenidas se desinfectaron

con hipoclorito de sodio al 3 % por 4 min, se lavaron por 3 min con agua destilada estéril y se secaron completamente con sanitas esterilizadas.

Las muestras se cultivaron equitativamente en PARPNH (jugo V8 con pimarcina, ampicilina, rifampicina, pentacloronitrobenzeno, nistatina e himexazol) (Erwin y Ribeiro, 1996), PDA y V8 (acidificado con ácido láctico al 25%) durante 48 h a 30 ± 2 °C en oscuridad continua.

Los hongos y oomicetes que crecieron se transfirieron y purificaron en PDA y V8-agar frescos mediante las técnicas de cultivos monoconidiales y monozoospóricos, respectivamente. Los aislamientos purificados se utilizaron para realizar las pruebas de patogenicidad e identificación (Erwin y Ribeiro, 1996; Barnett y Hunter, 2006; Leslie y Summerell, 2006; Gallegly y Hong, 2008).

Preparación del inóculo

El inóculo se preparó a partir del microorganismo que tuvo el valor más alto en la frecuencia de aislamientos, y se obtuvo de cultivos de 6 días de crecimiento en medio V8-agar. Cinco rodajas con crecimiento micelial de 1.0 cm de diámetro se transfirieron a 100 mL de medio V8-liquido con dos gotas de ácido láctico al 25 %. El oomicete se cultivó a 25 ± 2 °C sin agitación y después de 5 días se transfirió a cajas Petri de 90 mm de diámetro con 6 mL de agua destilada estéril. Los cultivos se mantuvieron bajo luz blanca a 25 ± 2 °C durante 24 h para inducir formación de esporangios. La concentración de inóculo se ajustó a 11,500 esporangios mL⁻¹.

Inoculación y reaislamiento

Se inocularon 60 plantas a los 28 días después de la siembra. La inoculación se hizo por deposición del inóculo en la base del primer brote emitido por el fruto. Como tratamiento testigo

se depositó agua destilada estéril en la base del primer brote de 20 plantas en la misma etapa de desarrollo que las inoculadas con los esporangios. Todas las plantas se mantuvieron bajo malla sombra (50/50) en invernadero a 28 ± 3 °C, humedad relativa del 70 % y riego a saturación por 30 días. Una vez que las plantas mostraron los síntomas de marchitamiento, se reaislaron los microorganismos en medio de cultivo V8-agar y PDA. Las colonias obtenidas se compararon morfológicamente con los aislamientos originales que se obtuvieron de las huertas comerciales.

Caracterización morfológica

Se describieron las características cualitativas y cuantitativas de 50 estructuras reproductivas sexuales (oogonio y anteridio) y 100 estructuras asexuales (esporangióforo y esporangios) en preparaciones semi-permanentes observadas en un microscopio compuesto (VE-B6, Velab). La identificación del género se hizo con las claves de Erwin y Ribeiro (1996), y para especie con las descritas por Gallegly y Hong (2008). La determinación de género y especie de los aislamientos fúngos se hicieron con las claves de Barnett y Hunter (2006) y con las descritas por Leslie y Summerell (2006), respectivamente.

Identificación molecular

La extracción, amplificación y secuenciación del ADN se realizaron por el personal del laboratorio de biotecnología de semillas del Colegio de Postgraduados, Campus Montecillo.

