

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA DE SINALOA

FACULTAD DE AGRICULTURA

DEL VALLE DEL FUERTE



**ACTIVIDAD FUNGICIDA DE PRODUCTOS BIORRACIONALES CONTRA
Rhizoctonia solani Kühn EN TOMATILLO (*Physalis ixocarpa* Brot.)**

ARTURO RAFAEL ARMENTA LÓPEZ

T E S I S

**Presentada como requisito parcial para obtener el grado de:
Licenciado en Ingeniería Agronómica
con Acentuación en Protección Vegetal**

Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México

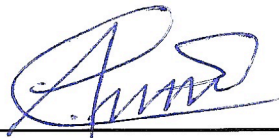
Marzo de 2017.

La presente tesis titulada: “**Actividad fungicida de productos biorracionales contra *Rhizoctonia solani* Kühn en tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.)**”, realizada por el alumno **Arturo Rafael Armenta López**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

LICENCIADO EN INGENIERÍA AGRONÓMICA
CON ACENTUACIÓN EN PROTECCIÓN VEGETAL

Comité de asesores:

Director:



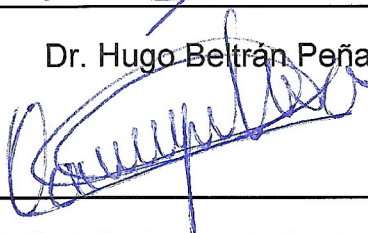
Dr. Miguel Ángel Apodaca Sánchez

Co-director:



Dr. Hugo Beltrán Peña

Asesor:



M.C. Quintín Armando Ayala Armenta

Juan José Ríos, Ahome, Sinaloa, México, Marzo 2017.

AGRADECIMIENTOS

A Dios, por brindarme la salud necesaria para llevar a cabo el presente trabajo.

A la Universidad Autónoma de Sinaloa, en especial a la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, institución educativa de gran calidad, la cual me brindó tantos conocimientos y de la cual me enorgullezco totalmente.

Al Dr. Miguel Ángel Apodaca Sánchez, por ser pieza fundamental en mi formación profesional, además de su gran disposición y enorme apoyo en la realización de la presente tesis; por sus innumerables consejos y experiencias, por su paciencia y sobre todo por su amistad.

Al Dr. Hugo Beltrán Peña, por su apoyo en mi formación académica y en las distintas etapas del proyecto; por sus acertados consejos, su paciencia y su amistad.

Al M.C. Quintín Armando Ayala Armenta, por sus consejos, su apoyo, comprensión y amistad.

Al Dr. Carlos Patricio Saucedo Acosta por su apoyo en los análisis estadísticos.

Agradezco al proyecto PROFAPI2015/038 llamado “Caracterización morfológica, molecular, rango de hospedantes y control de marchitez de tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.) en el norte de Sinaloa” por el apoyo brindado para la realización de este trabajo de investigación que culminó en mi tesis de grado de licenciatura.

DEDICATORIA

A mi madre:

Por su cariño, amor y apoyo incondicional; por ser ese soporte para mí y por esforzarse en hacer de mí una persona con valores y principios; por hacer de mí quien soy ahora.

A mi padre:

Por su amor, apoyo, y sus consejos; porque aunque hoy no se encuentre presente, sé que desde allá arriba, estará feliz por ver la persona en la que me he convertido.

A mi novia:

Por el gran apoyo y felicidad que me ha brindado a lo largo del tiempo que llevamos juntos. Por su amor y compañía; por ser una persona muy importante en mi vida.

A mis abuelos:

Por haber sido las grandes personas que fueron; por el amor y apoyo brindado a lo largo de mi vida.

A mis tíos y primos:

Por estar siempre pendiente de mí y por su apoyo incondicional.

A mis amigos y compañeros de generación 2012-2017:

Por tantas vivencias y días que compartimos juntos, a lo largo de estos años.

ÍNDICE DE CONTENIDO

	Pág.
Índice de cuadros	i
Índice de figuras	ii
Resumen	iv
I. Introducción	1
II. Objetivos	3
III. Hipótesis	3
IV. Revisión de literatura	4
4.1. El tomatillo	4
4.1.1. Origen de la especie	4
4.1.2. Variabilidad de la especie	4
4.1.3. Taxonomía	4
4.1.4. Morfología de la planta	5
4.1.4.1. Raíz	5
4.1.4.2. Tallo	5
4.1.4.3. Hoja	5
4.1.4.4. Flor	6
4.1.4.5. Fruto	6
4.1.4.6. Semilla	6
4.1.5. Hábito de crecimiento	6
4.1.6. Fisiología	7
4.1.7. Factores ambientales	7
4.1.7.1. Temperatura	7
4.1.7.2. Humedad	7
4.1.7.3. Luz	7
4.1.8. Requerimientos edáficos	8
4.1.8.1. Textura del suelo	8
4.1.8.2. Ph	8
4.2. Cultivo de tomatillo	8

4.2.1. Importancia del cultivo	8
4.2.2. Manejo agronómico	9
4.2.2.1. Fecha de siembra	9
4.2.2.2. Elección de la variedad	9
4.2.2.3. Preparación del terreno	10
4.2.2.4. Producción de plántula	10
4.2.2.5. Trasplante	10
4.2.2.6. Riego	10
4.2.2.7. Fertilización	11
4.2.2.8. Labores de cultivo	11
4.2.2.9. Control de plagas y enfermedades	12
4.2.2.10. Cosecha	12
4.2.3. Manejo de frutos de hortalizas en poscosecha	13
4.2.3.1. Factores ambientales para un buen manejo de frutos	14
4.2.3.1.1. Temperatura	14
4.2.3.1.2. Humedad relativa	14
4.2.3.1.3. Aireación	14
4.2.3.2. Tácticas de manejo de frutos en poscosecha	14
4.2.3.2.1. Limpieza	14
4.2.3.2.2. Clasificación por grados de calidad y selección	15
4.2.3.2.3. Preservación o eliminación del cáliz	15
4.3. Problemas fitosanitarios	15
4.3.1. Plagas insectiles	15
4.3.1.1. Minador de la hoja	15
4.3.1.2. Gusano del fruto	16
4.3.1.3. Barrenador del tallo	16
4.3.1.4. Ácaro blanco	16
4.3.2. Enfermedades virales	17
4.3.2.1. <i>Tobacco etch Potyvirus</i> (Virus jaspeado del tabaco, TEV)	17
4.3.2.2. <i>Alfalfa mosaic Alfamovirus</i> (Virus mosaico de la alfalfa, AMV)	18
4.3.2.3. <i>Cucumber mosaic Cucumovirus</i> (Virus mosaico del pepino,	18

CMV)	
4.3.2.4. <i>Tomato spotted wilt Tospovirus</i> (Virus de la marchitez manchada del tomate, (TSWV)	18
4.2.3.5. <i>Tobacco mosaic Tobamovirus</i> (Virus mosaico del tabaco, TMV)	18
4.3.3. Enfermedades de origen bacteriano	19
4.3.3.1. Bacteriosis del tomatillo	19
4.3.4. Enfermedades ocasionadas por nematodos	19
4.3.4.1. Nematodo agallador (<i>Meloidogyne</i> spp.)	19
4.3.5. Enfermedades fúngicas	20
4.3.5.1. Cenicilla	20
4.3.5.2. Mancha de la hoja	20
4.3.5.3. Carbón blanco	21
4.3.5.4. Moho blanco	21
4.4. Generalidades de los hongos	22
4.4.1. Hongos fitopatógenos	22
4.5. <i>Rhizoctonia solani</i> (kühn)	23
4.5.1. Descripción	23
4.5.2. Distribución	23
4.5.3. Hospederos	23
4.5.4. Taxonomía	24
4.5.5. Morfología	24
4.5.6. Grupos de anastomosis (AG)	25
4.5.7. Ciclo de vida	25
4.6. Pudrición radical por <i>Rhizoctonia solani</i> (kühn)	27
4.6.1. Importancia	27
4.6.2. Síntomas	28
4.6.3. Control químico	28
4.6.3.1. Fumigación del suelo	28
4.6.3.2. Fungicidas de acción no fumigante	29
4.7. Fungicidas biorracionales	29

V. Materiales y métodos	31
5.1. Muestreo para obtención de inóculo	31
5.2. Preparación del medio de cultivo PDA	31
5.3. Aislamiento del hongo	32
5.4. Purificación y preservación del hongo	33
5.5. Pruebas de patogenicidad	33
5.6. Re-aislamiento del hongo	34
5.7. Identificación del patógeno	34
5.7.1 Identificación morfológica	34
5.7.2. Identificación molecular	35
5.7.2.1. Obtención de micelio	35
5.7.2.2. Extracción de DNA a partir de micelio	35
5.7.2.3. PCR	37
5.7.2.4. Verificación del producto de PCR	37
5.7.2.5. Fotodocumentación	37
5.8. Bioensayo <i>in vitro</i> con productos biorracionales contra <i>Rhizoctonia solani</i> (Kühn)	38
5.8.1. Medio de cultivo	38
5.8.2. Tratamientos	38
5.8.3. Establecimiento del bioensayo	39
5.8.4. Diseño experimental y análisis de datos	41
VI. Resultados y discusión	42
6.1. Muestreo para la obtención de inóculo	42
6.2. Pruebas de patogenicidad	43
6.3. Re-aislamiento del patógeno	43
6.4. Identificación del patógeno	44
6.4.1. Estudio morfológico	44
6.4.2. Estudio molecular	44
6.4.2.1. Extracción de DNA	44
6.4.2.2. PCR y fotodocumentación	45
6.5. Bioensayo en medio de cultivo	48

VII. Conclusiones

56

Bibliografía

57

ÍNDICE DE CUADROS

Cuadro 1. Grupos anastomóticos de <i>Rhizoctonia solani</i> (kühn) y las enfermedades que causan en diversas especies de plantas cultivadas (Fernández, 2011)	26
Cuadro 2. Relación de los productos biorracionales utilizados en el bioensayo	39
Cuadro 3. Relación de los tratamientos utilizados en el bioensayo	40
Cuadro 4. Porcentaje de plántulas de tomatillo emergidas, sanas y con síntomas, resultantes de las pruebas de patogenicidad	43
Cuadro 5. Relación del contenido de ácido nucleico contenido en cada una de las cepas a identificar	45
Cuadro 6. Efecto de fungicidas biorracionales incorporados en medio de cultivo papa-dextrosa-agar, sobre el crecimiento micelial de <i>Rhizoctonia solani in vitro</i> a los siete días	48
Cuadro 7. Efecto de fungicidas biorracionales, incorporados en medio de cultivo papa-dextrosa-agar, sobre el crecimiento micelial de <i>Rhizoctonia solani in vitro</i> a los 14 días	52
Cuadro 8. Efecto de fungicidas biorracionales, incorporados en medio de cultivo papa-dextrosa-agar, sobre el crecimiento micelial de <i>Rhizoctonia solani in vitro in vitro</i> a los 21 días	54

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Medio de cultivo papa-dextrosa-agar recién esterilizado y listo para vaciarse en cajas Petri	32
Figura 2. Trozos de tallo y raíz de tomatillo con síntomas de pudrición sembrados en medio PDA	33
Figura 3. Caja Petri con PDA con crecimiento micelial de <i>Rhizoctonia solani</i> (Kühn) a los cuatro días después de sembrado	34
Figura 4. Tubos de ensayo con medio líquido que contienen los aislados purificados de hongos, obtenidos de plantas de tomatillo con síntomas de marchitez	36
Figura 5. Verificación de la calidad e integridad del DNA mediante la técnica de electroforesis en una cámara con buffer TAE 1X	38
Figura 6. Plantas de tomatillo con síntomas de marchitez por hongos del suelo con síntomas de pudrición de raíz y tallo: a) síntomas aéreos consistentes en palidez y flacidez generalizada en la planta b) vista externa de las raíces infectadas que muestra la pudrición de la raíz c) corte transversal de una planta infectada, en donde se observa la pudrición vascular	42
Figura 7. Fotografías correspondientes a <i>Rhizoctonia solani</i> obtenidas a partir de microscopía, en donde se puede observar: a) micelio inmaduro del patógeno; b) micelio maduro; c) observación de hifas y septos	44
Figura 8. Verificación de la integridad del DNA total extraído de micelio de <i>Rhizoctonia solani</i> (Kühn), obtenido mediante la reproducción del mismo en papa-dextrosa (PD), por electroforesis en gel de agarosa al 1.0% donde se observan las bandas que constituyen al DNA de cinco	46

distintos aislados (A). Carriles 1 y 2 (Aislado 1=A1), 3 (Aislado 2=A2), 4 y 5 (Aislado 3=A3), 6 y 7 (Aislado 4=A4), 8 y 9 (Aislado 5=A5)

- Figura 9. Detección molecular del grupo de anastomosis tres (AG₃) de *Rhizoctonia solani* (Kühn), por electroforesis en gel de agarosa al 1.0%. En el carril 1 (M) se encuentra el marcador de peso molecular 1 kb, en el segundo el control negativo, y en el tercero, el control positivo. En el carril 4 (Aislado 1=A1); carril 5 (Aislado 2=A2); carril 6 (Aislado 3=A3); carril 7 (Aislado 4=A4); carril 8 (Aislado 5=A5), de los cuales no hubo amplificación alguna 47
- Figura 10. Detección molecular del grupo de anastomosis cuatro (AG₄) de *Rhizoctonia solani* (Kühn), por electroforesis en gel de agarosa 1.0%. En el carril 1 (M) se encuentra el marcador de peso molecular 1 kb, en el segundo se ubica el control negativo, y en el tercero, el positivo en donde se esperaba una amplificación de 200 pb, la cual no sucedió al igual que en el carril 4 (Aislado 1=A1); carril 5 (Aislado 2=A2); carril 6 (Aislado 3=A3); carril 7 (Aislado 4=A4) y carril 8 (Aislado 5=A5), en donde tampoco hubo amplificación del fragmento esperado 47
- Figura 11. Evaluación *in vitro* de la efectividad del extracto de gobernadora+pino (250, 500 ppm) incorporado en medio de cultivo (PDA) contra *Rhizoctonia solani* (Kühn) 50
- Figura 12. Evaluación *in vitro* de la efectividad del extracto de cítricos (250, 500 ppm) incorporado en medio de cultivo (PDA) contra *Rhizoctonia solani* (Kühn) 51
- Figura 13. Evaluación *in vitro* de la efectividad del ácido salicílico (100, 250 ppm) incorporado en medio de cultivo (PDA) contra *Rhizoctonia solani* (Kühn) 52

RESUMEN

En Sinaloa, la secadera del tomatillo (*Physalis ixocarpa* Brot.), causada principalmente por *Fusarium* spp. y *Rhizoctonia solani* (Kühn), causa pérdidas hasta de 50%. El manejo de *R. solani*, se basa en fungicidas sintéticos, que contaminan cosecha y ambiente. Este trabajo tuvo como objetivo probar *in vitro* contra *R. solani*, productos biorracionales (ppm, i. a.): ácido salicílico (AS) 100, 250 y 500; *Bacillus* sp. + *Trichoderma* sp. + *Paecilomyces* sp. + *Beauveria* sp. (Best Ultra S[®]) (75+75+37.5+5), (150+150+75+10) y (300+300+150+20); *Bacillus subtilis* QST 713 (Serenade max[®]) 15.67, 39.175 y 78.35; alquil dimetil bencil cloruro de amonio+ octil delcil dimetil cloruro de amonio (32+24), (64+48), (128+96); fosfito de potasio, aminoácidos, ácidos grasos butíricos, poly D glucosamina, Cis jasmone y ácido nicotínico (25+10+7.5+5.0+3.75+2.5), (50+20+15+10+7.5+5.0) y (100+40+30+20+15+10) mas extractos de plantas silvestres+ácidos grasos de origen animal-vegetal (Fullkover[®]); extracto de cítricos (Bio-C[®]) 100, 200 y 400; extracto de semilla de toronja (Citripower[®]) 250, 500 y 1000; extractos de gobernadora+pino (Fubagro[®]) (90+25), (180+50) y (360+100); extractos de higuera+pino+orégano (Nemover[®]) (75+50+12.5), (150+100+25) y (300+200+50); fertilizante foliar (FBO[®]) a base de materia orgánica, nitrógeno y fósforo, (6.3+4.05+3.025), (12.6+8.10+6.05) y (25.2+16.2+6.05), respectivamente. Los productos se incorporaron en papa-dextrosa-agar (PDA) antes de vaciarse en placas Petri y en el centro de cada placa se sembró un disco (0.9 cm) de PDA-*R. solani*. Las cajas se incubaron en laboratorio a 28-30 °C, bajo un diseño completamente al azar con siete repeticiones y un testigo (PDA). La eficacia fungicida se estimó midiendo al diámetro de la colonia 1-7, 14 y 21 días después de la siembra (dds), valores que se sometieron a ANOVA (Kruskal-Wallis) y Tukey ($p \leq 0.05$). A 21 dds, el control del hongo fue de 100% con AS 250 y 500 ppm, extractos de gobernadora-pino (360+100 ppm) y de semillas de toronja 1,000 ppm. Se concluyó que estos productos poseen potencial para el manejo de *R. solani* en un contexto de manejo integrado sustentable.

I. INTRODUCCIÓN

En México, el cultivo de tomatillo, ocupa el lugar vigésimo primero en relación a la superficie sembrada. En el ciclo agrícola 2014-2015 se establecieron 46,524.59 ha con una producción total de 661,141.11 t. El rendimiento promedio nacional fue de 14.94 t ha⁻¹. Los principales estados productores fueron Sinaloa, Puebla, Michoacán, Guanajuato, México, Sonora, Jalisco e Hidalgo (SIAP, 2015).

Sinaloa es el principal productor de tomatillo en nuestro país y durante el ciclo O-I 2014-2015, se establecieron 8,643.94 ha, con una producción de 114,206.5 t, aportando alrededor del 17% de la producción nacional. El rendimiento promedio fue de 13.21 t ha⁻¹ (SIAP, 2015).

El rendimiento promedio nacional de la producción de tomatillo ha sido inferior al potencial del cultivo, el cual se estima en 40 t ha⁻¹ (Peña, 2001). Algunos factores que inciden en las bajas del rendimiento, son la presencia de plagas y enfermedades (Piña y Ponce, 1990; Jiménez *et al.*, 1992).

En Sinaloa, el cultivo se introdujo hace más de 25 años, pero en la última década ha tomado gran importancia, aspecto que se refleja en el incremento de la superficie sembrada. Aunque en un principio no se presentaban problemas fitosanitarios de importancia, la situación posterior fue muy distinta (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

Entre las enfermedades que afectan los rendimientos de esta solanácea se encuentran, principalmente, las virosis, por lo general transmitidas por áfidos y mosca blanca; aunque en ocasiones, algunos de estos agentes pueden estar presente en la semilla o ser diseminados mediante implementos agrícolas (Ramírez, 2001). Algunos de estos virus son: jaspeado del tabaco (TEV, por sus siglas en inglés), mosaico de la alfalfa (AMV), mosaico del pepino (CMV), mosaico del tabaco (TMV), "Y" de la papa (PVY), marchitez manchada del tomate (TSWV), begomovirus, entre otros (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008). Existen también algunas enfermedades producidas por hongos del follaje como la cenicilla (*Oidium*

sp.), la mancha foliar (*Cercospora physalidis* Ellis) y el carbón blanco (*Entyloma australe* Speg.) (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

La secadera, también conocida como marchitamiento o marchitez, es causada por un complejo de hongos que habitan en el suelo, como lo son *Fusarium solani* (Wollenw.) Gerlach, *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Rhizoctonia solani* (Kühn), *Pythium* sp., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid y *Sclerotium rolfsii* Curzi (Apodaca-Sánchez *et al.* 2008). Se presenta en cualquier etapa de desarrollo del cultivo, con pérdidas que pueden superar 50% (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008; Armenta-López *et al.*, 2016; Ayala-Armenta *et al.*, 2016; Ayala-Valenzuela *et al.*, 2016).

