



Artículo Científico

Fusarium solani asociado a *Cedrela odorata* y *Swietenia macrophylla* y su sensibilidad a fungicidas convencionales

Lorenza Caamal-Eb, Jairo Cristóbal-Alejo*, José María Tun-Suárez, Arturo Reyes-Ramírez, Tecnológico Nacional de México/Instituto Tecnológico de Conkal, Av. Tecnológico s/n. Conkal, Yucatán; **Alberto Uc-Vázquez**, Centro de Investigación y Asistencia en Tecnología y Diseño del Estado de Jalisco A.C. Tablaje Catastral 31264 Km 5.5 Carretera Sierra Papacal-Chuburna Puerto Parque Científico Tecnológico de Yucatán CP: 97302 Mérida, Yucatán; **Silvia Edith García-Díaz**, Universidad Autónoma Chapingo, División de Ciencias Forestales. Km 38.5 carretera México-Texcoco. C.P. 56230. Texcoco, Estado de México.

*Autor de correspondencia:

Jairo Cristóbal-Alejo
jairoca54@hotmail.com

Sección:
Edición periódica

Recibido:
01 Mayo, 2024

Aceptado:
01 Julio, 2024

Publicado:
12 Julio, 2024

Cita:
Caamal-Eb L, Cristóbal-Alejo J, Tun-Suárez JM, Reyes-Ramírez A, et al. 2024. *Fusarium solani* asociado a *Cedrela odorata* y *Swietenia macrophylla* y su sensibilidad a fungicidas convencionales. Revista Mexicana de Fitopatología 42(3): 27. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2405-5>



RESUMEN

Antecedentes / Objetivo. En el estado de Yucatán, México, en los últimos cinco años se produjeron 10 millones de plantas forestales para diversas acciones de conservación y restauración. Las principales limitantes en la producción de estas plantas en vivero, son las enfermedades inducidas por *Fusarium* spp., que causan pudriciones de tallo y raíz y pérdidas de producción de plantas hasta el 50 %. El objetivo del trabajo fue identificar el agente causal asociado con la pudrición y necrosis de tallo y raíz de cedro (*Cedrela odorata*) y caoba (*Swietenia macrophylla*) y su sensibilidad *in vitro* a fungicidas convencionales.

Materiales y Métodos. Se colectaron plantas de *C. odorata* y *S. macrophylla* de tres y seis semanas de germinación, respectivamente, con síntomas de necrosis y pudrición indicados; de donde se obtuvieron cinco aislados fúngicos y se identificaron morfológica y molecularmente. Se determinó *in vitro* por el método de microdilución, la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de esporas y la Concentración Mínima Letal (CML) de seis fungicidas convencionales de aplicación recurrente en la región (Procloraz, Carbendazim, Benomilo, Fosetyl Al, Captan y Mancozeb) y validar su efectividad y viabilidad en el manejo de esta problemática.

Resultados. La morfología y secuencias moleculares de los aislados, fueron similares a las reportadas para *Fusarium solani*. La CMI de las esporas de *F. solani* para Procloraz, Carbendazim, Benomilo, Captan y Mancozeb fueron de 2.44, 11.38, 14.06, 7.81 y 7.81 ppm, respectivamente; Fosetyl Al, no inhibió la germinación de esporas ya que se observó crecimiento micelial normal del hongo en las concentraciones evaluadas.

Conclusión. El Prochloraz y el Mancozeb, tuvieron la menor CML con 2.44 y 7.81 ppm, respectivamente.

Palabras clave: cedro, caoba, pudrición de raíces, vivero, control químico.

INTRODUCCIÓN

En México, se produjeron en los últimos cinco años aproximadamente 1,000 millones de plantas forestales, éstas incluyeron especies de clima árido, templado y tropical y, de esta producción, el estado de Yucatán produjo aproximadamente 10 millones para diversas acciones de reforestación o restauración. Las principales especies producidas fueron: *C. odorata*, *S. macrophylla*, *Tabebuia rosea*, *Brosimum alicastrum*, *Cordia dodecandra*, principalmente (SNIGF, 2021). Entre los factores limitantes en el proceso de producción, se encuentran las enfermedades de pudriciones en tallo y raíz, causadas por *Fusarium* spp. (Kisekka, 2022). De acuerdo con la información proporcionada por los viveristas, las pérdidas de producción oscilan entre el 30 y 50 %.

El género *Fusarium* cuenta con aproximadamente 1,779 especies, con distribución cosmopolita (Sun *et al.*, 2023). Son ubicuos en la naturaleza, ya que pueden tolerar cualquier condición ambiental. Se les puede encontrar en el aire, agua, suelo, plantas y restos vegetales. Una gran cantidad de sus especies son patógenas de plantas, productoras de micotoxinas y, las cuales inducen una amplia gama de enfermedades que afectan a varios cultivos. Los síntomas que ocasiona incluyen: pudrición de raíz y tallo, canchales, marchitez vascular, pudrición de frutos y semillas, principalmente (Ekwomadu y Mwanza, 2023).