La extracción del ADN (Bowers *et al.*, 2006; Silva *et al.*, 2009) se hizo a partir de un cultivo de 4 días de crecimiento en medio líquido V8 a 20-25 °C. Se tomó una porción de aproximadamente 5 mm de micelio y se colocó en tubos Eppendorf de 200 µL con 30 µL de la solución de lisis (Lyse N Go, Pierce®, EE.UU.). Las muestras se incubaron a 95 °C durante 5 min y se centrifugaron (EBA21, Hettich® Zentrifuge) por 10 min a 3000 g. La amplificación del ADN de la región ITS

se hizo con los iniciadores universales ITS6 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') e ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC) (White *et al.*, 1990). La mezcla de reacción para PCR se preparó en un volumen final de 25 μ L conteniendo la enzima 1 x Taq DNA polimerasa, 0.8 mM deoxinucleosido trifosfatos (0.2 mM cada uno), 100 ng ADN, 20 pmol de cada iniciador y 2 unidades de GoTaq DNA (Promega®, EE.UU.). Las amplificaciones se llevaron a cabo en un termociclador (Peltier Thermal Cycler PTC-200; BIORAD®, México) con un ciclo inicial de desnaturalización a 95 °C por 2 min; 35 ciclos de desnaturalización a 95 °C por 1 min, el alineamiento a 57 °C por 1 min, una extensión final a 72 °C por 2 min y un último ciclo de amplificación a 72 °C por 10 min.

Los productos de amplificación se verificaron por electroforesis en un gel de agarosa al 1.2 % en amortiguador TAE 1x (Tris Acetate- EDTA) a 87 V durante 1 h. El gel se tiñó con bromuro de etidio (3 mg L⁻¹) y el ADN se visualizó en un transiluminador (Gel Doc 2000 UV; BIORAD®, EE.UU.). Las ampliaciones se purificaron con el kit QIAquick PCR (Qiagen®, EE.UU.), siguiendo las instrucciones del fabricante, y se secuenciaron en ambas direcciones con un sistema automatizado de secuenciación de ADN modelo 3730XL (Applied BioSystems®, EE.UU.) para asegurar que no hubiera lecturas de nucleótidos incorrectas.

Las secuencias obtenidas se alinearon con las depositadas en el banco de genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2012).

RESULTADOS

Reaislamiento de microorganismos

De los tejidos obtenidos de plantas con síntomas de marchitez se aislaron oomicetes, hongos y bacterias. *Phytophthora* spp. se presentó con mayor frecuencia creciendo en 129 (92 %) de los 140 fragmentos de tejido sembrados en PARPNH. En los 11 fragmentos restantes crecieron bacterias y hongos saprófitos que no se identificaron. En el medio V8-ácido láctico, *Phytophthora* spp. se aisló de 39 fragmentos de tejido (28 %), *Fusarium* spp. de 4 y bacterias de 97. En PDA solamente se aisló a *Fusarium* spp. en 11 de los 140 fragmentos de los tejidos que se cultivaron (Cuadro 2.2).

Cuadro 2.2. Microorganismos aislados de plantas de chayote (*Sechium edule*) verde liso con síntomas de marchitez.

Microorganismo	Frecuencia de aislamiento		
	Medio de cultivo		
	PARPNH	V8-agar	PDA
<i>Phytophthora</i> spp.	129/140	39/140	0/140
<i>Fusarium</i> spp.	0/140	4/140	11/140
Bacterias	11/140	97/140	129/140

En seis y en dos de los 60 fragmentos de las guía basales de las plantas asintomáticas que se cultivaron en PDA crecieron bacterias y *Alternaria* spp., respectivamente. Solamente en tres de los 60 fragmentos mantenidos en V8-agar crecieron bacterias.

Reproducción de síntomas en invernadero

Veintidós días después de la inoculación (ddi), 54 de las 60 plantas inoculadas presentaron síntomas de flacidez de brotes tiernos y amarillamiento de las hojas completamente expandidas. La base de la guía se necrosó en el área inoculada (Figura 2.3). Asimismo, a los 30 ddi las guías basales se secaron provocando la senescencia prematura de las hojas (Figura 2.4).