Rhizoctonia solani de manera individual o en complejo con otros hongos, pueden provocar falta de germinación y pudrición de las semillas; a veces éstas germinan, pero las plántulas no logran emerger o cuando nacen muestran desarrollo raquíptico y mueren prematuramente. A esta fase de la enfermedad también se le llama "damping-off" y se presenta tanto en cultivos establecidos en siembra directa, almácigos en campo o en semilleros bajo invernadero (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

En plantas con frutos en formación o etapa de cosecha, la enfermedad también se manifiesta severamente, como una palidez o amarillamiento del follaje, desarrollo raquíptico y menor tamaño. Las hojas y los frutos muestran flacidez y se desprenden fácilmente. Las raíces muestran una pudrición de color café claro a café oscuro, que a veces se extiende hacia el cuello y base del tallo. En las plantas enfermas, el número y tamaño de los frutos es menor y se caen con facilidad (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

El manejo de la marchitez del tomatillo, incluido *Rhizoctonia solani* como parte del complejo causal (Armenta-López *et al.*, 2016; Ayala-Armenta *et al.*, 2016), se basa en el uso de fungicidas químicos los cuales son dañinos para el ambiente. Ante esta situación ha surgido la necesidad de utilizar productos de bajo impacto

ambiental. En el presente trabajo se pretende evaluar diversos productos de esta naturaleza bajo condiciones *in vitro*.

II. OBJETIVOS

2.1. Objetivo general

Controlar al hongo *Rhizoctonia solani* (Kühn), causante de la marchitez del tomatillo, mediante productos biorracionales, *in vitro*.

2.2. Objetivos específicos.

3.2.1. Demostrar la patogenicidad de un aislado de *Rhizoctonia solani* en plantas de tomatillo.

3.2.2. Identificar aislados de *Rhizoctonia solani* mediante morfología.

3.2.3. Confirmar la identidad de *Rhizoctonia solani* aislado de tomatillo, mediante técnicas moleculares.

3.2.4. Estimar eficacia de productos biorracionales para el control de *Rhizoctonia solani in Vitro*.

III. HIPÓTESIS

Al menos dos de los productos a evaluar ejercerán un control satisfactorio (80% de control) contra *Rhizoctonia sp. in vitro*.

IV. REVISIÓN DE LITERATURA

4.1. El tomatillo

El tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) se conoce con diferentes nombres según la región donde se cultive, tales como: tomate, tomate verde, tomate de hoja, tomate de fresadilla, tomate de bolsa y tomatillo (Santiaguillo y López, 1992).

4.1.1. Origen de la especie

Esta especie era conocida por los Mayas y Aztecas desde épocas prehispánicas. Se considera a México como su centro de origen y domesticación (Menzel, 1951). El género *Physalis* comprende más de 80 especies, distribuidas, principalmente, en América; existen pocas especies en Asia, Europa, India, Australia y África tropical. La República Mexicana es el principal centro de distribución del género, con alrededor de 70 especies; de éstas, 36 se encuentran ampliamente distribuidas en 26 estados del país. En los Andes se explota a *Physalis peruviana* L. como fruta, mientras que en México y Guatemala se cultiva a *Physalis ixocarpa*, como hortaliza (Peña y Santiaguillo, 1999).

4.1.2. Variabilidad genética

En México existe una gran variabilidad genética en tomate de cáscara. Actualmente se reconocen al menos ocho razas: Silvestre, Milpero, Arandas, Tamazula, Manzano, Rendidora, Salamanca y Puebla (Peña *et al.*, 1992; Peña y Santiaguillo, 1999). Estas se encuentran distribuidas prácticamente en todo el país, en altitudes que van desde los 8 m hasta los 3,350 m (Santiaguillo *et al.*, 1994). Los genotipos más destacados son: Rendidora, Salamanca y Tamazula (Peña y Márquez, 1990); aunque en los últimos años la raza Puebla ha cobrado relevancia, en gran parte, a que sus frutos son grandes, siendo más atractivo tanto para el mercado nacional como para la exportación (Peña, 2001).

4.1.3. Taxonomía

En 1957, Benson (citado por Peña y Santiaguillo, 1999), ubicó al tomatillo de la siguiente manera:

Reino: Vegetal
División: Espermatofita
Clase: Angiospermae
Subclase: Dicotyledonae
Orden: Polemoniales
Familia: Solanaceae
Tribu: Solanae
Género: *Physalis*
Especie: *Physalis ixocarpa* Brot.

Cabe señalar que algunos investigadores señalan que el nombre válido actual del tomatillo cultivado en México es el de *Physalis philadelphica* Lam. (CONABIO, 2009).

4.1.4. Morfología de la planta

Es una especie herbácea anual que comúnmente mide entre 40-120 cm de altura; aunque puede presentar alturas mayores, lo que depende de los hábitos de crecimiento y ambiente (Peña y Santiaguillo, 1999).

4.1.4.1. Raíz

La raíz es típica o columnar, presenta ramificaciones secundarias profundas, que pueden alcanzar 60 cm de profundidad (Peña *et al.*, 1990).

4.1.4.2. Tallo

Es estriado, herbáceo o ligeramente leñoso en la base; el diámetro del tallo principal es de 1.1 a 1.3 cm y en ramas primarias de 0.8 a 0.9 cm. En los primeros días de desarrollo, las plantas presentan pelos esparcidos en el tallo, hojas y ramas, los cuales se pierden a medida que va creciendo la planta (Saray, 1982; Pérez *et al.*, 1997).

4.1.4.3. Hojas

Son compuestas, erectas, alternas y de forma ovalada; miden de 5-10 cm de largo por 4-6 cm de ancho; su base es atenuada, el ápice agudo y con márgenes

irregulares dentados. Las hojas, por lo general, presentan seis dientes por cada lado. El pecíolo mide de 4.0-6.5 cm de largo (Peña *et al.*, 1990).

4.1.4.4. Flor

Son bisexuales, perfectas o hermafroditas; solitarias y salen de la dicotomía de las ramas; pequeñas, pentámeras, con bordes de color amarillo brillante. La garganta produce cinco puntos de color café-negro. La corola mide de 1.0 a 2.6 cm de diámetro; es de color amarillo, con manchas azul verdoso o morado, tenues o bien marcadas, aunque algunas veces es púrpura y descolorida en el centro, y circular. Los lóbulos son plegados y los estambres insertados en la base de la corola. El estigma presenta dos hendiduras, casi bilobulado. Las anteras son azules o azul verde, de 0.2 a 0.4 cm de largo, las cuales se encorvan después de la dehiscencia (Saray, 1982; Pérez *et al.*, 1997).

4.1.4.5. Fruto

Es una baya amarilla o verdusca, de 1-6.0 cm de diámetro; su sabor es ácido o dulce. El cáliz mide de 2.5-6.0 cm de ancho. Posee diez nervaduras que en algunos casos son de color morado, pero por lo general, muestran el mismo color del fruto; los pecíolos miden de 0.6-1.0 cm de largo (Peña *et al.*, 1990).

4.1.4.6. Semilla

Se encuentran distribuidas en el endocarpio del fruto y son de forma circular aplanada, con una coloración crema “sucio”; miden aproximadamente 3.0-3.5 mm de diámetro; en su interior presenta dos cotiledones (Aguilar y Méndez, 2004).

4.1.5. Hábito de crecimiento

Presenta tres tipos de hábitos de crecimiento: rastrero, erecto y semierecto. El hábito rastrero se caracteriza porque la planta generalmente crece en forma erecta hasta alcanzar aproximadamente 40 cm y conforme ésta se desarrolla, los tallos se extienden sobre la superficie del suelo. El tipo erecto se identifica por el aspecto arbustivo que presenta la planta originada por un crecimiento casi vertical

de los tallos. Las variedades nuevas en su mayoría son de crecimiento semierecto (Alfaro, 1998).

4.1.6. Fisiología

La planta de tomatillo tiene un ciclo de vida, desde la siembra a la senescencia, de 85-120 días. Una vez que emerge la plántula, el crecimiento es lento, de aproximadamente un centímetro por día; a partir de los 24 días después de la siembra, el crecimiento se acelera y se estabiliza a los 55 días, que es cuando se alcanza una altura de 90 cm (en plantas rastreras, 60 cm). En los días subsecuentes, la planta crece de manera lenta y a los 70 días puede llegar a alcanzar, erguida, un poco más de 1.0 m; después empieza a envejecer rápidamente, hasta su muerte (Peña y Santiaguillo, 1999).

4.1.7. Factores ambientales

4.1.7.1. Temperatura

La temperatura óptima que requiere el cultivo de tomate de cáscara fluctúa entre 20-22 °C. El nivel adecuado para la germinación es de 20-24 °C; para el crecimiento vegetativo 22-25 °C, ya que con temperaturas de 30 °C disminuye y con 40 °C o más, se puede detener. Cuando la planta inicia la floración requiere de 30-32 °C; las temperaturas mayores pueden provocar la deshidratación del tubo polínico, únaló que ocasionaría una polinización incompleta y frutos malformados (Loya, 1977; Saray, 1977).

4.1.7.2. Humedad

En el caso de la humedad, las etapas críticas corresponden a la germinación, emergencia y trasplante. El resto del ciclo, incluyendo floración, necesita de un 60% de la humedad a capacidad de campo. En condiciones de sequía rápidamente emite flores acelerando la maduración; los frutos son pequeños, en menor cantidad, de sabor ácido y algunos son deformes (Saray y Loya, 1977; Moreno y Torres, 1996).

4.1.7.3. Luz

En general, el tomatillo es una planta moderadamente exigente en cuanto a intensidad luminosa; se estima que la especie, tiene un desarrollo óptimo con 2,500 bujías pie⁻¹. El periodo de mayor exigencia lumínica, comprende desde la emergencia hasta el inicio de la maduración comercial del fruto. A partir de esta fase, sus necesidades se reducen de manera significativa, con valores mayores a 2,500 bujías pie⁻¹, la planta responde acortando su ciclo, con envejecimiento prematuro, reducción el tamaño del fruto, sabor insípido del fruto (Aguilar y Aguilar, 2000). Las variedades comerciales requieren, en promedio, de 7,000 luxes y alrededor de 10 horas luz (Moreno y Torres, 1996).

4.1.8. Requerimientos edáficos

4.1.8.1. Textura del suelo

Los suelos donde se desarrolla bien el cultivo son los arcillo-arenosos, con disponibilidad de riego. El cultivo del tomate de cáscara en suelos delgados no se recomienda, de tal forma que se pueda afectar el desarrollo radicular, ocasionando muchos problemas en el desarrollo del cultivo (Saray y Loya, 1977; Moreno y Torres, 1996).

4.1.8.2. pH

El cultivo de tomatillo se desarrolla mejor en suelos con pH ligeramente ácido a neutro que va de 5.0 a 7.0 (Verdejo, 1987).

4.2. Cultivo del tomatillo

La producción de esta especie se concentra en el continente americano, en lo particular, en casi todo México, parte de Estados Unidos y Centro América (Valtierra y Ramos, 2003).

4.2.1. Importancia del cultivo

Según el SIAP (2015), el cultivo de tomatillo abarcó 46,524.59 ha sembradas con una producción de 661,141.11 t, que lo ubica en una posición privilegiada dentro de los cultivos más importantes del país. Peña (2001) reporta que el consumo per

cápita nacional de tomatillo es de 3.5 kg, mientras que Ledezma (1994) mencionó que el consumo per cápita varía mucho entre las distintas regiones; por ejemplo, en Culiacán, Sinaloa el consumo per cápita es de 0.97 kg, mientras que en Texcoco, Estado de México, es de 17.11 kg al año.

Además de lo anterior, el cultivo de tomatillo tiene una gran importancia social, debido a que es una gran fuente generadora de empleos, ya que requiere de mano de obra, principalmente, en actividades de trasplante y de cosecha (Peña *et al.*, 1992).

Esta especie vegetal posee una amplia variedad de usos, aunque el principal es el alimenticio, se usa como condimento en un gran número de comidas: en forma de salsas, agregadas a los guisados, sopas, ensaladas, etc. (Alvarado, 1995). Peña (1999) señaló que el tomatillo tiene gran importancia debido a su nivel nutricional mientras que Ayala (1992) argumenta que el fruto de tomate verde mexicano contiene sales de hierro, calcio y fósforo, además de varias vitaminas.

El incremento de la superficie cultivada de esta especie, ocurrió a partir de los años ochentas del siglo pasado. Actualmente también se exportan volúmenes importantes, tanto fresco como industrializado a los Estados Unidos de Norteamérica (Gómez *et al.*, 1991; Montes y Aguirre, 1992).

4.2.2. Manejo agronómico

4.2.2.1. Fecha de siembra

En Sinaloa, el periodo de siembra está dividido en tres etapas: temprana del 1 de septiembre al 15 de octubre, intermedia del 16 de octubre al 30 de noviembre y tardía, del 1 al 30 de diciembre (Elcamporadio.com, 2016).

4.2.2.2. Elección de la variedad

El objetivo del Sistema Nacional de Inspección y Certificación de Semillas (SNICS) es garantizar al agricultor la calidad genética, física, fisiológica y sanitaria de las semillas para asegurar su capacidad de establecimiento (PRODUCE, 2005).

Algunas variedades comerciales de tomatillo avaladas por este organismo son: Querétaro, Titán, Santo Tomás, Rodomora, Verde Supremo, Monarca, Manzano, Tehuacán, Orizaba, Fino, San Juanito, Rendidora, Divino, Yoreme e Hidalgo (PRODUCE, 2005).

4.2.2.3. Preparación del terreno

El surcado comúnmente se realiza a una distancia de un metro (Güemes, 1999), aunque en algunos casos se puede hacer a 1.25 m (Garzón y Garay, 1977). A veces se utilizan distancias de 1.2 a 1.8 m entre surcos en sistemas de riego por goteo, en donde se recomienda plantar a doble hilera colocando una planta cada 20 cm (Martínez *et al.*, 2004).

Sin embargo, en Sinaloa, muchos productores aún utilizan el método de siembra directa.

4.2.2.4. Producción de plántula

Para obtener una buena densidad poblacional en una hectárea se requiere alrededor de 33,000-40,000 plántulas (INIFAP, 2001).

4.2.2.5. Trasplante

Las plantas deben trasplantarse al terreno definitivo cuando miden de 8 a 10 cm de altura, etapa en la cual, presentan tres o cuatro hojas verdaderas; lo anterior ocurre a los 15-21 días después de la siembra en verano, y 18-21 días en siembras de invierno. Las plantas deben de estar sanas, de tallo grueso y conservar las hojas de los cotiledones (INIFAP, 2001).

4.2.2.6. Riego

En los lotes de producción de semilla no debe faltar el agua durante la germinación, el trasplante, antes y durante la floración, así como durante el desarrollo y maduración del fruto; esto para garantizar la formación de suficientes frutos y semillas de calidad (Güemes, 1999).

El número de riegos depende de las condiciones ambientales y de las características del suelo del lote (Romero, 2000). Como referencia, en Chapingo, México, se ha observado que el cultivo requiere entre siete y nueve riegos (Tamayo, 1998; Romero, 2000). El primero debe ser pesado para facilitar el trasplante; para el buen establecimiento de las plántulas, posteriormente se sugieren dos riegos a intervalos de 10 a 12 días. Los siguientes riegos deben ser ligeros y a intervalos de una semana (INIFAP, 2001).

4.2.2.7. Fertilización

El uso de fertilizantes se ha vuelto indispensable debido a la baja fertilidad de la mayoría de los suelos para los altos rendimientos y la buena calidad que se esperan en la actualidad, por lo que hacer un uso adecuado de ellos es importante para una agricultura sostenible (FAO, 2002). Por ello, Jorn (1999) afirma que una nutrición adecuada, influye directamente en la producción y calidad de la semilla.

La fertilización depende de la fertilidad del suelo, pero es importante destacar que se requiere de al menos 3.8 kg de nitrógeno aprovechable para producir una tonelada de fruto de tomate de cáscara (Castro *et al.*, 2001).

4.2.2.8. Labores de cultivo

Es importante que el cultivo permanezca libre de malezas durante los primeros 35 a 40 días después del trasplante (Güemes, 1999), motivo por el cual se llevan a cabo tres o más deshierbes; el primero a los 10 y 15 días después del trasplante, el segundo entre los 30 y 40 días (Arroyo, 1999); el resto depende de la tasa de crecimiento de las malezas, además que se debe facilitar la cosecha (Martínez *et al.*, 2004). Se requieren dos pasos de cultivadora alrededor de los 30 y 45 días después del trasplante (Cruz, 1991).

En lotes destinados a producción de semilla, desde el momento de la siembra en el almácigo y durante todo el desarrollo del cultivo, especialmente al inicio de floración, se deben realizar inspecciones minuciosas, para eliminar las plantas que no reúnan las características particulares de la variedad que se está

incrementando. Esto implica eliminar las plantas fuera de tipo, con el fin de garantizar la calidad genética de la semilla, para lo cual es indispensable contar con lotes limpios y evitar al máximo mezclas mecánicas; de lo contrario, plantas de otros genotipos pueden contaminar con su polen a la variedad objetivo. Para cumplir con ello se requiere de personal capacitado, que conozca las características morfológicas de la variedad que se está incrementando (Marín, 2010).

4.2.2.9. Control de plagas y enfermedades

El ataque de plagas y enfermedades puede presentar pérdida total de la cosecha, por lo que se requiere tener particular cuidado al respecto. Es claro que la producción de semillas se debe realizar con un manejo estricto y eficaz, sobre todo aquellos insectos vectores de virus, así como de patógenos transmitidos por semilla (Martínez *et al.*, 2004). Se debe de buscar siempre su prevención en un programa de manejo, en donde el método cultural (principalmente preventivo), el biológico y el control legal, constituyan la base y que el control químico sea, la última estrategia a considerar (PRODUCE, 2005).

El control de insectos vectores, la eliminación de plantas enfermas, la cosecha de frutos sanos destinados a obtener semilla y el manejo de fechas de siembra pueden ser los mecanismos para prevenir la incidencia de enfermedades (Martínez *et al.*, 2004). Las enfermedades pueden ser la principal causa de pérdida total de la producción e incluso han propiciado que muchos agricultores hayan dejado de sembrar esta especie (INIFAP, 2004; PRODUCE, 2005; De la Torre *et al.*, 2002).