En viveros de regiones templadas, caracterizados por su clima húmedo o subhúmedo con temperaturas promedio entre 12 y 18 °C y precipitación promedio anual entre 600 y 1500 mm (GeoEnciclopedia, 2022), su vegetación la constituyen bosques de pinos, de encinos y de pinos-encinos (Galicia *et al.*, 2018); Al respecto, *F. circinatum* en plantas de pinos, es el causante de la principal enfermedad conocida como “secadera”; esta enfermedad se caracteriza por la pudrición de raíces, lo que disminuye la calidad de la planta, con pérdidas de producción de hasta un 40 % (García-Díaz *et al.*, 2017). En regiones tropicales, donde la temperatura es mayor a 18 °C y la precipitación anual oscila entre 800 y 4000 mm (GeoEnciclopedia, 2022) y su vegetación está compuesto por diversas especies de tipo perennifolias, subperennifolias, caducifolias y subcaducifolias (Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2017), se identificó a *Fusarium* sp. como responsable de las pudriciones de tallo en *Eucalyptus pellita* (Arsensi y Mardji, 2021) y a *F. solani* como agente causal de pudriciones de raíces en *Tectona grandis* (Kiran *et al.*, 2021).

En México, es escasa la información referente al diagnóstico y etiología de los agentes causales de enfermedades fúngicas observadas en viveros forestales tropicales; así como, de los métodos empleados para su control. En la actualidad, el control de estas enfermedades en plantas forestales que progresan en viveros es a base de fungicidas sintéticos, debido a su rápida respuesta para controlar al fitopatógeno y a su fácil aplicación (Kisekka, 2022). Aunque en ocasiones, las aplicaciones se realizan sin éxito, ya que no se realizan estudios previos de sensibilidad *in vitro* e *in vivo* a los fungicidas locales disponibles.

En la producción de plantas en los viveros, la buena sanidad es la base de todo proyecto de producción o de reforestación, ya que al establecer en campo plantas enfermas, éstas tienen menores probabilidades de sobrevivir y además, se convierten en fuentes de inóculos para plantas sanas. Por lo tanto, para establecer un método de control para resolver los problemas fitosanitarios que afectan a las plantas que se producen en vivero, es indispensable conocer los agentes causales y, este conocimiento permite diseñar estrategias de control eficientes y la aplicación de productos específicos para su manejo, y con ello también disminuir la contaminación ambiental. Debido a esto, el objetivo del trabajo fue identificar el agente causal asociado con la pudrición y necrosis de tallo y raíz de *C. odorata* y *S. macrophylla* y su sensibilidad *in vitro* a fungicidas convencionales.

MATERIALES Y MÉTODOS

Colecta de las muestras. Durante el año 2023 en el vivero México Primero localizado a 88° 58'48.15" W y 19° 59'10.56" N, en el municipio de Tzucacab, Yucatán se colectaron plantas de *C. odorata* y *S. macrophylla* de tres y seis semanas posteriores a la germinación, respectivamente y que mostraban síntomas de necrosis y pudrición de la base de tallo y raíz (Figura 1). Las muestras se guardaron en bolsas de papel estraza para después colocarlas dentro de bolsas de plástico, se etiquetaron y se trasladaron al Laboratorio de Fitopatología del Tecnológico Nacional de México, Campus Conkal, para el aislamiento e identificación del (los) agente (s) causal (es).

Aislamientos a partir de síntomas. Los tallos y las raíces de las plantas con síntomas de necrosis y pudrición se lavaron con agua de la llave para eliminar los residuos del sustrato. Del tejido dañado se realizaron cortes de aproximadamente 0.5 a 1 cm². Para eliminar contaminantes externos, se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 2 % de producto comercial durante 2 minutos. Posteriormente, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril por dos minutos en cada enjuague y se secaron con papel absorbente estéril; por último, se colocaron cinco fragmentos de aproximadamente 0.5 a 1 cm² en cajas Petri con medio de cultivo a base de Papa