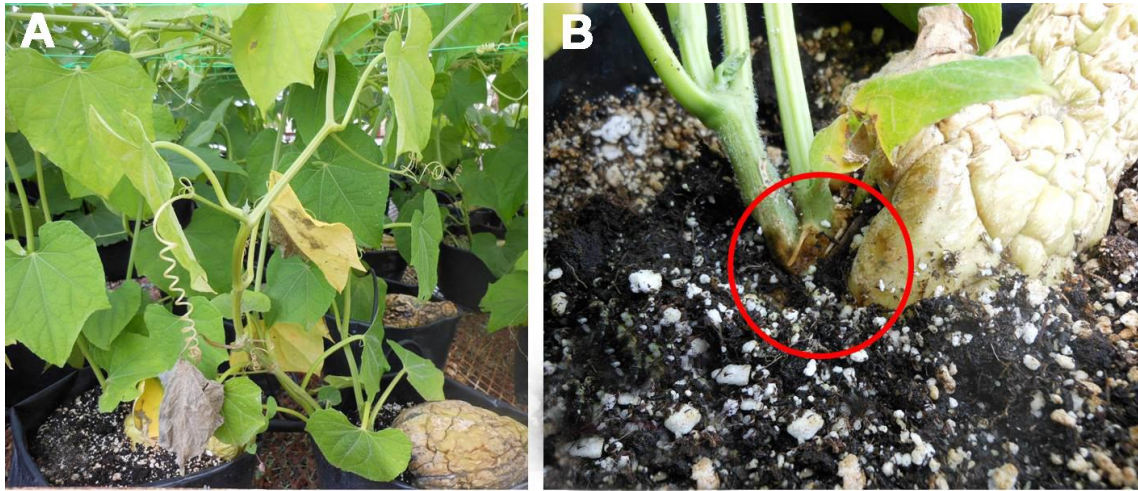


Figura 2.3. Reproducción de síntomas en plantas de chayote (*Sechium edule*) verde liso inoculadas en invernadero. Amarillamiento foliar (A) y necrosis de la guía basal en la zona de inoculación (B).



Figura 2.4. Reproducción de síntomas en planta de chayote (*Sechium edule*) verde liso inoculada en invernadero. Hojas basales senescentes.

Caracterización morfológica

En V8-agar, el oomicete presentó crecimiento micelial cenocítico tipo cameloide de color blanquecino. La formación de esporangios se observó a partir de los 13 días de crecimiento bajo condiciones de luz natural. En agua destilada los esporangios se desarrollaron a las 19 h de exposición bajo luz blanca.

Los esporangios se desarrollaron en cabezuelas y en simpodio simple, presentaron forma elipsoidal a limoniforme de $58.71 \times 29.28 \mu\text{m}$ (promedio de 100 esporangios), papila conspicua y pedicelo largo (Figura 2.5 A-D). Germinaron directamente como hifas o con la formación de nuevos esporangios (Figura 2.5 E y F). El oomicete desarrolló oogonios con anteridios anfígenos y oosporas pleróticas (Figura 2.5 G y H). Las características anteriores corresponden con las descritas en las claves de Erwin y Ribeiro (1996) y Gallegly y Hong (2008) para *Phytophthora capsici*.