4.2.2.10. Cosecha

La mayor calidad de semilla se obtiene cuando ésta alcanza su madurez fisiológica (Copeland, 1976); para tal propósito debe permanecer en el fruto por lo menos 15 días después de que éste alcanzó su madurez comercial (Osuna *et al.*, 1992). Se ha observado que a los 21 días después de la madurez comercial, la semilla tiene un buen peso y calidad (Hernández y Hernández, 1995).

También se ha establecido que la madurez comercial de la semilla se obtiene cuando el fruto toma una coloración amarillenta (Güemes, 1999) y la semilla tiene un color parduzco ó café, de ahí que éstos sean un par de indicadores de madurez de semilla en Chapingo y en el estado de Morelos (Martínez *et al.*, 2004)

En las parcelas destinadas exclusivamente para producir semilla, en Morelos, es recomendable llevar a cabo solamente dos cortes; el primero a los 56 días después del trasplante (Güemes, 1999); o bien, en Chapingo, México 21 días después de que la planta presente, en promedio, tres frutos completamente maduros (Peña *et al.*, 1997). El segundo corte es realizado siete días después del primero (SAGARPA, 2017).

La extracción de semilla de parcelas comerciales se hace con una despulpadora, provista de un gusano sinfín o una estructura de aspás, que rompen los frutos y generan una mezcla que se envía a tinas con agua para decantar impurezas y seleccionar semilla de buena calidad (George, 1983).

4.2.3. Manejo de frutos de hortalizas en poscosecha

Las características de calidad en las diferentes especies, variedades, razas o cultivares de frutas y hortalizas dependen del genotipo, de las condiciones agro climatológicas y de manejo (Shewfelt, 2003; Canet y Álvarez, 2006). Es importante considerar este aspecto, ya que la calidad de estos frutos al ser recolectados no se puede mejorar pero sí se pueden conservar sus características, mediante un manejo apropiado de las condiciones poscosecha (Thompson, 2003; Do Nascimento, 2008).

Durante la maduración de los frutos ocurren cambios fisiológicos, bioquímicos y estructurales que influyen en la producción de compuestos químicos que generan el sabor y aroma correspondientes. El ablandamiento de los tejidos varía de acuerdo a la especie y variedad del fruto, y se debe a la degradación de pectinas y hemicelulosas de la pared celular por acción de diferentes enzimas hidrolíticas (Karakurt, 2007). Las características sensoriales, principalmente de olor y sabor,

juegan un papel central en la calidad de los frutos y dependen del gusto y aroma percibidos por cada consumidor (Kader, 2009).

Los valores de peso, tamaño, firmeza, acidez y sólidos solubles, pueden ser utilizados como criterios para definir la calidad del fruto (Torres-Panduro, 1998; Santiaguillo-Hernández *et al.*, 2004; Jiménez-Santana *et al.*, 2012).

4.2.3.1. Factores ambientales para un buen almacenamiento de frutos

4.2.3.1.1. Temperatura

Las bajas temperaturas de almacenamiento tienen la ventaja de reducir la pérdida de agua del producto y la transpiración (FAO, 2016). Según Cruz-Álvarez (2012) la temperatura óptima de almacenamiento es de 4 °C, debido a que los frutos de tomatillo almacenados a esta temperatura tienden a disminuir la pérdida de peso, tasa de respiración y producción de etileno, así como en mantener sin cambios la firmeza, contenido de clorofila, color y sólidos solubles.

4.2.3.1.2. Humedad relativa

La humedad relativa alta mejora la vida de almacenamiento del producto. Las bodegas deberían de mantenerse idealmente a una alta humedad relativa, y a la vez considerar la aparición de los patógenos que se verán favorecidos (FAO, 2016).

4.2.3.1.3. Aireación

Es importante que la circulación del aire en el interior la bodega y alrededor de los frutos sea la adecuada, para asegurar un enfriado eficiente (FAO, 2016).

4.2.3.2. Tácticas de manejo de frutos en poscosecha

4.2.3.2.1. Limpieza

Todas las impurezas deben ser eliminadas antes del almacenamiento, especialmente sí el fruto va a ser almacenado a granel. Las piedrecillas dañan el producto y las partículas de tierra y restos vegetales lo compactan y restringen la

ventilación, dando origen a zonas en donde se acumula el calor, siendo además vehículos de gérmenes patógenos que dañan el producto (FAO, 2016).

4.2.3.2.2. Clasificación por grados de calidad y selección

El producto pequeño, dañado, infectado y sobre maduro debe ser eliminado. Si este es pequeño pierde agua con rapidez y se marchita durante el almacenamiento. Aquél que ha sufrido magulladuras o cortes pierde agua y es invadido fácilmente por patógenos; cuando es infectado se deteriora rápidamente, se calienta y se convierte en una fuente de inóculo de infección para el que se encuentra sano. El fruto sobre maduro tiene menor resistencia a las enfermedades y un potencial reducido de almacenamiento (FAO, 2016).

4.2.3.2.3. Preservación o eliminación del cáliz

Según Fischer *et al.* (1997), el preservar el cáliz del tomatillo ayuda a retrasar su almacenamiento, por lo que ayudaría a alargar su vida de anaquel. Por otra parte, Cruz-Álvarez (2012) señaló que la presencia o ausencia del cáliz no es relevante en el comportamiento fisiológico de las características de los frutos de tomate de cáscara, excepto en el contenido de clorofila y color.

4.3. Problemas fitosanitarios

4.3.1. Plagas insectiles

Hoy en día se reconocen como plagas de este cultivo a minador de la hoja (*Liriomyza sativae* Blanchard), gusano del fruto (*Heliothis* spp.), picudo (*Trichobaris* spp.) y ácaro blanco (*Polyphagotarsonemus latus* Banks), las cuales pueden disminuir la producción, si no se regulan adecuadamente las poblaciones (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

4.3.1.1. Minador de la hoja

Liriomyza sativae Blanchard es un díptero de la familia Agromyzidae, comúnmente llamado minador de la hoja o mosquita minadora. El mayor daño lo ocasiona la larva, al alimentarse, ya que hace galerías sinuosas, que originan desecación de

las hojas y exposición de los frutos al sol. El macho la acompaña y se alimenta en las perforaciones generadas al alimentarse u ovipositar. El primer signo de daño son los puntos blanquecinos que rodean la perforación de la alimentación o de la ovipostura. El daño más importante es por la destrucción de hojas (Pacheco, 1985).

4.3.1.2. Gusano del fruto

Heliothis subflexa (Gueneé). Se conoce como gusano del fruto. Se distribuye desde Estados Unidos a América del Sur y El Caribe. En México, abunda en todas las regiones donde se cultiva tomate de cáscara, ya que es el hospedero principal. La hembra deposita los huevecillos aislados en las yemas terminales, botones y flores. Cuando emergen las larvas se alimentan de las hojas tiernas y posteriormente se introducen al fruto del que se alimentan hasta destruirlo por completo (Bautista, 1992).

4.3.1.3. Barrenador del tallo

Trichobaris championi Barber. Este insecto es comúnmente llamado picudo o barrenador del tallo del tomate. En estado de larva se alimenta del interior del tallo, provocando marchitez, amarillamiento y reducción del crecimiento (Bautista *et al.*, 2003) y, en la mayoría de los casos, la muerte prematura de la planta. Bautista y Morales (2000) determinaron que tiene una capacidad de infestación de hasta 90%.

4.3.1.4. Ácaro blanco

Polyphagotarsonemus latus (Banks). Su nombre común es ácaro blanco. Es una especie de distribución cosmopolita que afecta a diferentes cultivos, tanto en áreas templadas como en el trópico. El principal daño ocasionado por esta especie es la reducción o deformación de hojas jóvenes, brotes, frutos y flores (Alcántara, 2010).

4.3.2. Enfermedades virales

En el tomate de cáscara, las enfermedades virales representan el mayor problema a nivel nacional, tanto por el daño que causan al cultivo como por la dificultad que implica su control (PRODUCE, 2005; INIFAP, 2004; De la Torre *et al.*, 2002). Los síntomas más comunes son mosaicos de ligeros a severos; deformación o reducción de la lámina foliar; moteados amarillo y cálico; sobre brotación foliar; reducción del tamaño de hojas y entrenudos, que ocasiona enanismo en la planta; epinastía de hojas y diversos tipos de amarillamiento (De la Torre, 1996). Posteriormente, De la Torre *et al.* (2002) detectaron los siguientes virus en plantas de tomate de cáscara: *Cucumber mosaic Cucumovirus* (Virus mosaico del pepino, CMV, por sus siglas en inglés); *Tobacco mosaic Tobamovirus* (Virus mosaico del tabaco, TMV, por sus siglas en inglés); *Tobacco etch Potyvirus* (Virus jaspeado del tabaco, TEV, por sus siglas en inglés); *Tomato spotted wilt Tospovirus* (Virus de la marchitez manchada del tomate, TSWV, por sus siglas en inglés); *Tobacco ringspot Nepovirus* (Virus de la mancha anular del tabaco, TRSV, por sus siglas en inglés). Posteriormente se logró aislar y caracterizar un virus transmitido por *Myzus persicae* (Sulzer) que resultó ser una variante del *Alfalfa mosaic Alfamovirus* (AMV, por sus siglas en inglés) también en tomate de cáscara (De la Torre *et al.*, 2002).

4.3.2.1. Tobacco etch Potyvirus (Virus jaspeado del tabaco, TEV).

Pertenece al género *Potyvirus*, familia Potyviridae. Las partículas virales tienen forma de varilla flexible con 680-900 nm de longitud y 11-13 nm de diámetro. Es un virus que se transmite mecánicamente y por áfidos de manera no persistente (Hull, 2002), pero no por semilla (Fauquet *et al.*, 2005).

Los síntomas aparecen en tomate de cáscara como un moteado clorótico y rugosidad de las hojas. Las plántulas infectadas tienen poco crecimiento y el fruto no alcanza el tamaño comercial. Hay una alta correlación entre la edad de la planta en que es infectada y el número y tamaño de los frutos producidos; a infecciones tempranas, menor rendimiento (INIFAP, 2004).

4.3.2.2. Alfalfa mosaic Alfamovirus (Virus mosaico de la alfalfa, AMV).

Pertenece al género *Alfamovirus*, familia Bromoviridae, posee partículas baciliformes y es multipartita. Se transmite de manera mecánica (Hull, 2002); también se dispersa de manera no persistente por más de 15 especies de áfidos y por semilla en alfalfa (Zadjali *et al.*, 2002) y en chile habanero (Tun, 2006).

4.3.2.3. Cucumber mosaic Cucumovirus (Virus mosaico del pepino, CMV).

El CMV se ubica en la familia Bromoviridae, género *Cucumovirus*. Son virus de partículas isométricas de alrededor de 30 nm de diámetro. Se diseminatransmitidos por áfidos de manera no persistente (Hull, 2002); según Guillaspie *et al.* (1998) también se trasmite por semilla en frijol de cuerno (*Vigna unguiculata* L.).

En tomate de cáscara, el CMV provoca achaparramiento, disminuye la producción en cantidad y calidad de los frutos. Cuatro o cinco días después de la inoculación, las hojas jóvenes en proceso de desarrollo muestran moteado, se deforman, arrugan y sus bordes comienzan a enrollarse. Todo crecimiento posterior disminuye drásticamente y las plantas no se desarrollan de manera normal debido a que los entrenudos y pecíolos del tallo se acortan. Estas plantas forman pocas flores y frutos, su aspecto, es de racimo o arbusto y sus hojas se agrupan de manera de roseta (INIFAP, 2004).

4.3.2.4. Tomato spotted wilt Tospovirus (Virus marchitez manchada del tomate, TSWV).

Este virus, del género *Tospovirus*, se clasifica dentro de la familia Bunyaviridae. La partícula viral es de forma esférica y posee una envoltura. Se disemina por trips de manera circulativa propagativa (Hull, 2002). En las hojas de tomate de cáscara causan bronceado y crecimiento unilateral; posteriormente el follaje se torna clorótico, aparece una atrofia y severa necrosis (INIFAP, 2004).

4.3.2.5. Tobacco mosaic Tobamovirus (Virus mosaico del tabaco, TMV).

Pertenece al género *Tobamovirus*. La partícula viral tiene forma de varilla rígida de 300-310 nm de longitud y 18 nm de diámetro (Hull, 2002). Se transmite fácilmente por medios mecánico (Agrios, 2005). Los síntomas inducidos en tomate de

cáscara consisten en un moteado clorótico en las hojas senescentes y un moteado con o sin malformación de los folíolos. Las infecciones de las plantas jóvenes inhiben la formación de los frutos y en ocasiones se producen manchas cloróticas (INIFAP, 2004).

4.3.3. Enfermedades de origen bacteriano

4.3.3.1. Bacteriósisis del tomatillo

En el norte de Sinaloa, ha sido reportada una enfermedad con síntomas de una posible bacteriósisis, de la cual aún no se identifica su agente causal. Aunque no está ampliamente distribuida en la región, llega a ocasionar pérdidas hasta en un 20%, cuando se presenta ambiente favorable (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

Los síntomas consisten en manchas acuosas, las cuales pueden presentar formas irregulares o redondeadas, de un color café canela con un borde oscuro. Las manchas miden un tamaño aproximado de 1.0-3.0 mm de diámetro; al envejecer, el centro de las manchas se torna de color café claro manifestándose así un aspecto de papel. Por las mañanas, cuando la humedad relativa es alta, se puede observar un exudado color cremoso por el envés de las manchas acuosas. Cuando varias manchas se juntan, se aprecia el síntoma conocido como tizón. El daño en fruto se manifiesta por la aparición de manchas similares a las de las hojas, las cuales al juntarse pueden llegar a desgarrar su cascara fácilmente, lo que demerita al producto en cuanto a su estética, lo cual se traduce en la disminución del valor comercial del producto. Esta enfermedad puede ser transmitida por semilla, o sobrevivir en residuos de cultivo y puede diseminarse de plantas a enfermas mediante las labores de cultivo (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008). El agente causal, probablemente, es una bacteria del género *Pseudomonas* (Apodaca-Sánchez 2016, comunicación personal).

4.3.4. Enfermedades ocasionadas por nematodos

4.3.4.1. Nematodo agallador (*Meloidogyne* spp.)

Con relación al comportamiento de *Physalis ixocarpa* frente a nematodos, resulta muy escasa la información en las fuentes consultadas. Así, por ejemplo, Peña-

Lomelí *et al.* (2001), no señala a los nematodos formadores de agallas como plaga de este cultivo, lo que sugiere que, probablemente, no sea buen hospedante para *Meloidogyne*.

Por su parte Castillo (2002) señaló que este nematodo afecta a *Physalis peruviana*, principalmente, la especie *M. hapla*. Aunque no es un patógeno primordial, disminuye, notablemente, el número de frutos por planta y el tamaño de estos. SENASICA (2015) afirma que *P. ixocarpa* es hospedero del nematodo agallador (*Meloidogyne enterolobii* Yang and Eisenback).

4.3.5. Enfermedades fúngicas

Las enfermedades de origen fúngico pueden también limitar la producción de esta solanácea (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008). Algunas de ellas son las siguientes:

4.3.5.1. Cenicilla

Es causada por el hongo *Oidium* sp., es una de las enfermedades más comunes en la etapa de fructificación y corte del tomatillo. Su ataque disminuye el rendimiento y la calidad de la cosecha hasta 50% (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

Los síntomas de esta enfermedad se aprecian en hojas, tallos, pecíolos y en la cáscara de los frutos; al inicio se presentan manchas pequeñas de color verde pálido, rápidamente, se desarrollan y muestran una capa polvorienta de color blanco harinoso, este es el síntoma característico de la enfermedad. Las manchas polvorientas corresponden al parásito que crece en abundancia sobre la superficie del tejido infectado, al que llega a cubrir por completo. Además, las hojas se secan o se desprenden prematuramente, mientras que los frutos son de menor tamaño y de calidad inferior (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

4.3.5.2. Mancha de la hoja

La mancha de la hoja causada por el hongo *Cercospora physalidis* Ellis, puede provocar una fuerte defoliación y manchado de frutos cuando el ambiente es favorable, con pérdidas que alcanzan 20-30% (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

En las hojas y en los frutos se observan manchas circulares u ovoides de aproximadamente 0.5-1.5 cm de diámetro, delimitadas por las nervaduras; son de color café claro a café canela y al envejecer su centro se torna de color gris y el borde es amarillento. En el centro de las manchas, se presentan líneas redondas u ovoides, en forma de anillos concéntricos y si la humedad es alta se observan pequeños puntos de color negro, los que se cubren de una vellosidad de color grisáceo. Las hojas afectadas se desprenden y caen al suelo. En la cáscara de los frutos, el hongo causa manchas similares a las de las hojas, que aunque severas no alcanzan a dañar la pulpa. Después de la cosecha, las lesiones siguen desarrollando, sobre todo cuando los frutos se mantienen sin refrigeración, lo que provoca el deterioro de su calidad (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

4.3.5.3. Carbón blanco

Es causado por el hongo *Entyloma australe* Speg. En Sinaloa es una enfermedad esporádica pero devastadora, con pérdidas que pueden superar al 50%, cuando ocurren abundantes lluvias invernales (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

Los síntomas consisten en manchas redondeadas en las hojas, de color blanco-cremoso o amarillo pálido, con un diámetro aproximado de 2-5 mm. Cuando la humedad es alta, por debajo de la mancha se aprecia una vellosidad fina de color blanco-cremoso (esporas del hongo). En ocasiones las lesiones jóvenes se curvan ligeramente hacia arriba, quedando una concavidad por debajo de la hoja. Manchas similares a las de las hojas (sin concavidades) se observan también en los pecíolos y en la cáscara de los frutos. Los frutos manchados disminuyen su valor comercial, aunque la pulpa no sufre daños (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

4.3.5.4. Moho blanco

También conocida como “salivazo”, es una enfermedad provocada por el hongo *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary, que puede ser devastadora en tomate de cáscara (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

Se manifiesta como una pudrición blanda y acuosa, de color pardo a café canela, que provoca el ahorcamiento de la base de los tallos y eventualmente la muerte de la planta completa. Al atacar directamente a los frutos, hojas y tallos tiernos, el hongo los desintegra en pocos días (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

Cuando la humedad es alta, se desarrolla una vellosidad (micelio) abundante de color blanco algodonoso sobre los órganos infectados. En pocos días, en dicha vellosidad, se diferencian cuerpos oscuros de forma irregular, de aproximadamente 3-10 mm, con forma de excremento de ratón, denominados esclerocios. Los esclerocios son de consistencia correosa y funcionan como estructuras de resistencia, ya que en ausencia de plantas susceptibles, permanecen viables en el suelo por varios años (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

4.4. Generalidades de los hongos

Los hongos son pequeños organismos productores de esporas; generalmente microscópicos, eucarióticos, ramificados y a menudo, filamentosos; carecen de clorofila y tienen paredes celulares que contienen quitina, celulosa, o ambos componentes. La mayoría de las 100,000 especies de hongos conocidas son estrictamente saprofitas y viven sobre la materia orgánica muerta, a la que descomponen. Alrededor de 50 especies de hongos producen enfermedades en el hombre y casi el mismo número ocasiona enfermedades en los animales, la mayoría de las cuales son enfermedades superficiales de la piel o de sus apéndices. Sin embargo, más de las 8,000 especies de hongos producen enfermedades en las plantas (Agrios, 2005).