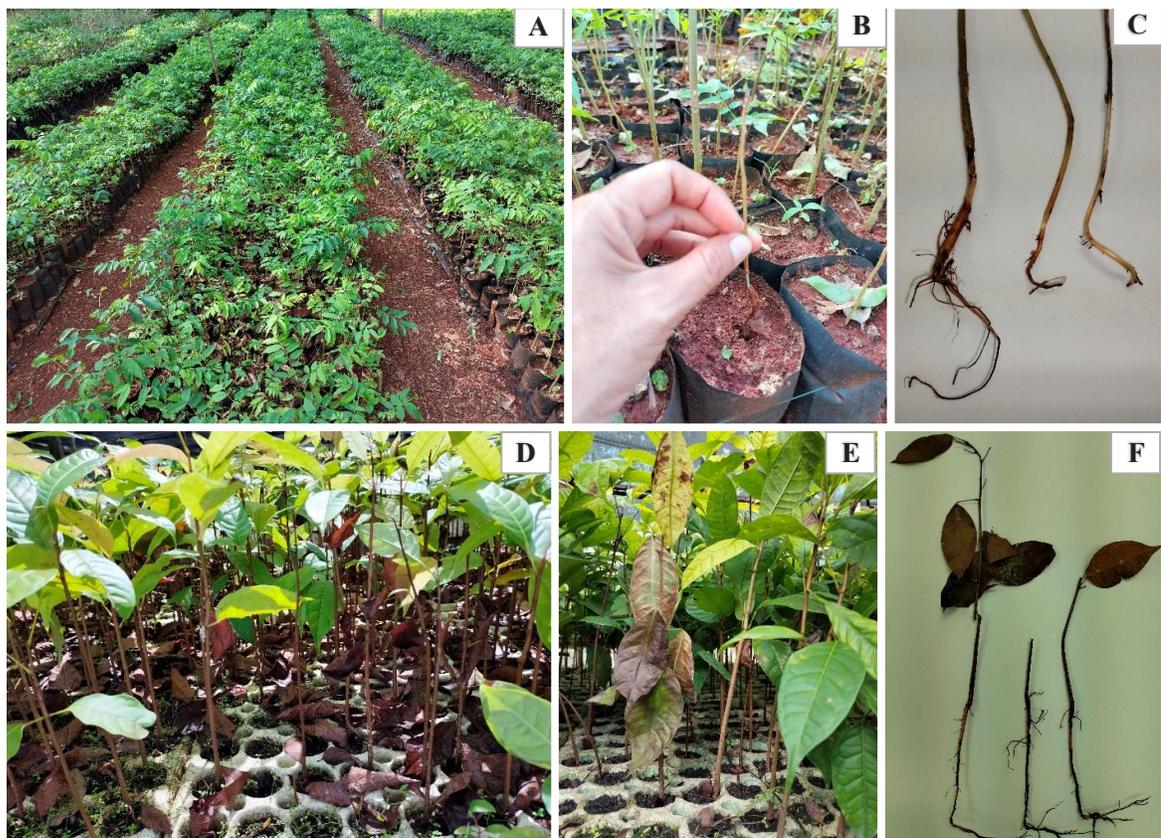


Figura 1. Plantas con síntomas de necrosis y pudrición en tallo y raíz. **A, B y C)** Plantas de *Cedrela odorata*. **D, E y F)** Plantas de *Swietenia macrophylla*.

Dextrosa Agar (PDA) y se incubaron a 28 ± 2 °C. A las 48 h, se observó desarrollo de micelio y se reaislaron en cajas Petri con medio de cultivo PDA. Los crecimientos miceliales reaislados se purificaron mediante puntas de hifa en crecimiento y posteriormente a partir de esporas se realizaron cultivos monospóricos (Ríos-Hernández *et al.*, 2021), de los cuales, se obtuvieron tres aislados de *C. odorata* y dos aislados de *S. macrophylla*.

Identificación morfológica. Para la identificación morfológica de los aislados fúngicos a nivel de género, se tomaron con una aguja de disección estéril, muestras de micelio de aproximadamente 5 mm de diámetro, se depositaron en cajas Petri con medio PDA y se incubaron a 28 ± 2 °C, se monitorearon hasta que presentaron las estructuras de reproducción y con ello se consideraron las características de los crecimientos como: tipo de micelio, color de los aislados, tipo y forma de esporas y cuerpos fructíferos (Barnett y Hunter 1998; Leslie *et al.*, 2006). Se realizaron pre-

paraciones semipermanentes y se observaron las características morfológicas en un microscopio (Axiostar Plus, Carl Zeiss), provisto con reglilla de medición ocular, previamente calibrada para cada objetivo según el caso, y se midió la longitud y el ancho (n=100) de macroconidios y microconidios.