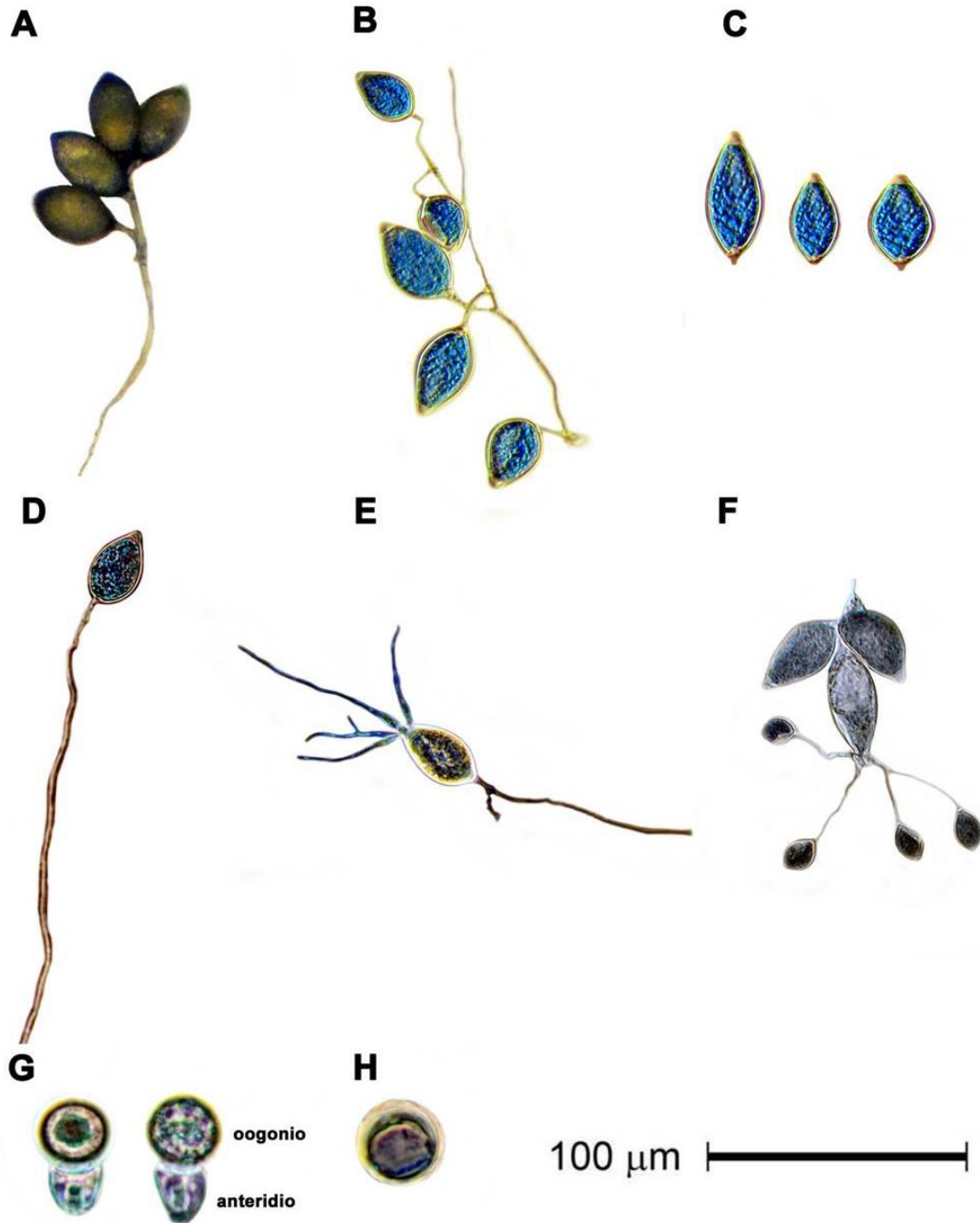


Figura 2.5. Estructuras diagnosticas de reproducción sexual y asexual de *Phytophthora capsici* aisladas de chayote (*Sechium edule*) verde liso con síntomas de marchitez. Desarrollo de esporangios en cabezuela (A). Desarrollo de esporangios sobre simpodio simple (B). Esporangios papilados (C). Esporangio con pedicelo largo (D). Germinación directa de esporangios: emitiendo hifas (E), y generando esporangios (F). Oogonios con anteridios anfígenos (G). Oospora (H).

Identificación molecular

El producto de amplificación obtenido con los primers ITS4 e ITS6 fue de 650 pb correspondiente al tamaño del amplicón esperado. El análisis de la secuencia mostró un 100 % de similaridad con la secuencia JQ610200.1 de *P. capsici* depositada en la base de datos del banco de genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2012). La secuencia se registró en esta base con el número de acceso JX871893.

DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos, indican que la marchitez de las plantas de chayote no es inducida por *Pythium* sp., *Fusarium oxysporum* ni *F. sambucinum* como lo reportaron Rivera *et al.* (1992) y Olgún (2010) en Costa Rica y México, respectivamente. Los síntomas descritos por estos investigadores fueron pudrición de raíz, hojas cloróticas y senescencia prematura en plantas aisladas o distribuidas en manchones, lo cual coincide con los síntomas observados en las huertas comerciales evaluadas en la presente investigación; en donde además las plantas presentaron hojas sin turgencia y deshidratación en la zona de la corona (área de distribución plagiotrópica de las guías).

Rivera *et al.* (1992) y Olgún (2010), no realizaron las pruebas de patogenicidad para determinar si *Pythium* sp. y las dos especies de *Fusarium* fueron los agentes primarios de la marchitez de las plantas. Es importante resaltar que el aislamiento de *Phytophthora* spp. a partir de tejido sintomático es más difícil que el de algunos hongos, incluyendo a *Fusarium* spp., ya que los síntomas en los órganos aéreos se presentan una vez que la infección de las raíces ha avanzado. Bajo tales condiciones, el tejido radical es invadido por patógenos secundarios o facultativos (hongos y bacterias) que enmascaran el crecimiento de *Phytophthora* spp. (Mircetich y Browne, 1987).

De acuerdo con las claves taxonómicas de Erwin y Ribeiro (1996), se aisló a *Phytophthora* en el 92 y 28 % de los fragmentos de tejido con síntomas de marchitez que se cultivaron en PARPNH y V8-agar, respectivamente, mientras que *Fusarium* spp. (Barnett y Hunter, 2006) solamente se aisló en el 3% del tejido sembrado en V8-agar. La identificación morfológica a nivel de especie (Gallegly y Hong, 2008) y el análisis molecular indicaron que la especie corresponde a *P. capsici*. Estos resultados, complementados con las pruebas de patogenicidad, indicaron que *P. capsici* es el agente causal primario del marchitamiento de las plantas de chayote.

La reducción en el crecimiento de raíces absorbentes y el desarrollo de lesiones pardas de apariencia acuosa en las raíces primarias y guía basal son síntomas que se observaron en plantas de chayote infectadas natural y artificialmente. Es posible que las lesiones pardas se deban a la acción de enzimas pectolíticas (PG y PME) que produce *P. capsici* durante el proceso de infección y que degradan la pared celular y lamela media del tejido (Li, *et al.*, 2011; Wang *et al.*, 2011). Tal degradación resulta en la maceración y muerte del tejido debido a cambios osmóticos, lo que favorece la entrada de otros patógenos provocando estrés hídrico.

Es posible que otro factor involucrado en el marchitamiento de las plantas sea la obstrucción física del sistema vascular debido al crecimiento de hifas e invasión de otros patógenos como bacterias y hongos, ya que incrementa la formación de geles y gomas que se inducen por la acumulación y oxidación de los productos de degradación celular (Agrios, 2005; Arévalo-Galarza, 2012).

Algunas condiciones del cultivo, tales como producción en áreas con pendiente y labores culturales (fertilización nitrogenada, control de malezas y remoción del suelo en la zona de goteo con azadón), facilitan la dispersión y el riesgo de infección por *P. capsici* en heridas recientes del sistema radical (Elliott, 1989; Erwin y Ribeiro, 1996; Jung y Blaschke, 2004). De acuerdo con

Duniway (1983), la alta humedad relativa representa una de las condiciones ambientales de mayor importancia que induce el desarrollo de las enfermedades causadas por *Phytophthora* spp. La incidencia de plantas de chayote con síntomas de marchitez en el área geográfica de muestreo es muy alta en la temporada de mayor precipitación pluvial y temperatura de 15 y 17 °C, con humedad relativa del 100 %.