4.4.1. Hongos fitopatógenos

Todas las plantas son atacadas por algún tipo de hongo, y cada uno de los hongos parásitos ataca a uno o más tipos de plantas. Algunos hongos crecen y se reproducen sólo cuando establecen una cierta asociación con las plantas que les sirven de hospedante, durante todo su ciclo de vida estos hongos se conocen como parásitos obligados o biótropos. Otros requieren de una planta hospedante durante una cierta etapa de su ciclo de vida, el cual lo pueden concluir desarrollándose en materia orgánica muerta, o bien creciendo y reproduciéndose tanto en materia orgánica muerta como en plantas (Agrios, 2005).

4.5. *Rhizoctonia solani* Kühn

La especie *R. solani* fue definida por Candolle (1815), sobre la base de la producción de esclerocios de textura uniforme con hilos hifales emanantes de estos, y la asociación del micelio con raíces de plantas vivas (Sneh *et al.*, 1991). Es la especie más conocida dentro del género *Rhizoctonia*. Fue originalmente descrito en 1858 por Julius Kuhn (Barnett y Hunter, 1982).

Rhizoctonia solani es un hongo basidiomiceto, cuya fase sexual es conocida actualmente como *Thanatephorus cucumeris* (Frank). Asexualmente forma un micelio vegetativo y/o esclerocios (García, 2008). Afecta a la planta en cualquier etapa fenológica, desde semillero hasta fructificación e incluso post-cosecha; por consiguiente, las partes de la planta que pueden verse afectadas son raíz, tallo, hojas, inflorescencias, frutos, semillas y ápices de crecimiento (Agrios, 2005).

4.5.1. Distribución

Se encuentra disperso en el mundo en suelos no cultivados y cultivados, en donde sobrevive de forma saprofita o como esclerocio. Ciertos aislados de *R. solani* pueden depender del parasitismo para su sobrevivencia en el suelo. El hongo también puede vivir como saprofita en tejidos infectados, o por colonización saprófita en plantas muertas, en las cuales puede permanecer en latencia o activo por un largo periodo (Ulacio *et al.*, 2002).

4.5.2. Hospederos

Se trata de un hongo cosmopolita que posee un amplio rango de hospedantes, principalmente, cultivos anuales. Otros hospederos de *R. solani* son las malezas, casi todas las hortalizas y plantas florales, varios cultivos mayores y también en plantas perennes, tales como los pastos para césped, plantas de ornato, arbustos y árboles. En cuanto a las plantas cultivadas, las especies de familias como: solanáceas, fabáceas, brassicáceas, poáceas, entre otras, son las más afectadas

por el patógeno. Las especies cultivadas más susceptibles a este patógeno son: papa, tomate, berenjena, lechuga, col, frijol, pepino, maíz y otras (Agrios, 2005).

4.5.3. Taxonomía

Alexopoulos *et al.* (1996), ubicaron a *Rhizoctonia solani* en la siguiente taxa:

Clase: Deuteromycetes

Subclase: Hyphomycetidae

Orden: Aganomycetales

Género: *Rhizoctonia*

Especie: *solani*

Teleomorfo: *Thanatephorus cucumeris* (Frank) Donk.

4.5.5. Morfología

El hongo *Rhizoctonia solani* se caracteriza por formar un micelio con células alargadas que se ramifica en ángulo recto, con respecto a la hifa principal. Las hifas son septadas, con múltiples núcleos y por lo general miden de 8 a 12 µm de diámetro. El micelio formado es incoloro en su etapa juvenil y luego se torna de color amarillo a café, conforme madura. *R. solani* produce tres tipos de micelio: hifas pigmentadas que se diseminan rápidamente a través del tejido vegetal; luego se desarrollan las hifas de aspersorios; por último, a través de la unión de las hifas pigmentadas y los apersorios, se forman las células moniloides o esclerocios (García, 2008). Los esclerocios de *R. solani* son irregulares y hemisféricos, de color blanco cuando empiezan a desarrollarse y luego se tornan de color café; miden de 1 a 6 mm de diámetro (Agrios, 2005).

Las características que permiten clasificar taxonómicamente a *R. solani* son: tendencia de pigmentación hifal de color café; ramificación próxima al septo distal de células, en hifas vegetativas jóvenes; estrechamiento de hifa, septo doliporo y células multinucleadas en hifas vegetativas jóvenes (Parmeter, 1970).

4.5.6. Grupos de anastomosis

Los esfuerzos por dividir *R. solani* en agrupaciones lógicas entran en por lo menos dos categorías: 1) la anastomosis hifal y diferencias en la patogenicidad y 2) la apariencia física del medio (Stevens y Jones, 1993).

La anastomosis hifal se presenta cuando se confrontan aislamientos en medios de cultivo. En el caso de que se presente atracción, fusión de hifas, intercambio genético y muerte celular ausente, entonces estos aislamientos pertenecen al mismo grupo de anastomosis (Ogoshi, 1987).

Los diferentes grupos de anastomosis de *R. solani*, se agrupan en el Cuadro 1.

4.5.7. Ciclo de vida

Rhizoctonia solani Kühn se encuentra en el suelo en forma de esclerocios, los cuales constituyen su estructura de sobrevivencia y en dónde puede permanecer latente por tiempo indefinido. Las condiciones óptimas para su desarrollo son suelos moderadamente húmedos y temperaturas de 15 a 18 °C, aunque algunas razas incrementan su actividad a temperaturas mayores que 35 °C (García, 2008).

El hongo puede diseminarse por medio de agua de lluvia, riego o material de propagación infectado. *R. solani* es atraído a la planta mediante estimulantes químicos que se liberan por la actividad de crecimiento de las células de la planta y/o por la descomposición de residuos de la misma; luego de la atracción química, las hifas del hongo se adhieren a la superficie externa de la planta, en dónde continúa creciendo hasta entrar en el tejido vegetal, logrando penetrar en las células para producir así una infección en la planta (García, 2008).

Cuadro 1. Grupos anastomósicos de *R. solani* Kühn y las enfermedades que causan en diversas especies de plantas cultivadas (Fernández, 2011).

Grupo de anastomosis	Enfermedad	Hospedante
AG1-1a	Marchitez o mancha de la vaina	Arroz
	Esclerocios, tizón de la hoja	Maíz
	Tizón de la hoja	Sorgo
	Mancha marrón	Plántula de alcanfor
AG1-IB	Mustia	Frijol
	Putrefacción	Calabaza
	Pudrición de pie	Chile
AG1-IC	Ahogamiento y corona de la raíz	Soya
		Zanahoria
AG2-1	Ahogamiento	Crucíferas
	Pudrición del cogollo	Fresas
	Tizón de la hoja	Tulipanes
AG2-2 IIIB	Falso tizón de la vaina	Arroz
	Tizón de la vaina	Maíz
	Costra negra	Remolacha
	Parche marrón	Pasto
	Pudrición	
	Ahogamiento	
AG2-2 IV	Pudrición de la raíz y tizón de la hoja	Remolacha

	Parche largo	Pasto
AG3	Costra negra y cancro del tallo/estolones	Papa
	“Target spot”	tabaco
	Tizón de la hoja	Tomate
	Mancha café	Berenjena
AG4 (HGI, HGII y HGIII)	Pudrición del fruto	Tomate
	Pudrición del fruto	Tomate
	Pudrición del tallo	Chícharo
	Ahogamiento y cancro del tallo	Papa
	Ahogamiento y pudrición de la raíz	Soya, cacahuate
	Pudrición de la vaina	Habichuela, cebolla, algodón
AG6	Grupo no patogénico	
AG7	Grupo no patogénico	
AG8	Manchones desnudos	Cereales
AG9	Pudrición de raíz	Papa
	Patógeno débil	Crucíferas

4.6. Pudrición radical por *Rhizoctonia solani*

Como patógeno, *R. solani* es agente causal de diversas enfermedades, en cultivos de importancia económica y alimentaria. En el caso de tomatillo, forma parte del complejo de hongos del suelo que ocasionan damping-off o secadera en las diferentes etapas del cultivo (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

4.6.1. Importancia

La secadera, también conocida como marchitamiento o marchitez, es causada por un complejo de hongos que habitan en el suelo, como lo son *Fusarium solani* (Wollenw.) Gerlach, *Fusarium oxysporum* Schlecht., *Rhizoctonia solani* (Frank) Donk, *Pythium* sp., *Macrophomina phaseolina* (Tassi) Goid y *Sclerotium rolfsii* Curzi. Se presenta en cualquier etapa de desarrollo del cultivo, con pérdidas que pueden superar 50% (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

4.6.2. Síntomas

R. solani, en forma individual o junto a otros hongos del suelo, pueden causar una falta de germinación y pudrición de las semillas; a veces estas germinan, pero las plántulas no alcanzan a emerger o cuando nacen muestran desarrollo raquíptico y mueren prematuramente. A esta fase de la enfermedad también se le llama “damping-off” y se presenta tanto en cultivos establecidos a siembra directa, almácigos en campo o en semilleros bajo invernadero (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

En plantas con frutos en formación o etapa de cosecha, la enfermedad también se manifiesta severamente, como una palidez o amarillamiento del follaje, desarrollo raquíptico y menor tamaño. Las hojas y los frutos cuelgan flácidos y se desprenden fácilmente (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

Las raíces muestran una pudrición de color café claro a café oscuro, que a veces se extiende hacia el cuello y base del tallo. En ocasiones los tejidos podridos son de color rosáceo, rojizo o violáceo. En las plantas enfermas, el número y tamaño de los frutos es menor y se caen con facilidad (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008).

4.6.3. Control químico

La agricultura moderna va enfocada a la utilización de productos biorracionales para disminuir el impacto de los productos químicos tóxicos al ambiente. A pesar de ello el uso indiscriminado de estas últimas sustancias, es aún muy frecuente.

4.6.3.1. Fumigación del suelo

R. solani y en general los patógenos que afectan el sistema radical, son usualmente controladas mediante fumigación del suelo, previo al trasplante, con bromuro de metilo (Escobar *et al.*, citados por Santander, 2001). La utilización de este producto se encuentra altamente cuestionada por ser tóxico y riesgoso para los aplicadores, además de ser una sustancia degradadora de la capa de ozono. De acuerdo a lo planteado en el Protocolo de Montreal, su uso en los países desarrollados se llevó a cero el 1 de enero de 2005, sin embargo, se permite que los estados declaren usos críticos y soliciten cuotas de consumo para los casos en los que no se encuentren alternativas viables al fumigante. En tanto, para los países en vías de desarrollo, como sucede en el caso de Chile, su uso se prohibió a partir del año 2010, disminuyendo progresivamente su utilización en un 25% desde el año 2001 a un 50% para el año 2005 (Ristaino y Tomas, 1997; González y Carrasco, 2006).

Por su parte Pérez Moreno (2004) afirma que actualmente los productos que se utilizan para el control de las enfermedades ocasionadas por patógenos del suelo, entre ellos *R. solani* en los diversos cultivos hortícolas, son metam-sodio y bomuro de metilo. Productos de cobre no han sido eficientes para su control.

4.6.3.2. Fungicidas de acción no fumigante

Ochoa (2004) expresa que la palabra fungicida se deriva de los términos *fungus*: hongo y *caedo*: matar. En este sentido etimológico, fungicida es todo agente con la habilidad de destruir organismos fungosos. Sin embargo, el término fungicida se refiere a los químicos utilizados en la prevención y en ocasiones en la erradicación o curación de enfermedades ocasionadas por hongos fitopatógenos.

Para el control de *Rhizoctonia solani* y otros hongos basidiomicetes en diversos cultivos, se utilizan moléculas como azoxystrobin, benzotiazol e iprodione, carbendazim y propamocarb (Rosales, 2003); PCNB (Bravo, 2005) y Flutolanil (García, 2008), entre otros.

4.6.3.3. Fungicidas biorracionales

Los productos biorracionales, en este caso fungicidas, son aquellos que están derivados de fuentes naturales (extractos de plantas, patógenos de hongos, etc.), también sustancias sintéticas, similares o idénticas a otras que pueden encontrarse en la naturaleza. Las características principales de estos compuestos son su alta selectividad, modo de acción único, compatibilidad con el control biológico, muy baja o nula toxicidad, sin residualidad y de riesgos mínimos para el hombre y el ambiente. Las principales categorías en las que se dividen este tipo de productos son: botánicos, microbianos, minerales y sintéticos (INTAGRI, 2017).

Algunos productos biorracionales han sido evaluados para el control de *Rhizoctonia solani*, y se ha obtenido buenos resultados. Hernández-Castillo *et al.* (2008) encontraron que tanto *Bacillus* spp. como el extracto de gobernadora (4,000 ppm) disminuyeron la enfermedad de costra negra inducida *R. solani* en el cultivo de papa. A su vez Hoyos-Carvajal *et al.* (2008) obtuvieron resultados favorables para el control de *R. solani in vitro* mediante la utilización de *Trichoderma* spp.

Algunos productos desinfectantes a base de extractos de semillas de toronja, de cítricos y de derivados cuaternarios de amonio, según su etiqueta, tienen efectos fungicidas, aunque faltan pruebas de efectividad biológica para ver si ellos, tienen un efecto sobre *R. solani* (Apodaca-Sánchez, comunicación personal).

V. MATERIALES Y MÉTODOS

5.1. Muestreo para obtención de inóculo

Se realizó un muestreo durante el mes de marzo de 2016, en la Estación Agrícola Experimental de la empresa semillera Harris-Moran Mexicana, ubicada en el Ejido Morelos, El Fuerte, Sinaloa. Se colectaron 20 plantas con lesiones necróticas hundidas, de color verde claro en la base del tallo y en la raíz principal. Las muestras colectadas se depositaron en bolsas de plástico, se etiquetaron y se guardaron en una hielera. Luego se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología de la Facultad de Agricultura del Valle del Fuerte, en donde se almacenaron en refrigeración a 8 °C para procesarlas al siguiente día.

5.2. Preparación del medio de cultivo PDA

Para aislar el patógeno se utilizó el medio papa-dextrosa-agar (PDA) + ampicilina (200 ppm) (Figura 1); este último compuesto, para prevenir el desarrollo de bacterias contaminantes.

Para elaborar el medio de cultivo, se agregaron 39 g de PDA deshidratado (Bioxon) en un vaso de precipitado con 1,000 mL de agua destilada. El medio se calentó y una vez disuelto se distribuyó en dos matraces Erlenmeyer, depositando 500 mL en cada uno de ellos. Cada matraz se tapó con algodón y sobre este se cubrió con papel aluminio. El medio se esterilizó a 121 °C y 15 libras de presión (psi) durante 20 min.

Una vez concluido el periodo de esterilización, el medio de cultivo se sacó de la autoclave (Novatech, EPR-01), se dejó enfriar y cuando tenía aproximadamente 45 °C se vació en placas Petri de plástico desechable estéril, bajo condiciones asépticas, en la campana de flujo laminar (Novatech). El antibiótico (ampicilina) se incorporó en el medio inmediatamente antes de vaciar en las cajas.



Fig. 1. Medio de cultivo papa dextrosa agar (PDA) recién esterilizado y listo para vaciarse en cajas Petri.

5.3. Aislamiento del hongo

El material procedente del campo se lavó con agua corriente para desprender el suelo y los tejidos más dañados. Cada una de las 20 plantas se cortó en 10 pequeños trozos (2.0-3.0 mm), tanto de tallo como de raíz, en el avance de la lesión. Los segmentos del tejido enfermo, de cada muestra por separado, se depositaron en crisol de porcelana y se sumergieron en hipoclorito de sodio al 2% durante 45 segundos. Después, se eliminó el exceso de cloro con lavados de agua destilada estéril y se secaron en papel absorbente esterilizado. Una vez que se eliminó el exceso de humedad, los ocho trozos de cada muestra se sembraron en medio de cultivo PDA+ampicilina (Fig. 2).

Cuando se obtuvieron cultivos puros en placa Petri, a partir de una colonia representativa de cada una de las plantas analizadas, con la ayuda de un sacabocados se tomó una rodaja de 0.7 mm de PDA-hongo y se transfirió con PDA “inclinado” y se almacenaron a 6 °C. Se obtuvieron un total de cinco aislados purificados (A1-A5) de las 20 plantas procesadas. La colección establecida se mantuvo en refrigeración (6 °C) hasta su utilización en estudios posteriores.



Fig. 2. Trozos de tallo y raíz de tomatillo con síntomas de pudrición sembrados en cajas Petri con medio PDA para llevar a cabo el aislamiento de hongos.

5.5. Pruebas de patogenicidad

Para determinar la patogenicidad de *Rhizoctonia solani* se utilizó un aislado (A1=RS1) del hongo, escogido al azar de los cinco disponibles. Con este fin, a partir de uno de los tubos se tomó una pequeña porción de micelio del hongo, el cual se depositó sobre una placa de Petri con PDA+ampicilina; se incubó a temperatura ambiente, durante cinco días.

En vasos de unicel con capacidad de medio litro, se colocó una mezcla de arena y peat moss esterilizada a una proporción de 50-50% v/v, humedecida a capacidad de campo. En cada uno de cinco vasos, sobre el sustrato se colocaron cuatro discos de PDA-hongo y sobre éstos se depositó una semilla de tomatillo de la variedad “Gran Esmeralda[®]” (Harris-Moran Mexicana). Como testigo se sembraron semillas sobre discos con PDA sin hongo. Hubo cinco repeticiones, cada una representada por un vaso sembrado.

A partir de los tres días después de la siembra (dds) se realizó un conteo de semillas que no germinaron a causa del patógeno (damping-off pre-emergente); luego se registró el número de plántulas con síntomas de damping-off post

emergente y plántulas sanas, para determinar de esta manera la severidad de la enfermedad.

5.6. Reaislamiento del hongo

Al finalizar el ensayo de patogenicidad, en dos días posteriores se procedió a re aislar al hongo asociado a secadera. Con este fin a partir de plántulas que reprodujeron los síntomas iniciales de la enfermedad, se cortaron trozos de tejido, mismos que se procesaron en PDA, como se indicó previamente. Las cepas obtenidas se purificaron y preservaron como se indicó anteriormente (Fig. 3).

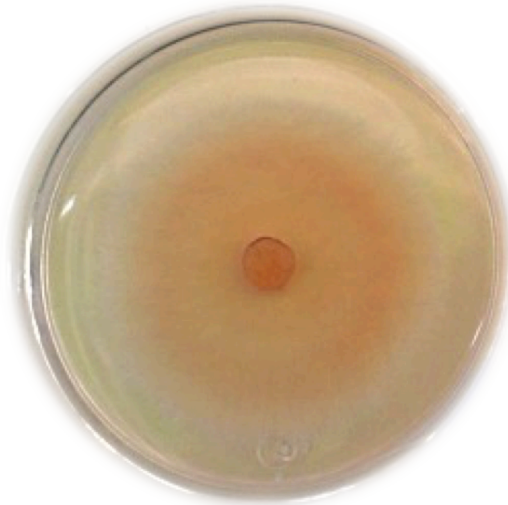


Fig. 3. Colonia de *R. solani* desarrollada sobre una placa de papa dextrosa agar, a las 96 hr de incubación, en condiciones naturales de luz oscuridad en laboratorio.