Identificación molecular. Considerando que los cinco aislados presentaron características morfológicas similares, se eligió aleatoriamente un aislado de cada hospedante para la identificación molecular y consistió en la extracción de ADN de cada hongo mediante el Kit DNeasy (QUIAGEN). A partir del ADN extraído se amplificó el espaciador transcrito interno (ITS) mediante la reacción en cadena de la polimerasa (PCR), utilizando los oligonucleótidos universales ITS4 (5'-TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') e ITS5 (5'-GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') (White *et al.*, 1990) y el factor de elongación-1 α con los oligonucleótidos EF-1 (5'-ATGGGTAAGGARGACAAGAC-3') y EF-2 (5'-GGARGTACCAGTSATCATGTT-3') (Ríos-Hernández *et al.*, 2021), con las siguientes condiciones de amplificación: Desnaturalización inicial por 30 s a 94 °C, seguido de 38 ciclos (desnaturalización por 30 s a 90 °C, alineación por 45 s a 58 °C y extensión por 1 min a 72 °C) y con extensión final por 5 min a 72 °C (Uc-Vázquez *et al.*, 2018), la amplificación se realizó en un termociclador AB (Applied Biosystems) y los productos amplificados fueron analizados mediante electroforesis en gel de agarosa al 1 %. Los productos de PCR se enviaron a purificar y secuenciar a MacroGen Genome Center ubicado en Seoul, República de Korea. Las secuencias resultantes fueron editadas con el Software BioEdit (versión, 7.7.1. disponible en internet) y posteriormente fueron comparadas con secuencias reportadas en la base de datos del National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2024), usando la herramienta BLAST, disponible en internet.

Concentración Mínima Inhibitoria de Germinación de Esporas y Concentración Mínima Letal. Para estimar la actividad antifúngica de seis ingredientes activos de fungicidas convencionales (Cuadro 1) sobre los aislados fúngicos de *C. odorata* y *S. macrophylla*, se determinó la Concentración Mínima Inhibitoria (CMI) de la germinación de esporas. Mediante el método de microdilución en microplacas de poliestireno estéril de 96 pozos con medio de cultivo Papa Dextrosa al doble de su concentración (CLSI, 2017; CLSI, 2020). Se añadió a cada pozo de la microplaca 100 μ L de caldo Papa Dextrosa y, a los pozos de la fila utilizados como control negativo, se agregó 100 μ L de agua destilada estéril. En seguida, en cada pozo de la primera columna se incorporaron los fungicidas a evaluar, así, a los pozos de la primera columna, se le añadió 100 μ L de la solución fungicida correspondiente, se mezclaron y se tomó 100 μ L de la mezcla de cada pozo y se transfirieron en los pozos de la segunda columna y, así continuamente, de modo que la concentración

Cuadro 1. Fungicidas convencionales evaluados sobre la germinación de esporas y el crecimiento micelial de *Fusarium solani* aislado de *Cedrela odorata* y *Swietenia macrophylla*.

Fungicida (i. a)	Grupo de fungicida	Tipo de fungicida	Dosis inicial máxima (ppm)
Procloraz	Imidazol	Sistémico	625
Carbendazim	Bencimidazol	Sistémico	364
Benomilo	Bencimidazol	Sistémico	225
Fosetyl Al	Fosfonato de etilo	Sistémico	1500
Captan	Ftalimida	Contacto	1000
Mancozeb	Ditiocarbamato	Contacto	1000

de la solución fungicida quedó al 50 % desde el primer pozo. Al finalizar las diluciones, se adicionaron a cada pozo 100 μL con esporas del hongo previamente contabilizadas en una cámara de Neubauer a una concentración ajustada de 1×10^5 esporas mL^{-1} ; así mismo, a los pozos de la fila utilizados como control positivo estuvieron provistos de caldo papa dextrosa y esporas del hongo en las concentraciones descritas, de esta manera cada pozo tuvo un volumen de 200 μL y, por último, el contenido de cada pozo se mezcló (Harčárová *et al.*, 2021; Ríos-Hernández *et al.*, 2021). Las microplacas se incubaron a 29 °C; el ensayo se estableció en un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones, con la información que se obtuvo se realizaron análisis de varianza previa transformación de datos con la instrucción en el paquete estadístico de SAS ver. 9.4 ($y = \arcsin(\sqrt{y/100})$), las comparaciones de medias se realizaron por el método de Tukey ($p \leq 0.05$). Se evaluó la inhibición y la germinación de esporas del hongo a las 24, 48 y 72 horas mediante el uso de rezasurina (Sharma *et al.*, 2016; Balouri *et al.*, 2016; Kumar *et al.*, 2016; Ríos-Hernández *et al.*, 2021) como indicador de oxidación-reducción para verificar la viabilidad de las esporas por un cambio de tinción azul (no fluorescente) a rosa-rojo (fluorescente) como resultado de la reducción química del medio de cultivo por el crecimiento celular del microorganismo (Elshikh *et al.*, 2016; Caso *et al.*, 2021). Después de dos horas de incubación se determinó la CMI de cada fungicida, el cual, consistió en la concentración más baja del fungicida que evitó el crecimiento micelial del hongo (Kowalska-Krochmal y Dudek-Wicher, 2021). Posteriormente se calculó la Concentración Mínima Letal (CML), definido como la concentración más baja del fungicida en la que no existe crecimiento del hongo 24 h después de un subcultivo en medio libre de fungicida (Perczak *et al.*, 2019; Harčárová *et al.*, 2021; Ríos-Hernández *et al.*, 2021); la CML se determinó por triplicado en medio de cultivo PDA, para ello se utilizó 5 μL del contenido fúngico que se inhibió a partir de la CMI y cuatro concentraciones mayores a la CMI y se incubaron a 29 °C; a las 24 horas se observó la presencia o ausencia de crecimiento