El decaimiento repentino de las plantas ocurre durante el patrón diurno de transpiración, y aun cuando algunas plantas se recuperan por la tarde, el marchitamiento vuelve a presentarse al día siguiente y las plantas mueren.

La severidad del marchitamiento de las plantas varía de una huerta a otra, pero se considera proporcional al grado y velocidad de la infección de raíces (Zitter *et al.*, 2004).

CONCLUSIÓN

Las pruebas de patogenicidad y las identificaciones morfológica y molecular, confirmaron que *Phytophthora capsici* es el agente causal de la marchitez de plantas de chayote en la región centro del estado de Veracruz, México.

REFERENCIAS

- Agrios, G. N. 2005. Plant Pathology. Elsevier Academic Press. New York. 922 p.
- Arévalo-Galarza, L; García-Osorio, C. y Rosas-Saíto, G.H. 2012. Factores que afectan la vida de florero en flores de corte. *Agroproductividad* 5 (3): 28-35.
- Aung L. H., Harris, C.M., Rij, R.E. and Brown, J.W. 1996. Postharvest storage temperature and film wrap effects on quality of chayote, *Sechium edule* (Jacq.) Sw. *J. HortScience*. 71: 297-304.
- Barnett, L.H. and Hunter, B.B. 2006. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 218 p.
- Bowers, J. H., Martin, F. N., Tooley, P. W. and Luz, E. D. M. N. 2006. Genetic and morphological diversity of temperate and tropical isolates of *Phytophthora capsici*. *Phytopathology* 97:492- 503.
- Cadena-Iñiguez, J., Ruíz, P. L. M., Trejo, L. C., Sánchez, G. P. y Aguirre, M. J. F. 2001. Intercambio de gases y relaciones hídricas del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.). *Revista Chapingo Serie Horticultura* 7: 21-35.
- Cadena-Iñiguez. J., Ruiz-Posadas, L.M., Aguirre-Medina, J.F. y Sánchez-García, P. 2005. Estudio de los síntomas asociados a la pérdida de color del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw) en Veracruz, México. *Revista Horticultura* 11(2): 309-316.
- Cadena-Iñiguez, J., Arévalo-Galarza, L., Avendaño- Arrazate, C.H., Soto-Hernández, M., Ruiz-Posadas, L.M., Santiago-Osorio, E., Acosta-Ramos, M., Cisneros- Solano, V.M., Aguirre-

- Medina, J.F. and Ochoa-Martínez, D. 2007. Production, genetics, postharvest management and pharmacological characteristics of *Sechium edule* (Jacq.) Sw. Fresh Produce 1: 41-53.
- Cadena-Iñiguez, J., Avendaño-Arrazate, C.H., Arévalo-Galarza, L., Cisneros-Solano, V. M. y Campos-Rojas, E. 2010. El chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Sw.), importante recurso fitogenético mesoamericano. Agroproductividad 3(2): 26-34.
- Café-Filho, A.C. and Ristaino, J.B. 2008. Fitness of isolates of *Phytophthora capsici* resistant to mefenoxam from squash and pepper fields in North Carolina. Plant Disease 92: 1439–1443.
- Duniway, J. M. 1983. Role of physical factors in the development of *Phytophthora* diseases. Pages 175-187 In: *Phytophthora: Its Biology, Taxonomy, Ecology, and Pathology*. D. C. Erwin, S. Bartnicki-Garcia, and P. H. Tsao (eds.) American Phytopathological Society, St. Paul, Minnesota.
- Elliott, C. G. 1989. Some aspects of nitrogen nutrition and reproduction in *Phytophthora*. Mycological Research. 92 (1): 34-44.
- Erwin, C. D. and Ribeiro, K. O. 1996. *Phytophthora*. Diseases Worldwide. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. U.S.A. 562 p.
- Fungicide Resistance Action Committee (FRAC). 2012. Disponible en www.frac.info (consulta 16 noviembre 2012)
- Gallegly, E. M. and Hong, C. 2008. Identifying Species by Morphology and DNA Fingerprints. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. U.S.A. 158 p.