5.7. Identificación del patógeno

5.7.1. Estudio morfológico

Una vez que se comprobó la patogenicidad de uno de los aislados (A3) de *R. solani*, se procedió a identificarlo, junto a los cuatro restantes, cuya virulencia no fue determinada. Los aislados se caracterizaron morfométricamente, para lo cual estos se reactivaron sembrándolos en medio PDA. El material se incubó por siete

días a una temperatura de 26-28 °C. Posteriormente se tomó micelio crecido en PDA de una cepa, se raspó el mismo con una aguja de disección y éste fue transferido a un portaobjetos con una gota de agua destilada, se colocó el portaobjetos y se observó en el microscopio óptico (Leica DM 500) a 100 y 400 X.

5.7.2. Estudio molecular

5.7.2.1. Obtención de micelio

Se obtuvo micelio en medio líquido papa-dextrosa (PD). Una infusión de papa se preparó hirviendo 200 g de tubérculo con cáscara, en un litro de agua hasta su cocimiento. El caldo de papa se vació en un matraz y se aforó a 1.0 L. Luego se agregaron en el caldo 20 g de dextrosa, agitándose en un plato caliente hasta la disolución completa del azúcar.

En cada uno de 10 tubos de cultivo de vidrio se colocaron 10 mL del medio líquido PD. Luego se esterilizó el medio en la autoclave (Novatech, EPR-01) a una temperatura de 121 °C y 15 libras de presión durante 20 min. Una vez que el medio esterilizado se enfrió, en cada tubo se sembró un pequeño fragmento de micelio, bajo condiciones de asepsia en una campana de flujo laminar. El micelio se tomó de colonias del hongo de cinco días de crecimiento en cajas con PDA.

Los tubos (Fig. 4) se incubaron a 28 °C y en agitación constante a 10,000 rpm, por siete días en un agitador orbital (Lab net, 211DS). Este micelio fue utilizado de manera inmediata para la obtención del DNA.

5.7.2.2 Extracción de DNA a partir del micelio

Para la extracción de DNA se utilizó el método de CTAB en caliente (Zhang *et al.*, 1998). Se tomaron de 1.0 a 2.0 g de micelio crecido en medio líquido (PD), el cual se colocó en un tubo Eppendorf de 1.6 mL, al que se le agregaron 200 µL de Buffer CTAB al 3% (Tris-HCl 100 mM, pH 8.0, EDTA 20 mM, NaCl 1.4 M, 3% de CTAB y 0.2% de β-mercaptoetanol precalentado a 60 °C). El material se maceró con ayuda de un homogenizador con pistilo, y posteriormente sonificado por 5 min. Enseguida se le adicionaron 600 µL de buffer CTAB y se incubó a 60 °C por 30

min y con agitación por inversión cada 5 min. Se le agregaron 600 μL de cloroformo: isoamílico 24:1 y se agitó por inversión durante 20 segundos. Se centrifugó 10 min a 13,000 rpm y se recuperó el sobrenadante con ayuda de micropipeta. Luego se precipitó con un volumen de 200 μL de isopropanol frío al 100%. Se centrifugó 5 min a 13,000 rpm y se eliminó el sobrenadante por decantación. Se lavó la pastilla con un mL de etanol al 100% y se centrifugó por 3 min a 13,000 rpm. Se eliminó el sobrenadante, tomando la fase superior con ayuda de micropipeta, se dejó secar la pastilla a temperatura ambiente (25-27 $^{\circ}\text{C}$) y se resuspendió en un volumen de 30 a 50 μL de agua ultra pura. El DNA se almacenó a -20 $^{\circ}\text{C}$ hasta su utilización.

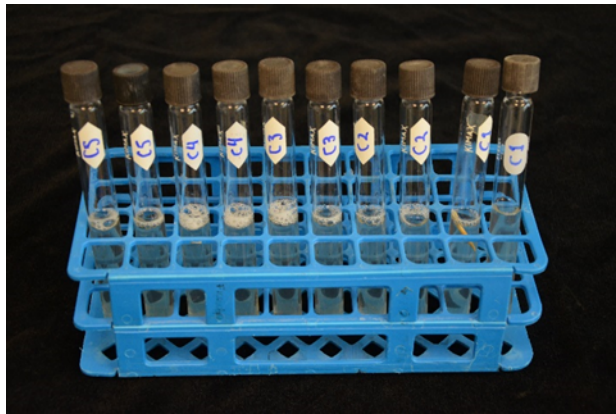


Fig. 4. Tubos de cultivo con medio líquido que contienen micelio de los aislados purificados de *Rhizoctonia*, después de dos días de incubación en agitación constante a 10,000 rpm durante siete días.

Para observar la integridad del DNA se mezclaron 2 μL de DNA y 2 μL de colorante naranja G (0.025% de naranja G, 25 mM de EDTA, pH 8.0 y 30% de glicerol). Se realizó una electroforesis en un gel de agarosa al 1% teñido con bromuro de etidio a una concentración de 2 $\mu\text{L}/\text{mL}$. El proceso se corrió a 80 V durante 30 min en una cámara de electroforesis con el buffer TAE 1X. Por último, se visualizó el DNA en un fotodocumentador (GelDoc, Biorad).

5.7.2.3. PCR

La reacción en cadena de la polimerasa (PCR) se realizó en tubos Eppendorf de 200 μ L utilizando un volumen final de 25 μ L conteniendo: 1X de buffer (2.5 μ L), 2 mM de MgCl₂ (1.0 μ L), 0.2 mM de nucleótidos trifosfatados (dNTP's) (0.5 μ L), 0.3 mM de cada primer (Rs1F2/Rs2R1) (0.75 μ L/0.75 μ L) en el caso de AG₃ y 0.2 mM (RsAG4F1/RsAG4R2) (0.75 μ L/0.75 μ L) en el caso de AG₄, 1 unidad de Taq DNA polimerasa (0.2 μ L) (Invitrogen Cat. 190338-018), H₂O ultrapura (14.3 μ L) y 5 μ L de DNA molde por cada muestra. Se utilizó un termo ciclador automático (Applied Biosystems Veriti 96 Well), utilizando distintas condiciones de acuerdo al grupo de anastomosis a detectar: un ciclo a 95 °C por 2 min, 35 ciclos de 45 s a 95 °C, 1 min a 63 °C y 90 s a 72 °C y un ciclo final de 5 min a 72 °C para AG₃. Mientras que para AG₄ las condiciones fueron un ciclo a 95 °C por 3 min, 39 ciclos de 30 s a 95 °C, 30 s a 68 °C y 40 s a 72 °C y un ciclo final de 5 min a 75 °C.

5.7.2.4. Verificación del producto de PCR

Para analizar el resultado de PCR se mezclaron 8 μ L de producto de PCR con 2 μ L de colorante naranja G (0.025% de naranja G, 25 mM de EDTA, pH 8.0 y 30% de glicerol). Se electroforesis en gel de agarosa 1.0% teñido con bromuro de etidio a una concentración de 2 μ L/mL. El proceso se corrió a 80 V durante 30 min en una cámara de electroforesis con el buffer TAE 1X (Fig. 5).

5.7.2.5. Fotodocumentacion

Para observar las bandas en el gel de agarosa, éste se visualizó en un fotodocumentador (GelDoc, Biorad).

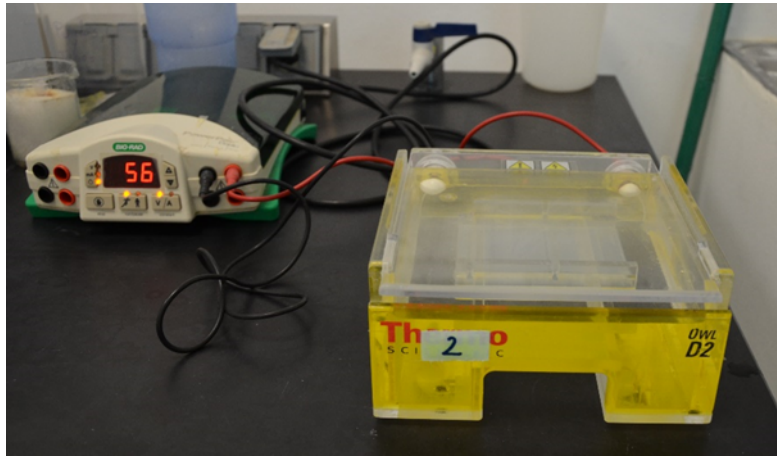


Fig. 5. Verificación de la calidad e integridad del DNA mediante la técnica de electroforesis en una cámara con buffer TAE 1X.

5.8. Bioensayo *in vitro* con productos biorracionales contra *R. solani*

5.8.1. Medio de cultivo

La preparación del medio de cultivo se realizó en matraces con capacidad de 250 mL, a cada uno de los cuales se les agregó 100 mL de agua y 3.9 g de PDA (Bioxon®). Estos se taparon con algodón y se depositaron en autoclave (Novatech, EPR-01) para su esterilización a una temperatura de 121 °C y 15 lb de presión durante 20 min.

5.8.2. Tratamientos

El bioensayo *in vitro* consistió en probar tres dosificaciones de diez sustancias, en su mayoría biorracionales, para el control de *Rhizoctonia solani* Kühn (Cuadro 2).

Cuadro 2. Relación de los productos biorracionales utilizados en el bioensayo *In vitro* para el control del *R. solani*.

Ingrediente activo (I.A)	Dosis I.A	Producto Comercial
Ácido salicílico	100% ácido salicílico	Ácido salicílico ^a
<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> sp.+ <i>Paecilomyces</i> sp.+ <i>Beauveria</i> sp.	30% de <i>Bacillus</i> sp. (1×10^8 ufc/mL) 30% de <i>Trichoderma</i> sp. (1×10^3 ufc/mL) 15% de <i>Paecilomyces</i> sp. (1×10^3 ufc/mL) 2% de <i>Beauveria</i> sp. (1×10^3 ufc/mL)	Best Ultra S ^b
<i>Bacillus subtilis</i>	15.67% p/p (5.13×10^{10} ufc/g)	Serenade max ^c
Derivados de sales amónicas	12.8% alquil dimetil bencil cloruro de amonio 9.6% Octil delcil dimetil cloruro de amonio	Tope ^d
Extracto de plantas silvestres+ácidos grasos de origen animal y vegetal	10% Fosfito de potasio 4% Aminoácidos 3% ác. grasos butíricos 2% Poly D glucosamina 1.5% Cis jasmone 1% Ácido nicotínico	Full-Kover ^e
Extracto de semillas de cítricos	40% extracto de semillas de cítricos	Bio-C ^f
Extracto de semillas de toronja	100% semillas de toronja	Citripower ^g
Extractos de gobernadora+pino+ácido cítrico	36% gobernadora 368.6 g/L 10% pino 102.39 g/L	Fubagro ^h
Extractos de higuera+pino+orégano	30% Higuera(303.42 g de I.A/L) 20% Pino (252.85 g de I.A./L) 5% Orégano (50.57 g de I.A/L)	Nem Over ⁱ
Fertilizante foliar (macro y micronutrientes)	2.52% Materia orgánica 1.62% N, 1.21% P, 355.625 mg/L K, 6517.5 Mg/L Fe; Ca, Mg, S.	FBO ^j

^a Chemical corporation JK, ^b Greencorp, ^c Bayer, ^d Renacer, ^e Icapsa, ^g Matedic, ^h Ecoprotecto, ⁱ Agroegloff.

5.8.3. Establecimiento del bioensayo

Cada producto a su respectiva concentración (cuadro 3), se agregó por separado en matraces con PDA recién esterilizado, una vez que éste disminuyó su temperatura aproximadamente hasta 45 °C. Para homogenizar el producto, el matraz se agitó manualmente y la mezcla de inmediato se vació en caja Petri estéril.

En el centro de cada una de las placas tratadas y en el testigo (PDA), se colocó un disco de PDA-hongo (0.9 cm), obtenido de colonias de *R. solani* que crecieron en PDA durante cinco días, previos al establecimiento del bioensayo. Las cajas sembradas se colocaron en bolsas de polietileno (cada tratamiento por separado) y se incubaron por 21 días al ambiente de laboratorio (24-28 °C).

Cuadro 3. Relación de los tratamientos utilizados en el bioensayo *In vitro* para el control del *R. solani*.

I.A.	Dosis probadas			Nombre comercial
	Baja	Media	Alta	
Ácido salicílico	100 ppm	250 ppm	500 ppm	Ácido salicílico ^a
<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> sp.+ <i>Paecilomyces</i> sp.(P)+ <i>Beauveria</i> sp. (BE)	<i>Bacillus</i> sp. (75 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (75 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (37.5 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (5 ppm)	<i>Bacillus</i> sp. (150 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (150 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (75 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (10 ppm)	<i>Bacillus</i> sp. (300 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (300 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (150 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (20 ppm)	Best ultra S ^b
<i>Bacillus subtilis</i>	15.67 ppm	39.175 ppm	78.35 ppm	Serenade max ^c
Derivados amónicos	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (32 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (24 ppm)	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (64 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (48 ppm)	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (128 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (96 ppm)	Tope ^d
Extracto de cítricos	100 ppm	200 ppm	400 ppm	Bio-C ^f
Extracto de plantas silvestres+ácidos grasos de origen animal y vegetal	Fosfito de potasio (25 ppm) + Aminoácidos (10 ppm) + ác. grasos butíricos (7.5 ppm) + Poly D glucosamina (5 ppm) + Cis jasmone (3.75 ppm) +	Fosfito de potasio (50 ppm) + Aminoácidos (20 ppm) + ác. grasos butíricos (15 ppm) + Poly D glucosamina (10 ppm) + Cis jasmone (7.5 ppm) +	Fosfito de potasio (100 ppm) + Aminoácidos (40 ppm) + ác. grasos butíricos (30 ppm) + Poly D glucosamina (20 ppm) + Cis jasmone (15 ppm) + Ácido	Full Kover ^e

	Ácido nicotínico (2.5 ppm)	Ácido nicotínico (5 ppm)	nicotínico (10 ppm)	
Extracto de semillas de toronja	250 ppm	500 ppm	1000 ppm	Citripower ^g
Extractos de gobernadora +pino	Extracto de gobernadora (90 ppm) + pino (25 ppm)	Extracto de gobernadora (180 ppm) + pino (50 ppm)	Extracto de gobernadora (360 ppm) + pino (100 ppm)	Fubagro ^h
Extractos de higuera+pino +orégano	Extracto de higuera (75 ppm) + pino (50 ppm) + orégano (12.5 ppm)	Extracto de higuera (150 ppm) + pino (100 ppm) + orégano (25 ppm)	Extracto de higuera (300 ppm) + pino (200 ppm) + orégano (50 ppm)	Nem over ⁱ
Fertilizante foliar (macro y micronutrientes)	Materia orgánica (6.3 ppm) + Nitrógeno (4.05 ppm) + Fósforo (3.025 ppm) + micronutrientes	Materia orgánica (12.6 ppm) + Nitrógeno (8.10 ppm) + Fósforo (6.05 ppm) + micronutrientes	Materia orgánica (25.2 ppm) + Nitrógeno (16.20 ppm) + Fósforo (12.10 ppm) + micronutrientes	FBO ^j

^a Chemical corporation JK, ^b Greencorp, ^c Bayer, ^d Renacer, ^e Icapsa, ^g Matedic, ^h Ecoprotecto, ⁱ Agroegloff.

5.8.4. Diseño experimental y análisis de datos

Los tratamientos se establecieron bajo un diseño completamente al azar, con siete repeticiones (cajas) y un testigo (PDA). Se midió cada 24 h el diámetro de la colonia durante 1-7 días; posteriormente se corrió una evaluación a los 14 y 21 después de la siembra (dds).

Los datos del aumento del diámetro de la colonia correspondientes a cada lectura, por separado, fueron analizados mediante el software estadístico InfoStat (Di Rienzo, 2016). En principio se sometieron a pruebas de normalidad (método Shapiro-Wills) y homogeneidad de varianzas, para determinar el tipo de procedimiento más adecuado de análisis: paramétrico o no paramétrico. Debido al incumplimiento de los supuestos para la realización de estudios paramétricos, se utilizó el método de Kruskal-Wallis.

VI. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

6.1. Muestreo para la obtención de inóculo

De las 20 plantas colectadas durante los recorridos de campo, todas presentaron flacidez de la parte aérea y hojas color verde pálido a amarillo (Fig. 6a), pudrición de raíz (Fig. 6b) y sistema vascular (Fig. 6c), lo cual corresponde a la sintomatología descrita para la marchitez del tomatillo (Apodaca-Sánchez *et al.*, 2008; Armenta-López *et al.*, 2016; Ayala-Armenta *et al.*, 2016; Ayala-Valenzuela *et al.*, 2016).

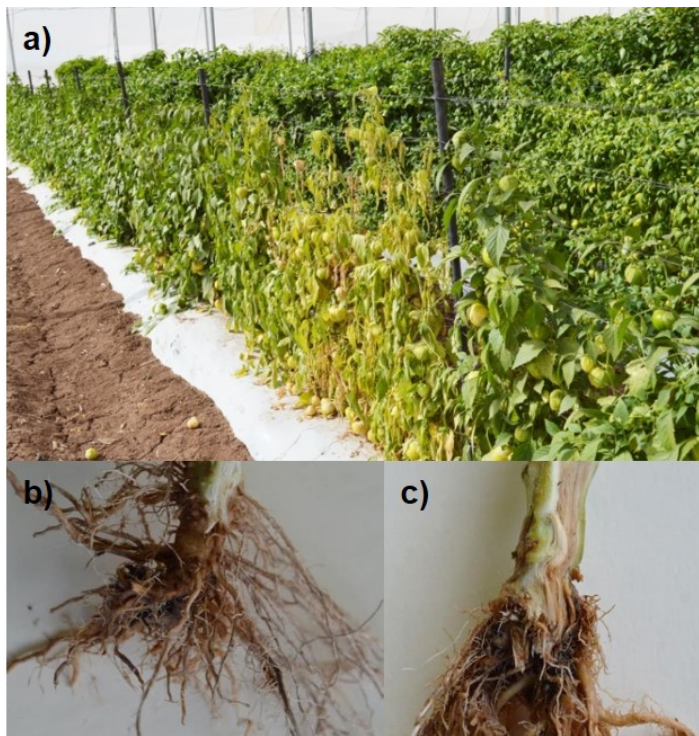


Fig. 6. Plantas de tomatillo con síntomas de marchitez: a) palidez y flacidez generalizada en plantas; b) pudrición de la raíz; c) corte longitudinal de una planta infectada, en donde se observa pudrición del sistema vascular.

6.2. Pruebas de patogenicidad

Una vez que se llevaron a cabo las pruebas de patogenicidad con uno de los aislados de *Rhizoctonia*, se inspeccionaron las charolas a partir de los cuatro días posteriores a la inoculación del patógeno. Se observó que en el testigo (sin inocular con *Rhizoctonia*) germinaron el 100% de las semillas y las plántulas mostraron un aspecto sano, el cual se mantuvo hasta los siete días transcurridos, periodo en el cual finalizó la evaluación. En contraste, en las macetas inoculadas con del hongo se obtuvo solamente 50% de semillas germinadas y plántulas emergidas. En las plántulas emergidas, el 83% mostró síntomas de ahogamiento post emergente (Cuadro 4).