fúngico, después de este periodo, cuando se observó crecimiento fúngico se consideró al producto con actividad fungistático y la ausencia de crecimiento como actividad fungicida (Ríos-Hernández *et al.*, 2021).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Identificación morfológica. Las características morfológicas de los cinco aislados provenientes de necrosis, pudrición de tallo y de raíz de *C. odorata* y *S. macrophylla* (Figura 2), mostraron micelio septado y liso en los primeros cuatro y cinco días de crecimiento y se volvió algodonoso de tonalidades blanco a crema pálido a partir de los 8 días. En monofiálides largas se produjeron abundantes microconidios hialinos, ovalados y fusiformes generalmente de cero a un septo de 8-25 μm de largo

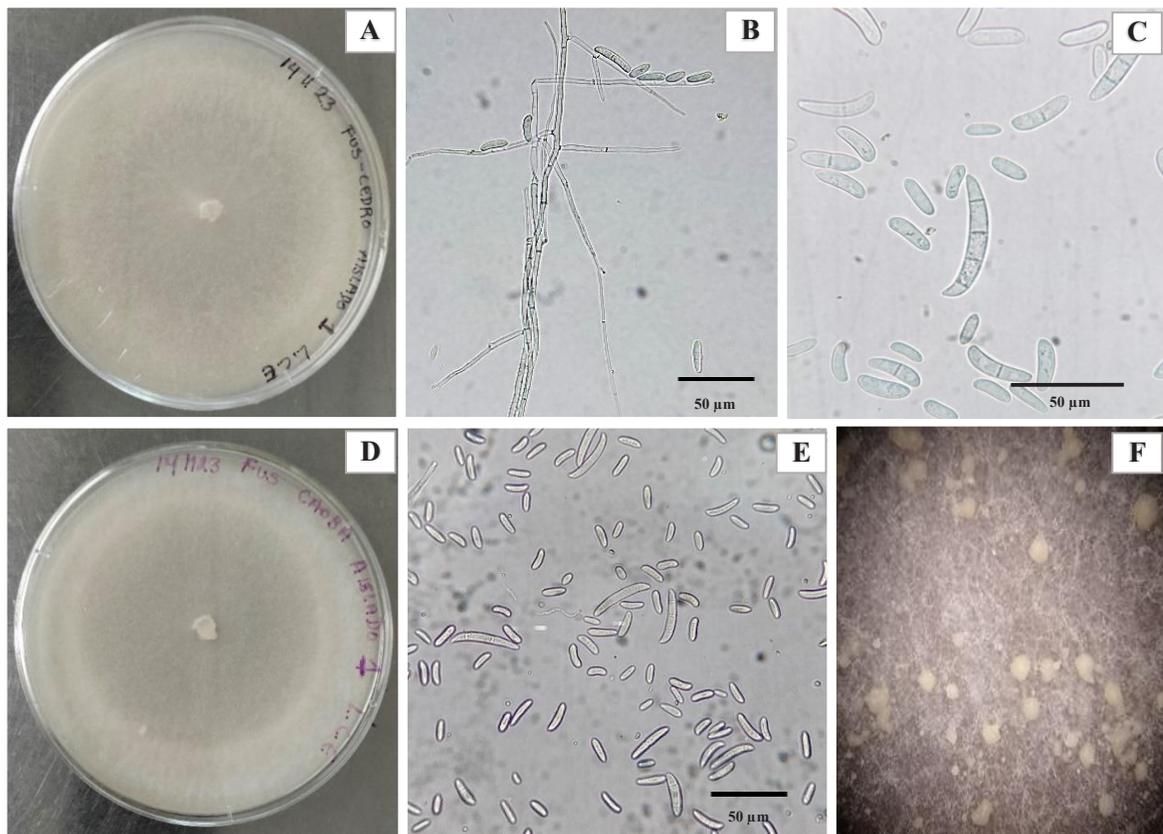


Figura 2. A y D) Vista de *Fusarium solani* de 14 días de desarrollo aislado de *Cedrela odorata* y *Swietenia macrophylla*, B) Micelio septado y microconidios de *F. solani*, C) Macroconidios (3-4 septos) y microconidios (0-1 septo) de *F. solani* observadas al objetivo 100X, E) Macroconidios y microconidios observadas a 40X y F) Esporodocios.

y de 3.5-5 μm de ancho; esporodoquios de forma irregular de color crema pálido y abundantes macroconidios hialinos, robustos poco curvados de tres a cuatro septos de 24-36 μm de largo y de 4-5 μm de ancho; se observaron clamidosporas simples y dobles de forma globosa y pared gruesa. Las características de estos aislados coincidieron con los descritos para *Fusarium solani* (Leslie *et al.*, 2006; Hafizi *et al.*, 2013; Omar *et al.*, 2018; Kurt *et al.*, 2020).