- GISeM. 2008. Rescatando los recursos fitogenéticos mesoamericanos. volumen 1. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. Primera edición. 17 p.
- GISeM. 2011. Rescatando y aprovechando los recursos fitogenéticos de Mesoamérica volumen 2: Chayote. Grupo Interdisciplinario de Investigación en *Sechium edule* en México. Colegio de Postgraduados. Texcoco, Estado de México. 24 p.
- Jackson, K.L., Yin, J., Csinos, A.S. and Ji, P. 2010. Fungicidal activity of fluopicolide for suppression of *Phytophthora capsici* on squash. *Crop Protection* 29: 1421–1427.
- Jung, T. and Blaschke, M. 2004. *Phytophthora* root and collar rot of alders in Bavaria: distribution, modes of spread and possible management strategies. *Plant Pathology* 53:197-208.
- Lamour, K.H. and Hausbeck, M.K. 2000. Mefenoxam insensitivity and the sexual stage of *Phytophthora capsici* in Michigan cucurbit fields. *Phytopathology* 90: 396–400.
- Leslie, J. F. and Summerell, B. A. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. Kansas Agricultural Experiment Station, Manhattan. 369 p.
- Li, P., Feng, B., Wang, H., Tooley, P. W. and Zhang, X. 2011. Isolation of nine *Phytophthora capsici* pectin methylesterase genes which are differentially expressed in various plant species. *Microbiology* 151: 61-70.

- Mircetich, S. M. and Browne, G. T. 1987. *Phytophthora* root and crown rot of deciduous fruit trees: Progress and problems in etiology, epidemiology and control. Commemorative Symposium. 111 p.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). 2012. Gen Bank. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. (consulta 4 noviembre de 2012).
- Olguín, H. G. 2010. Identificación y caracterización morfológica, cultural y molecular de hongos asociados a *Sechium edule* (Jacq.) Sw. en México. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma Chapingo. Texcoco, Edo. de México. 118 p.
- Rivera, G., Brenes, F. y Gamboa, W. 1992. Hoja divulgativa sobre las principales enfermedades del chayote (*Sechium edule* (Jacq.) Swartz). El Cocoro, COOPECHAYOTE R. L. 2 p.
- Silva, R. H.V., Fernández, P. S. P., Canul, G. C., Macías, L. B. C. y Ávila, Q. G. D. 2009. Distribución espacio temporal de la marchitez del chile (*Capsicum annum* L) en Chihuahua e identificación del agente causal *Phytophthora capsici* Leo. Revista Mexicana de Fitopatología 27: 134-147.
- Soto, E. M. y Gómez, C. M. 1994. Uso del suelo y vegetación en los climas cálido-húmedos de Veracruz. In: Castillo-Campos G, Mejía-Saulés MT (eds). Los Recursos Vegetales. Problemática Ambiental en el Estado de Veracruz, Gobierno del Estado de Veracruz, México, pp. 131-147.

- Vázquez, T. V., Zulueta, R. R. and Lara, M. C. 1992. Análisis de la flora de malezas del campo experimental "La Bandera" municipio de Actopan, Veracruz. *La ciencia y el hombre* 11:78-79.
- Wang, H., Li, F. and Zhang, X. 2011. Comparison of expression, purification and characterization of a new pectate lyase from *Phytophthora capsici* using two different methods. *BMC Biotechnology* 11:32.
- White, T.J., Lee, B.S. and Taylor, J. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In: Innis, M.A., Gelfand, D.A., Sninsky, J.J., White, T.J. (eds.). *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Academic Press, CA, U.S.A, p. 315-322.
- Zitter, A. T., Hopkins, L. D. and Thomas, E. C. 2004. *Compendium of Cucurbit Diseases*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota. U.S.A. 88 p.