6.3. Reaislamiento del hongo

A partir de las plántulas que mostraron síntoma de ahogamiento obtenidas en las pruebas de patogenicidad se reaisló al patógeno en cajas Petri con PDA+ampicilina. El hongo se purificó tomando puntas de hifa de una colonia, mismas que se depositaron en cajas Petri con el mismo medio. Posteriormente el hongo se preservó en tubos con PDA, como ya se indicó.

Cuadro 4. Porcentaje de plántulas emergidas, sanas y con síntomas, resultantes de las pruebas de patogenicidad con un aislado de *Rhizoctonia solani* inoculado en semillas de tomatillo.

Tratamiento	Plántulas emergidas (%)	Plántulas con aspecto sano (%)	Plántulas con ahogamiento post emergente (%)
Testigo	100	100	0
<i>Rhizoctonia</i>	50	17	83

En el testigo se sembraron 12 semillas, mientras que con *Rhizoctonia* se inocularon 24 semillas.

6.4. Identificación del patógeno

6.4.1. Estudio morfológico

A partir de las plantas con marchitez, se obtuvieron colonias fúngicas color marrón. Bajo el microscopio de luz se observaron hifas marrón oscuro, con ramificación cerca del septo central; estrangulamiento de la hifa y formación de septos a una corta distancia del punto donde se originan las ramas hifales; ausencia de fíbulas en células contiguas y nula producción de conidios, lo que corresponde con lo descrito por Ogoshi (1987) y Sneh *et al.* (1991) para *Rhizoctonia solani* (Figura 7).

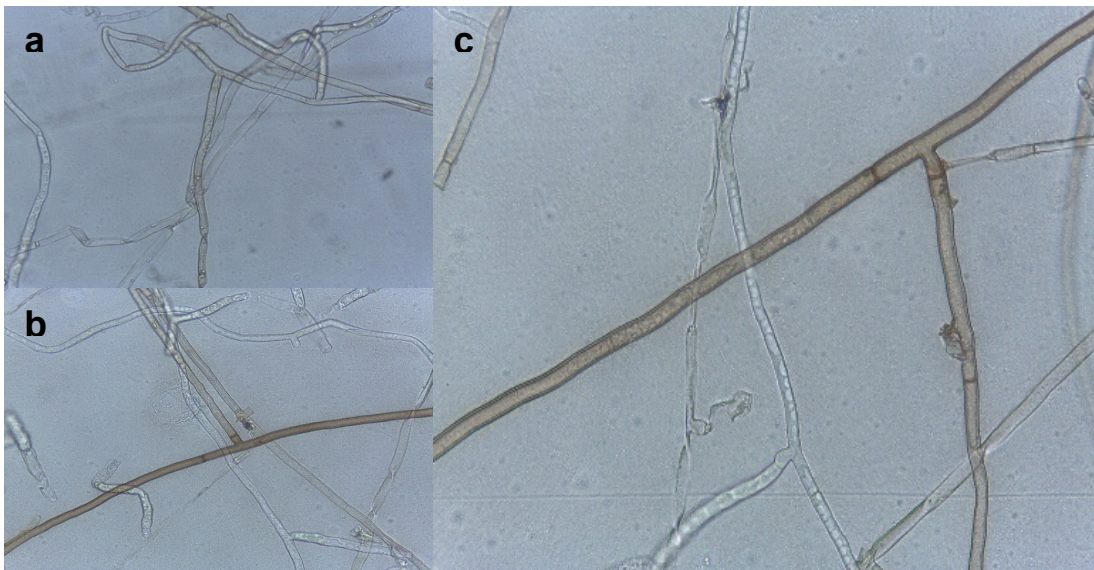


Fig. 7. Micro fotografías de *Rhizoctonia. solani*, en donde se puede observar: a) micelio inmaduro del patógeno (10 X); b) micelio maduro (40X); c) observación de hifas y septos (40X).

6.4.2. Estudio molecular

6.4.2.1. Extracción del Ácido Desoxirribonucleico (DNA)

Con la técnica de extracción de DNA indicada anteriormente, se obtuvieron concentraciones aceptables de DNA, con un promedio de 50 ng/ μ L y con un rango de pureza deseado cercano a 1.85, en cuanto a la relación 260/280 (Nanodrop, 2017), misma que representa el rango de absorbancia que se utiliza para medir la presencia de proteínas, fenoles y otros contaminantes presentes durante la extracción de DNA. Las muestras fueron analizadas en el espectrofotómetro (Nanodrop 2000) obteniéndose así las siguientes concentraciones (Cuadro 5).

Cuadro 5. Relación del contenido de ácido nucleico contenido en cada una de las cepas a identificar.

Aislados de <i>Rhizoctonia</i>	Contenido de DNA (ng/uL)	Relación 260/280
1	52.6	1.97
2	77.1	2.01
3	53.1	2.05
4	70.8	1.98
5	69.1	2.00

6.4.2 PCR y fotodocumentación

La calidad e integridad del DNA total, extraído a partir del micelio del hongo, crecido en papa-dextrosa (PD), fue buena, verificándose su presencia por electroforesis en gel de agarosa 1.0% (Fig. 8).

Para la detección del grupo AG3 (el más común e importante en papa) se utilizaron los primers Rs1F2 y Rs2R1, con los cuales se obtuvo la amplificación del control positivo (Fig. 9), pero no ocurrió lo mismo con los aislados en estudio, con lo que podemos inferir que estos no pertenecen al grupo de anastomosis en mención.

En un intento de detectar del grupo de anastomosis cuatro (AG₄) se utilizaron los primers RsAG4F1 y RsAG4F2 diseñados por Fernández-López (2011), con los cuales no se obtuvo la amplificación esperada de 200 pb, tanto como en el control positivo como en ninguno de los aislados (Fig. 10), lo que pudiera deberse a un posible problema de los primers, ya que la concentración de los mismos era sumamente baja. El proceso fue repetido en tres ocasiones, sin resultados favorables.

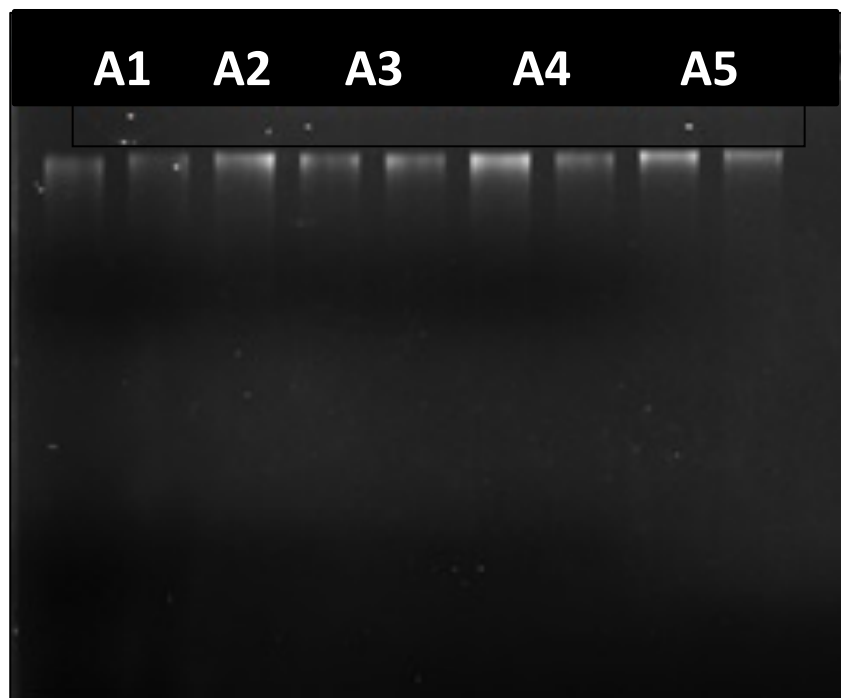


Fig. 8. Verificación de la integridad del DNA total extraído de micelio de *R. solani*, obtenido mediante la reproducción del mismo en papa-dextrosa (PD), por electroforesis en gel de agarosa al 1.0%. Se observan las bandas que constituyen al DNA de cinco aislados (A). Carriles 1 y 2 (Aislado 1=A1), 3 (Aislado 2=A2), 4 y 5 (Aislado 3=A3), 6 y 7 (Aislado 4=A4), 8 y 9 (Aislado 5=A5).

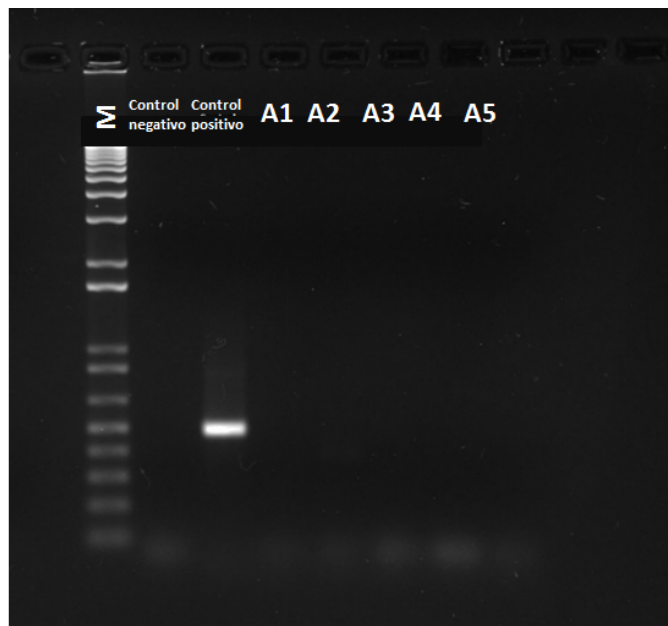


Fig. 9. Detección molecular del grupo de anastomosis tres (AG₃) de *R. solani*, por electroforesis en gel de agarosa 1.0%. En el carril 1 (M) se encuentra el marcador de peso molecular 1 kb, en el segundo el control negativo, y en el tercero, el control positivo. En los carriles 4-7 se presentan los resultados con los aislados A1-A5, de los cuales no hubo amplificación alguna.

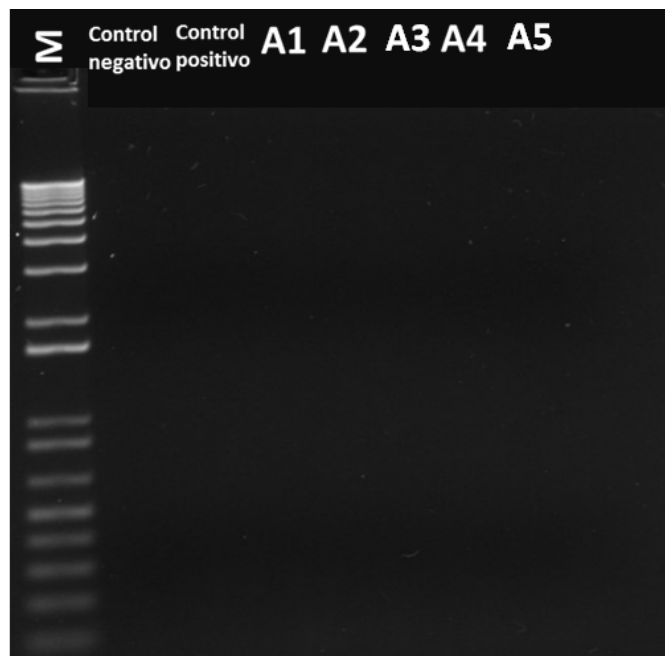


Fig. 10. Búsqueda del grupo de anastomosis cuatro (AG₄) de *R. solani*, por electroforesis en gel de agarosa 1.0%. Carril 1 (M) marcador de peso molecular 1 kb; 2 control negativo; 3 control positivo en donde se esperaba una amplificación de 200 pb, la cual no sucedió; en los carriles 4-8, donde se ubicaron los aislados A1-A5 tampoco hubo amplificación del fragmento esperado.

6.5. Bioensayo en medio de cultivo

R. solani es controlado generalmente mediante la aplicación de algunos fungicidas como benomil, captan, thiram, zineb (Ellis *et al.*, 1975), aunque cabe señalar que estos impactan de manera negativa en el ambiente (García-Gutiérrez y Rodríguez-Meza, 2012) y en la salud humana (Greenpeace, 2015). Debido a lo anterior se ha optado por buscar métodos alternativos a la utilización de productos químico-sintéticos, tales como el uso de productos biorracionales para el control de enfermedades de las plantas.

En el bioensayo llevado a cabo para el control de *R. solani* con productos biorracionales, a los 7 (Cuadro 6), 14 (Cuadro 7) y 21 días (Cuadro 8) dds del hongo, se registró el crecimiento de la colonia, y mediante la prueba de Kruskal Wallis ($p = 0.05$) se determinaron los mejores tratamientos.

Los mejores tratamientos para el control de *Rhizoctonia solani in vitro* fueron la dosis baja, media y alta de extracto de semilla de toronja, de gobernadora+pino (Figura 11) y pino+orégano+higuerilla (250, 500 y 1000 ppm). También el extracto de cítricos (Figura 12) (1000 ppm) y ácido salicílico (Figura 13) (250 y 500 ppm), registraron un menor diámetro de colonia en comparación con el testigo, que iba desde una supresión total a un escaso incremento en el diámetro del hongo.

Cuadro 6. Efecto de fungicidas biorracionales, incorporados en medio de cultivo papa-dextrosa-agar, sobre el crecimiento micelial de *R. solani in vitro* a los 7 días de incubación.

Ingrediente activo	Dosis (ppm, i.a.)	Diámetro de la colonia (cm)
Ácido salicílico	100 ppm	7.60 g
Ácido salicílico	250 ppm	0.00 a
Ácido salicílico	500 ppm	0.00 a
<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> sp.+ <i>Paecilomyces</i> sp,+ <i>Beauveria</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. (75 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (75 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (37.5 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (5 ppm)	7.55 fg
<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> sp.+ <i>Paecilomyces</i> sp,+ <i>Beauveria</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. (150 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (150 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (75 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (10 ppm)	7.58 g
<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> sp.+ <i>Paecilomyces</i> sp,+ <i>Beauveria</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. (300 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (300 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (150 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (20 ppm)	7.60 g

<i>Bacillus subtilis</i>	15.67 ppm	6.57 defg
<i>Bacillus subtilis</i>	39.175 ppm	6.80 defg
<i>Bacillus subtilis</i>	78.35 ppm	3.63 cdef
Derivados amónicos	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (32 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (24 ppm)	1.35 abcd
Derivados amónicos	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (64 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (48 ppm)	0.88 abcd
Derivados amónicos	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (128 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (96 ppm)	0.07 ab
Extracto de cítricos	100 ppm	7.48 efg
Extracto de cítricos	200 ppm	4.83 cdefg
Extracto de cítricos	400 ppm	2.02 cdef
Extracto de plantas silvestres-ác. grasos de origen animal y vegetal	Fosfito de potasio (25 ppm) + Aminoácidos (10 ppm) + ác. grasos butíricos (7.5 ppm) + Poly D glucosamina (5 ppm) + Cis jasmone (3.75 ppm) + Ácido nicotínico (2.5 ppm)	7.60 g
Extracto de plantas silvestres-ác. grasos de origen animal y vegetal	Fosfito de potasio (50 ppm) + Aminoácidos (20 ppm) + ác. grasos butíricos (15 ppm) + Poly D glucosamina (10 ppm) + Cis jasmone (7.5 ppm) + Ácido nicotínico (5 ppm)	7.60 g
Extracto de plantas silvestres-ác. grasos de origen animal y vegetal	Fosfito de potasio (100 ppm) + Aminoácidos (40 ppm) + ác. grasos butíricos (30 ppm) + Poly D glucosamina (20 ppm) + Cis jasmone (15 ppm) + Ácido nicotínico (10 ppm)	7.55 fg
Extracto de semillas de toronja	250 ppm	0.58 abc
Extracto de semillas de toronja	500 ppm	1.75 bcde
Extracto de semillas de toronja	1000 ppm	0.00 a
Extracto gobernadora+Pino	Extracto de gobernadora (90 ppm) + pino (25 ppm)	0.75 abc
Extracto gobernadora+Pino	Extracto de gobernadora (180 ppm) + pino (50 ppm)	0.03 ab
Extracto gobernadora+Pino	Extracto de gobernadora (360 ppm) + pino (100 ppm)	0.00 a
Extracto Pino+Orégano+Higuerilla	Extracto de higuerilla (75 ppm) + pino (50 ppm) + orégano (12.5 ppm)	1.23 abcd
Extracto Pino+Orégano+Higuerilla	Extracto de higuerilla (150 ppm) + pino (100 ppm) + orégano (25 ppm)	1.18 abcd
Extracto Pino+Orégano+Higuerilla	Extracto de higuerilla (300 ppm) + pino (200 ppm) + orégano (50 ppm)	0.90 abcd
Fertilizante foliar (Macro y micronutrientes)	Materia orgánica (6.3 ppm) + Nitrógeno (4.05 ppm) + Fósforo (3.025 ppm) + micronutrientes	7.60 g
Fertilizante foliar (Macro y micronutrientes)	Materia orgánica (12.6 ppm) + Nitrógeno (8.10 ppm) + Fósforo (6.05 ppm) + micronutrientes	7.60 g
Fertilizante foliar (Macro y micronutrientes)	Materia orgánica (25.2 ppm) + Nitrógeno (16.20 ppm) + Fósforo (12.10 ppm) + micronutrientes	7.60 g
Testigo		7.60 g

Los resultados del presente trabajo coinciden con los de Vargas-Aispuro *et al.* (1997) y Hernández-Castillo *et al.* (2008), ya que demostraron la actividad antifúngica del extracto de gobernadora (2000 y 4000 ppm) sobre *R. solani*. Cabe señalar que no se detectaron trabajos utilizando productos a base de gobernadora+pino. Por su parte, Hernández-Juárez (2015) señala que el extracto de cítricos (1500 ppm) es un producto potente para el control del mismo hongo.

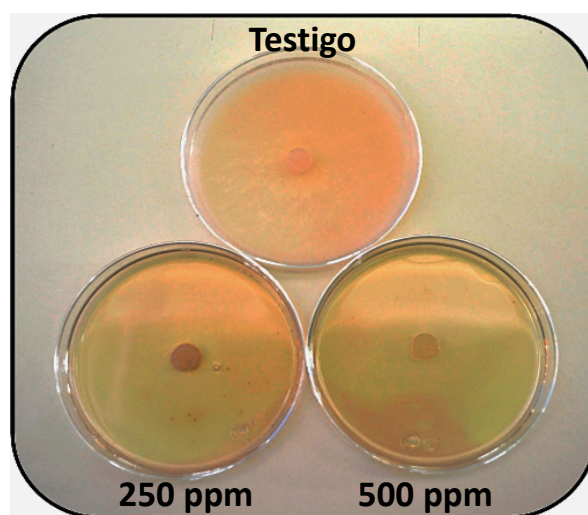


Fig. 11. Evaluación *In vitro* de la efectividad del extracto de gobernadora+pino (250 y 500 ppm) incorporado en medio de cultivo (PDA) contra *Rhizoctonia solani*.