Identificación molecular. Las secuencias resultantes de los fragmentos amplificados de la región ITS (600 pb) de los dos aislados provenientes de *C. odorata* y *S. macrophylla*, al compararlas con secuencias registradas en la base de datos del NCBI, mostraron una similitud del 99.26 y 99.79 %, respectivamente, con secuencias correspondientes a *F. solani* y *F. falciforme*. Por consiguiente, el análisis de las secuencias de los fragmentos de los genes que codifican al factor de elongación-1 α (700 pb) de los mismos aislados presentaron una similitud de 99.83 y 95.73 %, respectivamente, con secuencias de *F. solani* y *F. falciforme*. Considerando las características morfológicas y la estrecha similitud molecular de las secuencias analizadas, se concluye que los dos aislados procedentes de necrosis, pudrición de tallo y de raíz de *C. odorata* y *S. macrophylla* corresponden a *F. solani*, dado que *F. falciforme* es un miembro del complejo de *F. solani*; este grupo integra diversidad de genotipos causada por la variabilidad genética y plasticidad ecológica que la caracteriza (Sabahi *et al.*, 2023). Este constituye el primer reporte de *F. solani*, asociada con la producción de plantas de vivero en *C. odorata* y *S. macrophylla* en el sureste de México.

Determinación de la CMI y la CML de los fungicidas de síntesis química contra *F. solani*. El Procloraz inhibió la germinación de esporas y en consecuencia el crecimiento de *F. solani* a partir de 2.44 ppm, así como, en las concentraciones mayores a éste; al observarse una tinción azul (no fluorescente) en las esporas tratadas, comparado con las esporas del control positivo que cambió de tinción azul a rosa-rojo (fluorescente) lo que indicó crecimiento celular del hongo. Al determinar la CML el efecto del fungicida continuó, y en las muestras fúngicas provenientes de las esporas tratadas con las concentraciones del fungicida subcultivadas en medio PDA libre de fungicida, no se observó crecimiento micelial durante las 24 h de la evaluación con respecto a las muestras fúngicas del control positivo que si desarrollaron crecimiento micelial (Figura 3). Con base a estos resultados 2.44 ppm fue la CMI y la CML del Procloraz (Cuadro 2). Con lo que se evidenció que el Procloraz causó la muerte de las esporas al no ocurrir la germinación y el crecimiento micelial. Estos resultados se relacionan directamente con el modo de acción del fungicida el cual, interrumpe la biosíntesis de los esteroides (Medina-Osti *et al.*, 2022), en particular contra el ergosterol, componente esencial de la membrana plas-

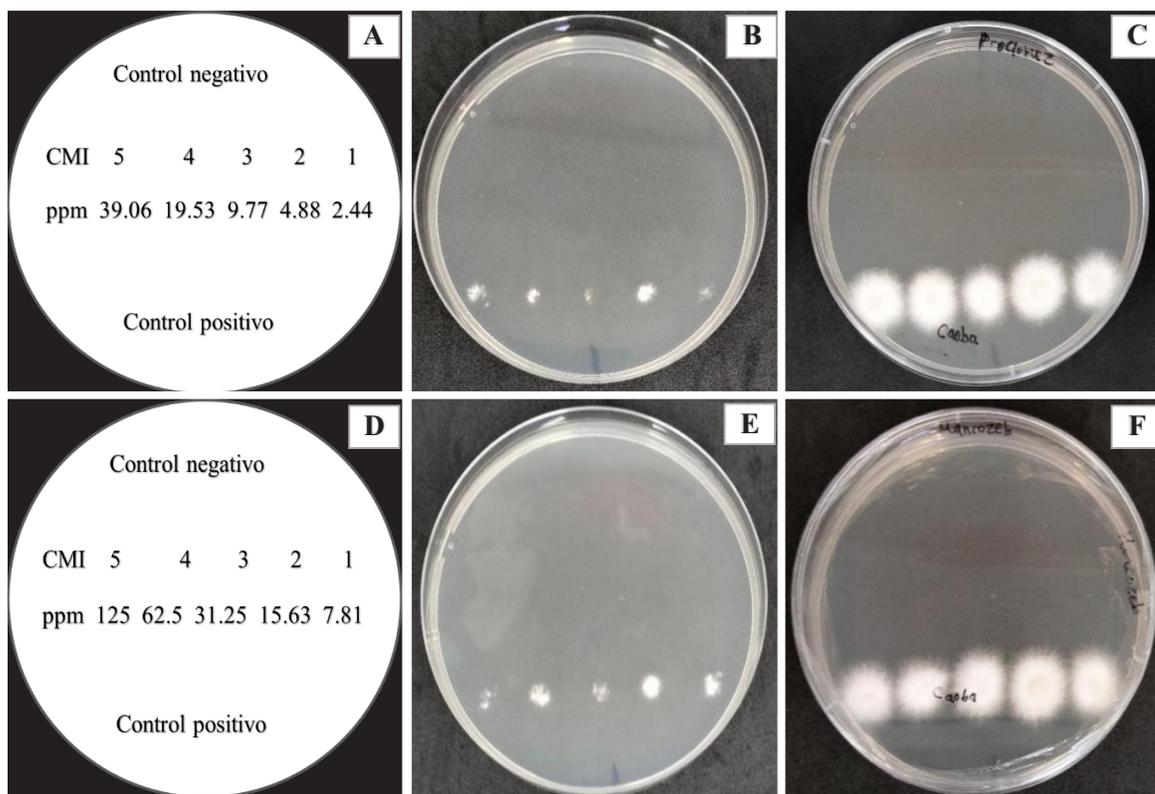


Figura 3. Efecto fungicida de Procloraz y Mancozeb sobre la solución de esporas de *Fusarium solani* provenientes de la microdilución en placa después de dos días de evaluación. **A)** Distribución en cajas petri con medio PDA de cinco CMI obtenidas de Procloraz, **B y C)** Sin crecimiento micelial de *F. solani* en las CMI de Procloraz evaluadas después de 24 y 48 h, **D)** Distribución en cajas petri con medio PDA de cinco CMI obtenidas de Mancozeb, **E y F)** Sin crecimiento micelial de *F. solani* en las CMI de Mancozeb evaluadas después de 24 y 48 h.

Cuadro 2. Concentración mínima inhibitoria (CMI) y Concentración mínima letal (CML) de fungicidas convencionales sobre *Fusarium solani* aislado de *Cedrela odorata* y *Swietenia macrophylla*.

Tratamiento-Fungicida (i. a)	CMI (ppm)	^y Inhibición de germinación de esporas (%)	CML (ppm)	^z Inhibición de crecimiento micelial (%)
Procloraz	2.44	100 a	2.44	100 a
Carbendazim	11.38	100 a	11.38	0 b
Benomilo	14.06	100 a	14.6	0 b
Fosetyl-Al	1500	0 b	1500	0 b (-)
Captan	7.81	100 a	7.81	0 b
Mancozeb	7.81	100 a	7.81	100 a
Testigo	0	0 b	0	0 b (-)

^y Medias con la misma literal entre columnas son iguales ($p \leq 0.05$).

^z 100 %) actividad fungicida, 0 %) actividad fungistática y 0 (-) sin actividad.

mática que mantiene rigidez y permeabilidad de las esporas. Cuando se altera este componente puede existir una lisis de la estructura de la membrana, lo que afecta el transporte de nutrientes y la síntesis de quitina, los cuales, son esenciales para el crecimiento micelial. En *F. oxysporum* y *Colletotrichum acutatum* con la inhibición del ergosterol, observaron daños estructurales que causaron esporas encogidas y arrugadas y en consecuencia inviabilidad de los hongos (Kim *et al.*, 2019). Misma efectividad se encontraron en otros estudios, a concentraciones de 4, 40 y 400 ppm de Procloraz en el que inhibieron el crecimiento de *F. graminearum*, *F. proliferatum* y *F. verticillioides* causantes de la pudrición de la aurícula del maíz (Massiello *et al.*, 2019) y, en *Fusarium* sp. causante de la marchitez vascular de los cítricos con 100 ppm inhibió su crecimiento micelial en un 92 % (Ortiz-Martínez *et al.*, 2022).