Además, ya se ha demostrado que los productos utilizados en el presente trabajo son eficaces para el control de otras especies de hongos fitopatógenos en condiciones *In vitro*. Así, por ejemplo, Ayala-Armenta (2014) mencionó que el ácido salicílico (500 y 1,000 ppm) y el extracto de semillas de toronja (1,000 y 1,500 ppm) suprimieron 100% el crecimiento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum* bajo condiciones de laboratorio. A su vez, Peñuelas-Rubio *et al.* (2015) reportaron la inhibición total o parcial del crecimiento de hongos de postcosecha como *Alternaria tenuissima* (Nees) Wiltshire, *Aspergillus niger* (L.) Van Tieghem y

Rhizopus oryzae Went & Prinsen Geerl., mediante la aplicación del extracto de gobernadora (2,000 ppm). En otro trabajo, Cueto-Wong (2010) sugirió que el extracto de orégano tiene un efecto inhibitorio sobre *Fusarium oxysporum* Schl.

Los tratamientos con efectividad intermedia incluyeron a los derivados amónicos (250 ppm), *Bacillus subtilis* (100, 250 y 500 ppm) y extracto de cítricos (250 y 500 ppm) (Fig. 12).

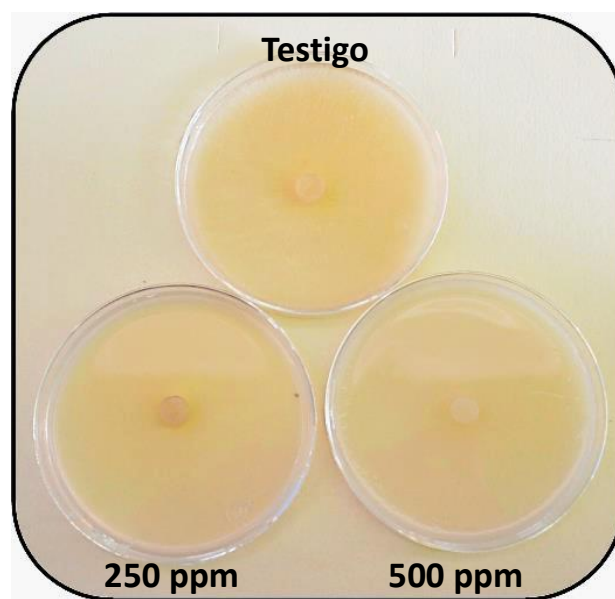


Fig. 12. Evaluación *In vitro* de la efectividad del extracto de cítricos (250 y 500 ppm) incorporado en medio de cultivo (PDA) contra *Rhizoctonia solani*.

Los tratamientos menos efectivos fueron la dosis baja de ácido salicílico (100 ppm) y derivados amónicos (250 ppm). Además las tres dosis (250, 500 y 1000 ppm) de fertilizante foliar, extracto de plantas silvestres-ácidos grasos de origen animal y vegetal y *Bacillus* sp.+ *Trichoderma* sp.+ *Paecylomyces* sp.+ *Beauveria* sp., los cuales tuvieron un nulo control sobre el hongo, pues el diámetro de la colonia fue similar ($p= 0.05$) al testigo.

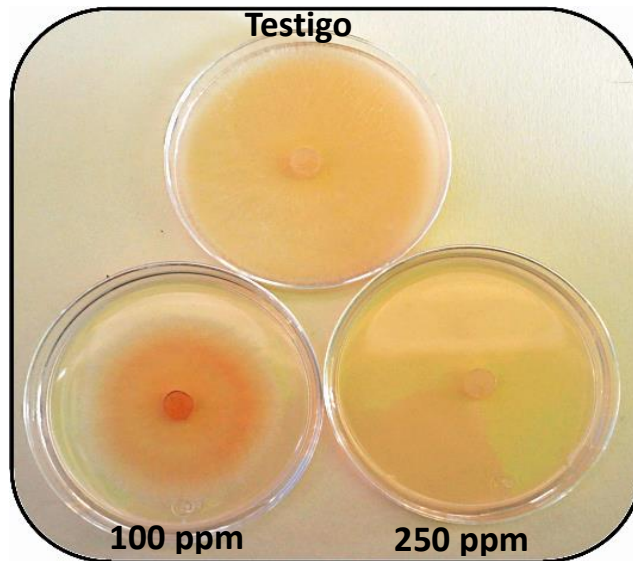


Fig. 13. Evaluación *In vitro* de la efectividad biológica del ácido salicílico (100 y 250 ppm) incorporado en medio de cultivo (PDA) contra *Rhizoctonia solani*.

Cuadro 7. Efecto de fungicidas biorracionales, incorporados en medio de cultivo papa-dextrosa-agar, sobre el crecimiento micelial de *R. solani* *in vitro* a los 14 días de incubación.

Ingrediente activo	Dosis (ppm, i.a.)	Diámetro de la colonia (cm)
Ácido salicílico	100 ppm	7.60 e
Ácido salicílico	250 ppm	0.03 a
Ácido salicílico	500 ppm	0.00 a
<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> sp.+ <i>Paecilomyces</i> sp,+ <i>Beauveria</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. (75 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (75 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (37.5 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (5 ppm)	7.60 e
<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> sp.+ <i>Paecilomyces</i> sp,+ <i>Beauveria</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. (150 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (150 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (75 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (10 ppm)	7.60 e
<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> sp.+ <i>Paecilomyces</i> sp,+ <i>Beauveria</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. (300 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (300 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (150 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (20 ppm)	7.60 e
<i>Bacillus subtilis</i>	15.67 ppm	7.60 e
<i>Bacillus subtilis</i>	39.175 ppm	7.32 de
<i>Bacillus subtilis</i>	78.35 ppm	4.78 cde
Derivados amónicos	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (32 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (24 ppm)	1.72 abcd
Derivados amónicos	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (64 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (48 ppm)	1.33 abcd
Derivados amónicos	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (128 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (96 ppm)	0.08 ab
Extracto de cítricos	100 ppm	7.50 e
Extracto de cítricos	200 ppm	5.70 cde
Extracto de cítricos	400 ppm	2.87 cde

Extracto de plantas silvestres-ác. grasos de origen animal y vegetal	Fosfito de potasio (25 ppm) + Aminoácidos (10 ppm) + ác. grasos butíricos (7.5 ppm) + Poly D glucosamina (5 ppm) + Cis jasmone (3.75 ppm) + Ácido nicotínico (2.5 ppm)	7.60 e
Extracto de plantas silvestres-ác. grasos de origen animal y vegetal	Fosfito de potasio (50 ppm) + Aminoácidos (20 ppm) + ác. grasos butíricos (15 ppm) + Poly D glucosamina (10 ppm) + Cis jasmone (7.5 ppm) + Ácido nicotínico (5 ppm)	7.60 e
Extracto de plantas silvestres-ác. grasos de origen animal y vegetal	Fosfito de potasio (100 ppm) + Aminoácidos (40 ppm) + ác. grasos butíricos (30 ppm) + Poly D glucosamina (20 ppm) + Cis jasmone (15 ppm) + Ácido nicotínico (10 ppm)	7.6 e
Extracto de semillas de toronja	250 ppm	1.40 abcd
Extracto de semillas de toronja	500 ppm	2.32 bcd
Extracto de semillas de toronja	1000 ppm	0.00 a
Extracto gobernadora+Pino	Extracto de gobernadora (90 ppm) + pino (25 ppm)	0.83 abc
Extracto gobernadora+Pino	Extracto de gobernadora (180 ppm) + pino (50 ppm)	0.03 a
Extracto gobernadora+Pino	Extracto de gobernadora (360 ppm) + pino (100 ppm)	0.00 a
Extracto Pino+Orégano+Higuerilla	Extracto de higuerilla (75 ppm) + pino (50 ppm) + orégano (12.5 ppm)	1.70 abcd
Extracto Pino+Orégano+Higuerilla	Extracto de higuerilla (150 ppm) + pino (100 ppm) + orégano (25 ppm)	1.40 abcd
Extracto Pino+Orégano+Higuerilla	Extracto de higuerilla (300 ppm) + pino (200 ppm) + orégano (50 ppm)	0.81 abc
Fertilizante foliar (Macro y micronutrientes)	Materia orgánica (6.3 ppm) + Nitrógeno (4.05 ppm) + Fósforo (3.025 ppm) + micronutrientes	7.60 e
Fertilizante foliar (Macro y micronutrientes)	Materia orgánica (12.6 ppm) + Nitrógeno (8.10 ppm) + Fósforo (6.05 ppm) + micronutrientes	7.60 e
Fertilizante foliar (Macro y micronutrientes)	Materia orgánica (25.2 ppm) + Nitrógeno (16.20 ppm) + Fósforo (12.10 ppm) + micronutrientes	7.60 e
Testigo		7.60 e

Cuadro 8. Efecto de fungicidas biorracionales, incorporados en medio de cultivo papa-dextrosa-agar, sobre el crecimiento micelial de *R. solani* in vitro a los 21 días de incubación.

Ingrediente activo	Dosis (ppm, i.a.)	Diámetro de la colonia (cm)
Ácido salicílico	100 ppm	7.60 e
Ácido salicílico	250 ppm	0.03 a
Ácido salicílico	500 ppm	0.00 a
<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> sp.+ <i>Paecilomyces</i> sp,+ <i>Beauveria</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. (75 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (75 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (37.5 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (5 ppm)	7.60 e
<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> sp.+ <i>Paecilomyces</i> sp,+ <i>Beauveria</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. (150 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (150 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (75 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (10 ppm)	7.60 e
<i>Bacillus</i> sp.+ <i>Trichoderma</i> sp.+ <i>Paecilomyces</i> sp,+ <i>Beauveria</i> sp.	<i>Bacillus</i> sp. (300 ppm) + <i>Trichoderma</i> sp. (300 ppm) + <i>Paecilomyces</i> sp. (150 ppm) + <i>Beauveria</i> sp. (20 ppm)	7.60 e
<i>Bacillus subtilis</i>	15.67 ppm	7.60 e
<i>Bacillus subtilis</i>	39.175 ppm	7.60 e
<i>Bacillus subtilis</i>	78.35 ppm	4.98 cde
Derivados amónicos	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (32 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (24 ppm)	2.35 abc
Derivados amónicos	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (64 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (48 ppm)	1.33 abc
Derivados amónicos	alquil dimetil bencil cloruro de amonio (128 ppm) + Octil delcil dimetil cloruro de amonio (96 ppm)	0.1 a
Extracto de cítricos	100 ppm	7.60 e
Extracto de cítricos	200 ppm	6.83 cde
Extracto de cítricos	400 ppm	3.65 cde
Extracto de plantas silvestres-ác. grasos de origen animal y vegetal	Fosfito de potasio (25 ppm) + Aminoácidos (10 ppm) + ác. grasos butíricos (7.5 ppm) + Poly D glucosamina (5 ppm) + Cis jasmone (3.75 ppm) + Ácido nicotínico (2.5 ppm)	7.60 e
Extracto de plantas silvestres-ác. grasos de origen animal y vegetal	Fosfito de potasio (50 ppm) + Aminoácidos (20 ppm) + ác. grasos butíricos (15 ppm) + Poly D glucosamina (10 ppm) + Cis jasmone (7.5 ppm) + Ácido nicotínico (5 ppm)	7.60 e
Extracto de plantas silvestres-ác. grasos de origen animal y vegetal	Fosfito de potasio (100 ppm) + Aminoácidos (40 ppm) + ác. grasos butíricos (30 ppm) + Poly D glucosamina (20 ppm) + Cis jasmone (15 ppm) + Ácido nicotínico (10 ppm)	7.60 e
Extracto de semillas de toronja	250 ppm	1.42 abc
Extracto de semillas de toronja	500 ppm	3.12 bcd

Extracto de semillas de toronja	1000 ppm	0.00 a
Extracto gobernadora+Pino	Extracto de gobernadora (90 ppm) + pino (25 ppm)	0.93 abc
Extracto gobernadora+Pino	Extracto de gobernadora (180 ppm) + pino (50 ppm)	0.13 ab
Extracto gobernadora+Pino	Extracto de gobernadora (360 ppm) + pino (100 ppm)	0.00 a
Extracto Pino+Orégano+Higuerilla	Extracto de higuerilla (75 ppm) + pino (50 ppm) + orégano (12.5 ppm)	2.32 abc
Extracto Pino+Orégano+Higuerilla	Extracto de higuerilla (150 ppm) + pino (100 ppm) + orégano (25 ppm)	1.50 abc
Extracto Pino+Orégano+Higuerilla	Extracto de higuerilla (300 ppm) + pino (200 ppm) + orégano (50 ppm)	1.25 abc
Fertilizante foliar (Macro y micronutrientes)	Materia orgánica (6.3 ppm) + Nitrógeno (4.05 ppm) + Fósforo (3.025 ppm) + micronutrientes	7.60 e
Fertilizante foliar (Macro y micronutrientes)	Materia orgánica (12.6 ppm) + Nitrógeno (8.10 ppm) + Fósforo (6.05 ppm) + micronutrientes	7.60 e
Fertilizante foliar (Macro y micronutrientes)	Materia orgánica (25.2 ppm) + Nitrógeno (16.20 ppm) + Fósforo (12.10 ppm) + micronutrientes	7.60 e
Testigo		7.60 e

VII. CONCLUSIONES

1. El aislado Rs1, con el cual se realizaron los bioensayos, resultó ser patogénico y su severidad en plántulas de tomatillo cv. Gran Esmeralda fue de 91.5%.
2. Se confirmó la identidad de *Rhizoctonia solani* como agente causal de la marchitez del tomatillo mediante estudios morfológicos.
3. El extracto de gobernadora (360 ppm)+pino (100 ppm), el extracto de semilla de toronja (1,000 ppm) y el ácido salicílico (250, 500 ppm), suprimieron totalmente el crecimiento del hongo *in vitro*.

BIBLIOGRAFÍA

- Agrios, N. G. 2005. Fitopatología. Editorial Limusa. México. 838 p.
- Aguilar, L. G. y Aguilar, V. A. 2000. Cambios físicos y químicos en frutos de siete variedades de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en postcosecha. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 83 p.
- Aguilar, Z. R. y Méndez, J. 2004. Descripción varietal de tomate de cáscara. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 104 p.7
- Alcántara-Jiménez, J. A. 2010. Relación del ácaro *Polyphagotarsonemus latus* (Banks) y papaya ringspot virus (Jensen) en la reducción foliar de *Carica papaya* cv. Maradol. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de postgraduados. Montecillo, México. 61 pp.
- Alexopoulos, C., Mims, y C., Blackwell, M. 1996. Introductory Mycology. New York. Ed. John Wiley and Sons. USA. 638 pp.
- Alfaro-Sánchez, M. G. 1998. Caracterización agronómica de 40 variedades de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa*, Brot.), en el Sur de Nayarit. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Bermejillo, Durango, México. 52 pp.
- Alvarado, N, J. 1995. Estimación de varianza aditiva y heredabilidad en tomate (*Physalis ixocarpa* Brot.), material SB 1200-93, derivado del cultivar "Rendidora". Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 77 pp.

- Apodaca-Sánchez, M. A., Barreras-Soto, M. A., Cortez-Mondaca, E. y Quintero-Benítez, J. A. 2008. Enfermedades del tomate de cáscara en Sinaloa. INIFAP-CIRNO. Campo Experimental Valle del Fuerte. Folleto Técnico No. 31. Los Mochis, Sinaloa, México. 33 pp.
- Armenta-López. A. R. 2016. Control In vitro de *Rhizoctonia solani* con fungicidas biorracionales. Revista Mexicana de Fitopatología 34:10-11.
- Arroyo, P. J. 1999. Fertilización en el cultivo de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) con base en el análisis de suelos. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 76 pp.
- Ayala-Armenta, Q. A. 2014. Efectividad de fungicidas para el control de moho blanco *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary en frijol (*Phaseolus vulgaris* L.). Tesis de Maestro en Ciencias. Universidad Autónoma de Sinaloa. Culiacán, Sinaloa. 72 pp.
- Ayala-Armenta, Q. A. 2016. Hongos del suelo causantes de la marchitez del tomatillo en Sinaloa. Revista Mexicana de Fitopatología 34:5.
- Ayala, P., J. P., Peña L., A. y Mulato B., J. 1992. Caracterización de germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en Chapingo, México. Revista Chapingo 79-80:128-137.
- Ayala-Valenzuela, E. A. 2016. Fungicidas biorracionales controlan a *Fusarium oxysporum* In vitro. Revista Mexicana de Fitopatología 34: 82-83.
- Barnett, H., and Hunter, B. 1982. Illustrated genera of imperfect fungi. Third edition. Burgess publishing. Mineapolis, Minesota. USA. 241 pp.
- Bautista, M. N. 1992. Principales especies nocivas del Orden Lepidoptera. En: Anaya, R. S., Bautista, M. N., y Rodríguez, D. B. Manejo fitosanitario de las hortalizas en México. Centro de Entomología y Acarología del Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 83 pp.

- Bautista M., N. y Morales G. 2000. Insectos defoliadores y barrenadores de mayor importancia en hortalizas. En: Temas selectos en Fitosanidad y Producción de Hortalizas. Bautista M., N., A. D. Suarez V. y O. Morales G. (eds.). Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados. Chapingo, México. 1-2 p.
- Bautista M., N., L. M. Hernández F. y Llanderal C. 2003. Insectos de importancia agrícola poco conocidos en México. Publicación especial número 1. Instituto de Fitosanidad. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 33 p.
- Benson, L. 1957. Plant classification. Heath and Co. Boston, D. C. 688 p.
- Bravo, W. 2005. El invento de la papa cancerígena. (En línea) Consultado el 21 de marzo de 2016. Disponible en: <http://72.14.253.104/search?q=cache:EwV94SvFAtsJ:telemundoforos.kcl.net/fo+rumlab/showthread.php%3Ft%3D431844+PCNB%2Bpapa&hl=es&ct=clnk&cd=1 &gl=gt>
- Brinker, F. 1993. *Larrea triidentata* (D.C) chaparral or cresote bush. British Journal of Phytoterapy 3:10-30.
- Canet, P. W., y Álvarez, T. M. D. 2006. Quality and safety of frozen vegetables, pp. 377-410. In: Handbook of Frozen Food Processing and Packaging. Sun, W. D. (ed.) Taylor y Francis Group LLC. Florida. USA.
- CONABIO.2009.<http://www.conabio.gob.mx/malezasdemexico/solanaceae/physalis-philadelphica/fichas/ficha.htm>. Fecha de consulta: 27 febrero 2017.
- Castillo, J. D. 2002. Identificación de *Meloidogyne* spp. en plantas de uchuva (*Physalis peruviana* L.) en el municipio de Silvania. Facultad de Agronomía, Universidad Nacional de Colombia. Bogotá. 62 pp.

- Castro, B. R., P. Sánchez, A. Galvis S., Peña L. y M. Sandoval, V. 2001. Demanda de Nitrógeno en Tomate de Cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Horticultura Mexicana 8:18-26.
- Ceresini, P. 1999. *Rhizoctonia* spp. pathogen profile. Soilborne plant pathogens offered on spring. *R. solani* on page. <http://www.cals.ncsu.edu/course/pp720/Rhizoctonia/Rhizoctonia>
- Copeland, O. L. 1976. Principles of seed science and technology. Burgess Publishing Company. Minnesota, U.S.A. 343 p.
- Cruz, G. R. A. 1991. Producción y manejo post-madurez de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) Tesis de maestría. Centro de Genética. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 155 pp.
- Cruz-Álvarez, O., Martínez-Damián, Ma. T., Rodríguez-Pérez, J. E., Colinas-León, Ma. T., y Moreno-Pérez, E. 2012. Conservación poscosecha de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot. Ex Horm.) con o sin cáliz. Revista Chapingo Serie Horticultura 18:333-344.
- Cueto-Wong, M. C. 2010. Determinación del efecto inhibitorio del aceite esencial y diferentes extractos de orégano (*Lippia berlandieri* Schauer) sobre el crecimiento de *Fusarium oxysporum* tanto *in vitro* como en plántula de tomate. Tesis de Doctor en Ciencias. Universidad Autónoma de Nuevo León. Nuevo León, México. 88 pp.
- De la Torre, A. R. 1996. Caracterización biológica y molecular de un complejo viral en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en los Valles Altos de México. Tesis de Doctor en Ciencias. Instituto de Fitosanidad del Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 93 p.
- De la Torre, A. R., Téliz, O. D., Garzón, A. J., Peña, R., Valverde A. R. y Rivera, B. R. 1995. Physalis interveinal yellowing and Physalis calico: two geminiviruses isolated from tomatillo *Physalis ixocarpa* in the Central High Plateau of Mexico. Phytopathology 85: 509.

- De la Torre, A. R., Valverde., J., Méndez, J., Ascencio, R., Rivera, B. 2002. Caracterización preliminar de geminivirus en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en la región centro de México. *Agrociencia* 36: 471-481.
- Di Rienzo, J.A., Casanoves, F., Balzarini, M.G., Gonzalez, L., Tablada, M., Robledo, C.W. 2016. InfoStat versión 2016. Grupo InfoStat, FCA. Universidad Nacional de Córdoba, Argentina. URL <http://www.infostat.com.ar>
- Do Nascimento, M. N. C. 2008. Color atlas of postharvest: quality of fruits and vegetables. Blackwell Publishing. Singapore City, Singapore. 448 p.
- El Camporadio.com. 2016. Link: http://elcamporadio.com/index.php?option=com_content&view=article&id=851:el-cultivo-de-tomatillo-manejo-agronomico&catid=38:noticias&Itemid=54 Consultado en marzo de 2016.
- Ellis, M. A., Gálvez, G.E., Sinclair, J. B. 1975. Movement of seeds treatment fungicides into bean *Phaseolus vulgaris* L. seed and their effect on seed-borne fungi and germination. *Proceedings of the American Phytopathological Society* 2:74.
- FAO. 2002. Los fertilizantes y su uso: una guía de bolsillo para los oficiales de extensión. 4ta edición. París, Francia. 80 p.
- FAO, 2016. Link: <http://www.fao.org/docrep/x5056s/x5056s03.htm> Consultado en marzo de 2016.
- Fauquet, C. M., M. A.Mayo., J. Maniloff., U Desselberrger, and L. A. Ball. 2005. Virus taxonomy. Eight Report International Committee on Taxonomy of Viruses. Virology Division International Union of Microbiological Societies. Elsevier Academic Press, San Diego, United States of America. 1162 p.

- Fischer, G., Ebert, G., and Ludders, P. 2000. Provitamin a carotenoids organic acids and ascorbic acid (*Physalis peruviana* L.). *Acta Horticulturae* 531: 263-267.
- García, J. 2008. Evaluación de tres métodos de aplicación del fungicida flutolanil 50 WP para el control de rhizoctonias (*Rhizoctonia solani*: Deuteromycetes) en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum*: Solanaceae) en Patzun, Chimaltenango. Tesis profesional. Universidad Rafael Landívar. Guatemala, Guatemala. 43 p.
- García-Gutiérrez, C. y Rodríguez-Meza, G. D. 2012. Problemática y riesgo ambiental por el uso de plaguicidas en Sinaloa. *Ra Ximhai*. 3: 1-10.
- Garzón, T. J. y Garay, A. R. 1977. Los cultivos de tomate de cáscara y calabacita en el Estado de Hidalgo. SARH. INIA. CIAMEC. Hidalgo, México. 8 p.
- Greenpeace. 2005. Los plaguicidas y nuestra salud: una preocupación creciente. http://www.greenpeace.org/espana/Global/espana/2015/Report/agricultura/Plaguicidas_Y%20_Nuestra_Salud_ResumenCastellano.pdf. Consultado en enero de 2017
- Güemes, G. M. J. 1999. Producción de semilla de tomate de cáscara Variedad Rendidora en el Estado de Morelos. In: 500 Tecnologías Llave en Mano. División Agrícola Tomo II. SAGARH. INIFAP. Morelos, México. 103 pp.
- Gillaspie, A. G., M. R. Hajimorad, and S. A. Ghabrial. 1998. Characterization of a severe strain of Cucumber mosaic cucumovirus Seedborne in Cowpea. *Plant Dis.* 82:419-422.
- Gómez, C. M. A., Schwentesius, R. R. y Merino, S. A. 1991 El consumo de hortalizas en México. CUESTAAM. Universidad Autónoma de Chapingo. Reporte de Investigación # 7. Chapingo, Edo. de México. 37p.
- González, S. y Carrasco, J. 2006. Protocolo de Montreal, pasos para eliminar el bromuro de metilo en Chile. *Tierra Adentro* 68:46-49.
- Hernández, M. J., Hernández, T. 1995. Tratamientos para romper latencia en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) Material Tamazula. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 15-20p.

- Hernández-Juárez, R. G. 2015. Extractos vegetales para el control del hongo *Rhizoctonia solani* Kuhn *in vitro*. Tesis profesional. Universidad Autónoma Agraria Antonio Narro. Coahuila, México. 47 pp.
- Hoyos-Carvajal, L., Chaparro, P., Abramsky, M., Chet, L., Orduz, S., 2008. Evaluación de aislamientos de *Trichoderma* spp. contra *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* bajo condiciones *In vitro* y de invernadero. *Agronomía Colombiana* 26:451-458.
- Hull, R. 2002. *Matthew's Plant Virology*. Academic Press. London, UK. 1001 p.
- INIFAP, 2001. Guía para cultivar tomate de cascara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en el estado de Morelos. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Experimental Zacatepec, Morelos. México. 19 pp.
- INIFAP, 2004. El amarillamiento en el cultivo de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) y medidas y para su manejo. Instituto de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias. Centro de Investigación Regional del Centro. Campo Agrícola experimental Zacatepec. Morelos, México. 23 pp.
- Jiménez, G., Domínguez, R. y Peña, L.A. 1992. Plagas insectiles del tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en Chapingo, México. *Revista Chapingo* 77:75-79.
- Jiménez-Santana, E. V., Robledo-Torres. A., Benavides-Mendoza, F. Ramírez-Godina, H. Ramírez-Rodríguez y E. de la Cruz-Lázaro. 2012. Calidad de fruto de genotipos tetraploides de tomate de cascara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Universidad y Ciencia* 28:153-161.
- INTAGRI, 2017. <https://www.intagri.com/articulos/fitosanidad/Significado-real-control-biorracional-plagas#sthash.O3k9D1lz.dpbs>. Consultado en febrero de 2017.
- Jorn N., S. 1999. Nitrogen effect on vegetable crop production and chemical composition. *Acta Hort.* 506: 41-48.
- Kader, A. A. 2009. La calidad del sabor de frutas y hortalizas. *Hortic. Internacional* 69:6-7.

- Karakurt, Y. 2007 Fruit Cell Wall polysaccharides and their modification during ripening. *Journal of the American Society Horticultural Science*. 122: 594-598.
- Ledezma, H., A. 1994. Micro propagación en tomate de cascara (*Physalis ixocarpa*). Tesis de Licenciatura. Depto. de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 55 pp.
- Marín, S., J. 2010. Producción de semilla de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) libre de virus mediante el manejo de insectos vectores. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, México. 81 pp.
- Martínez, S. J., Peña, A., Montalvo, H. 2004. Producción y tecnología de semilla de tomate de cáscara. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. México. 36 p.
- Menzel, Y. M. 1951. The cytology and genetics of *Physalis*. *Proc. Am. Philos. Soc.* 95: 132-183.
- Montes, H. S. y Aguirre, R. J. R. 1992. Tomate de cascara (*Physalis philadelphica* Lam.). En: J. E. Hernández B. y J. León (eds.). *Cultivos marginados: Otra perspectiva de 1492*. FAO-ONU. Roma. 115-120 p.
- Moreno-Torres, E. 1996. Evaluación de fertilizantes orgánicos en tomate de cascara (*Physalis ixocarpa* Brot.) variedad CHF1- Chapingo. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo. México. 86 p.
- Nanodrop. 2017. <http://www.nanodrop.com/Library/T042-NanoDrop-Spectrophotometers-Nucleic-Acid-Purity-Ratios.pdf> Consultado en enero de 2017.
- Ochoa, D. 2004. Determinación de los niveles de sensibilidad en aislamientos colombianos de *Phytophthora infestans* hacia tres fungicidas comúnmente utilizados en su control. Tesis profesional. Pontificia Universidad Javeriana. Bogotá, Colombia. 60 p.

- Ogoshi, A. 1987. Ecology and pathogenicity of anastomosis and intraspecific groups of *Rhizoctonia solani* Kühn. Annual Review Phytopathology 25: 125-143.
- Pacheco, M. F. 1985. Plagas de los cultivos agrícolas en Sonora y Baja California. SARH-INIA-CIANO. Cd. Obregón, Son. México. 414 pp.
- Parmeter, J. R. 1970. *Rhizoctonia solani*: biology and pathology. University of California Press. Berkeley, CA, USA. 3 pp.
- Peña, L. A., Molina-Galán, J.D., Cervantes-Santana, T., Márquez-Sánchez, F., Sahagún-Castellanos, Ortíz-Cereceres, J. 2001. Heterosis invernal en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Revista Chapingo. 4:31-39.
- Peña, L., A. 1994. Hibridación en Tomate de Cáscara. (*Physalis ixocarpa* Brot.). In: Memoria de la XL Reunión Anual de la Sociedad Interamericana para la Horticultura Tropical. Tuxtla Gutiérrez, Chis., México. 67p.
- Peña, L. A. 2001. Situación actual y perspectivas de la producción y mejoramiento genético de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en México. Primer Simposio Nacional Técnicas Modernas de Producción de Tomate, Papa y otras solanáceas. Universidad Agraria Antonio Narro. Saltillo, Coahuila. 10 p.
- Peña L., A. y Santiaguillo, H. 1999. Variabilidad genética de tomate de cáscara en México. Boletín Técnico # 2. Departamento de Fitotecnia. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México 26 p.
- Peña, L. A, Santiaguillo H. 1999. Variabilidad genética de tomate de cáscara en México. Boletín técnico No. 3. Universidad Autónoma de Chapingo. Chapingo, México. 16 pp.
- Peña L., A., Mulato B., Ayala, P. y Montalvo, H. 1992. Caracterización de germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). En: Memoria

- del XIV Congreso Nacional de Fitogenética. Tuxtla Gutiérrez, Chis., México. 511 p.
- Peña, L. A., Márquez, S. F. y Pérez, G. M. 1990. Mejoramiento genético de hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 380 pp.
- Peña, L. A., Molina-Galán, J.D., Cervantes-Santana, T., Márquez-Sánchez, F., Sahagún-Castellanos y Ortiz-Cereceres, J. 2001. Heterosis invernal en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Revista Chapingo. 4:31-39.
- Peñuelas-Rubio, O., Arellano-Gil, M., Vargas-Aispuro, I. C., Lares-Villa, F., Cantú-Soto, E. U., Hernández-Rodríguez, S. E., Gutiérrez-Coronado, M. A. y Mungaro-Ibarra, C. 2015. Bioactividad *In vitro* de extractos de gobernadora sobre la inhibición de hongos poscosecha: *Alternaria tenuissima*, *Aspergillus niger*, *Penicillium polonicum* y *Rhizopus oryzae*. Revista Polibotánica. 40:183-198.
- Pérez G., M., F. Márquez, S., Peña, L. 1997. Mejoramiento genético de hortalizas. Universidad Autónoma Chapingo, México. 380 p.
- Pérez-Moreno, L., Duran-Ortiz, L. J., Ramírez-Malacón, R., Sánchez-Pale, J. R. y Olalde-Portugal, V. 2004. Sensibilidad *in vitro* de aislados del hongo *Phytophthora capsici* a fungicidas. Memorias Primera Convención Mundial del Chile. León, Guanajuato, México. 144-150 p.
- Piña A., J., Ponce, G. 1990. Etiología y control del carbón del tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) en Luvianos y Villa Guerrero, México. Revista Chapingo, 67/68:22-25.
- Fundación Produce. 2005. Memoria: Jornada de Tecnología de Producción de Tomatillo. Fundación Produce, Sinaloa. Culiacán, Sinaloa, México. 72 p.
- Ramírez, S., Nakagome, T., and Nishino, H. 2001. El amarillamiento en el cultivo de tomate de cáscara. Centro de Investigación Regional del Centro-INIFAP-SAGARPA. Campo Experimental "Zacatepec". Morelos, México. 13p.

- Ristaino, J., Thomas, W. 1997. Agriculture, methyl bromide and the ozone hole can we fill the gaps? *Plant Disease* 81: 964-977.
- Romero, B. V. 2000. Fertilización y fechas de trasplante en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Tesis de Maestro en Ciencias. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 80 p.
- Rosales, M. 2003. Evaluación de preparados granulados en el control de *Rhizoctonia solani* en el cultivo de papa (*Solanum tuberosum* L.) variedad Atlantic en la aldea Xecoil Santa Apolonia, Chimaltenango. Tesis de Ingeniero Agrónomo. Universidad de San Carlos de Guatemala. Guatemala. 49 p.
- SAGARPA, 2017. <http://www.sagarpa.gob.mx/Delegaciones/distritofederal/Documents/AgriculturaF/TOMATE%20DE%20CASCARA.pdf>. Consultado en febrero de 2017.
- Santander, C. 2001. Control biológico de *Rhizoctonia solani* (Kühn) en *Lycopersicon esculentum* Mill. Mediante *Bacillus lentimorbus* y *Trichoderma* spp. Memoria de Título Ingeniero Agrónomo. Santiago, Universidad de Chile, Facultad de Ciencias Agronómicas. 88 p.
- Santiaguillo H., López, M.R. 1992. Colecta, conservación y evaluación de germoplasma de tomate de cascara (*Physalis* spp.), en México. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 107 pp.
- Santiaguillo H., J., López M., Peña, L., Cuevas, S. y J. Sahagún C. 1994. Distribución, colecta y conservación de germoplasma de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). *Revista Chapingo Serie Horticultura*, 2:125-129.
- Santiaguillo, H. J. F., Cervantes, S. T., Peña, L. A., Molina, G. J., Sahagún, C. J. 1996. Heterosis en híbridos intervarietales en tomate de cascara (*Physalis ixocarpa* Brot.). XIX Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitogenética. Saltillo, Coahuila, México. 115p.

- Santiaguillo-Hernández, J. F., Cervantes-Santana, T., Peña-Lomelí, A. 2004. Selección para rendimiento y calidad de fruta de cruza planta x planta entre variedades de tomate de cáscara. *Rev. Fitotec. Mex.* 27: 84-91.
- Saray, M., C. R., 1982. Importancia de la precosecha (calentamiento) en el rendimiento del tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.). Tesis de Maestría. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, México. 95 p.
- Saray, M. C. R., Loya, R. J. 1977. El cultivo de tomate en el estado de Morelos. INIA-CIAMEC. Circular Núm. 57. Chapingo, México. Pp. 9-23.
- SENASICA. 2015. Protocolo de diagnóstico integrativo: *Meloidogyne enterolobii* Yang & Eisenback, 1983. Dirección de Sanidad Vegetal. SENASICA. México. 23 p.
- Servicio de Información Agroalimentaria Y Pesquera (SIAP), 2015. <http://www.siap.gob.mx/>. Consultado en septiembre del 2015.
- Sneh, B., Burpee, L., Ogoshi, A. 1991. Identification of *Rhizoctonia* species. APS press. Minnesota, USA. 133 pp.
- Stevens Johnk, J., Jones, R. K. 1993. Differentiation of populations of AG-2-2 of *Rhizoctonia solani* by analysis of cellular fatty acids. *Phytopathology* 83: 278-283.
- Shewfelt, L. R. 2003. Color, pp. 1-10. In: Postharvest Physiology and Pathology of Vegetables. Bartz, J. A.; Brentch, J. K. (eds.). Marcel Dekker, Inc. New York, USA.
- Tamayo, P. E. 1998. Determinación del intervalo óptimo de cosecha en tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) tipo milpero. Tesis Profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, México. 53 p.
- Thompson, K. A. 2003. Fruit and vegetables: harvesting, handling and storage. Blackwell Publishing, Ltd. New York, USA. 482 p.

- Torres-Panduro, V. 1998. Componentes de calidad en cuarenta materiales de tomate de cáscara (*Physalis ixocarpa* Brot.) Tesis Profesional. Universidad de Guadalajara. Zapopan, Jalisco, México. 71 pp.
- Tun, S. J. M. 2006. Transmisión por semilla y respuesta del chile habanero (*Capsicum chinense* Jacq.) al Alfalfa mosaic virus. Tesis de Doctor en Ciencias. Colegio de Postgraduados, Montecillo, México. 62 p.
- Ulacio, U., Salas, J., Querales, P., Sanabria, M. E. 2002 Micobiota del suelo de zonas productoras de papa del Estado Mérida y su relación con *Rhizoctonia solani*. Mérida, Venezuela. Bioagro 14:11-16.
- Valtierra P., Ramos, S. A. 2003. Programa estratégico de necesidades de investigación y transferencia de tecnología de la cadena productiva de tomate verde en el estado de Puebla. Fundación Produce Puebla y Gobierno del Estado de Puebla. Puebla, México. 237 pp.
- Vargas-Aispuro, I. C., Araujo-Bernal, S. y Martínez-Téllez, M. A. 1997. Efecto de extractos de plantas sobre el crecimiento y producción de aflatoxinas de *Aspergillus flavus* y *Aspergillus parasiticus*. Revista Mexicana de Fitopatología. 15:91-96.
- Verdejo, R. 1987. Caracterización de la variedad de tomate de cáscara "Rendidora" (*Physalis ixocarpa* Brot.) para su mejoramiento genético en Chapingo, México. Tesis Profesional. Universidad Veracruzana. Xalapa, Veracruz, México. 102 pp.
- Zadjali, A. D., Matrooshi, A. R., Moghal, S. M. 2002. Occurrence, distribution and properties of Alfalfa mosaic virus. Agric. Sci. 71: 47-51.