El ensayo de la CMI para el Carbendazim fue a partir de 11.38 ppm (Cuadro 2). Sin embargo, al evaluar el efecto del fungicida y estimar la CML se observó crecimiento micelial cuando se subcultivaron en medio PDA libre de fungida, lo que hace suponer, que este producto tuvo efecto fungistático y no fungicida. Resultados diferentes observaron en aislados de papaya causando pudrición de raíces, este fungicida a 150 ppm, inhibió el crecimiento micelial entre 93.5 a 95.3 % (Kumar *et al.*, 2020) y a 750 ppm inhibió el 100 % del crecimiento de *F. solani* causante de la marchitez vascular del tomate (Ayvar-Serna *et al.*, 2021). Con relación al Benomilo la CMI fue a partir de 14.06 ppm (Cuadro 2), la inhibición de la germinación de esporas de *F. solani*, no obstante, al igual que con el Carbendazim cuando se evaluó la CML, las esporas recuperaron su viabilidad, al mostrar crecimiento micelial, lo que también sugirió efecto fungistático a estas dosis. En estudios con dosis mayores a 250 ppm inhibió el 100% su crecimiento micelial (Coronel *et al.*, 2022). Pero en *F. oxysporum* responsables de la marchitez y colapso de las plantas de fresa a concentraciones desde 5 ppm inhibió el crecimiento micelial (Vega-López y Granada-Montero, 2023). Lo anterior, hace suponer que la efectividad del fungicida también está en función de la especie y cepa del fitopatógeno. El Carbendazim y el Benomilo son catalogados como preventivos y curativos actúan en la inhibición de las proteínas motoras y del citoesqueleto, específicamente en el ensamble de la β tubulina en la mitosis, lo que afecta la división y el desplazamiento celular, así como la formación del apresorio y, en general el crecimiento micelial (Albuquerque y Gusqui, 2018; FRAC, 2024); Por otro lado, ninguna de las concentraciones evaluadas de Fosetyl-Al mostró actividad antifúngica al permitir el crecimiento del hongo, lo que confirmó la poca efectividad y selectividad de este ingrediente activo con efecto oomicida (Cristóbal-Alejo *et al.*, 2013). Aunque hay pocos casos de resistencia en algunos fitopatógenos, la frecuencia de uso puede disminuir su efectividad para el control de los hongos fitopatógenos (FRAC, 2024).

En lo que se refiere al Captan y Mancozeb, la CMI fue 7.81 ppm (Cuadro 2), a partir de ésta concentración mostraron inhibición de la germinación de esporas

del hongo hasta las concentraciones mayores a éste evaluadas, ya que en estas concentraciones se determinó la inhibición de la germinación de las esporas, al no observarse cambio de tinción de la rezasurina en las microplacas con respecto a los controles positivos, en los cuales, se observó cambio de tinción de la rezasurina, sin embargo, en el ensayo para determinar el efecto del fungicida y la CML, solo con el Mancozeb a ésta misma concentración se obtuvo la CML sobre *F. solani*; ya que no se observó crecimiento micelial del hongo en esta concentración y los demás evaluados al subcultivar en medio PDA libre de fungida, muestras fúngicas provenientes de las microplacas con las concentraciones de fungicida (Figura 2), lo que indicó que este fungicida no solo inhibió la germinación de las esporas mientras estuvo en contacto con ellas sino que causó su muerte, por eso no desarrollaron micelio.

Caso contrario ocurrió con el Captan, en el cual, si desarrolló crecimiento micelial similar al control positivo, lo que supone que solo impidió la germinación de las esporas en el tiempo que estuvieron en contacto en las microplacas. Estos resultados podrían indicar que a pesar que ambos fungicidas son de contacto y su forma de acción es multisitio, entre los cuales afectan la germinación de las esporas (FRAC, 2024), también podrían influir la concentración y el tiempo de la exposición del hongo al fungicida, por lo que las 48 h en las que se mantuvieron las esporas en contacto con las cantidades de captan, fueron insuficientes para penetrar sus células. En evaluaciones recientes mostraron su eficacia contra especies de *Fusarium*, así, al evaluarlos contra *F. incarnatum* hongo asociado a daños en semilla de pasto, el Captan y el Mancozeb a concentraciones de 200 y 300 ppm inhibieron su crecimiento micelial en 97.8 y 93%, respectivamente (Zárate-Ramos *et al.*, 2021). En contra de *F. falciforme* recientemente identificado como patógeno de raíz y tallo de guanábana a concentraciones de 12,500 y 10,000 ppm inhibieron del 95 al 100% el crecimiento del hongo (Cambero-Ayón *et al.*, 2023). Además, el Captan interfiere con el mecanismo de la respiración del hongo lo que dificulta la germinación y el desarrollo micelial y, el Mancozeb actúa en la modificación e inactivación de las proteínas sensibles a redox como las de la transcripción, traducción y estrés oxidativo del ADN (Zárate-Ramos *et al.*, 2021).

Finalmente, solo el Procloraz y el Mancozeb mostraron efecto fungicida al no observarse crecimiento micelial de *F. solani* durante el ensayo para determinar la CML después de 24 y 48 h de subcultivado en medio PDA libre de los fungicidas, lo que confirmó la muerte de las esporas. Mientras que para el caso del Carben-dazim, Benomilo y Captan presentaron un efecto fungistático, ya que durante la prueba para determinar la CML, hubo crecimiento micelial después de 24 y 48 h de exponer al hongo en medio de cultivo PDA en ausencia de fungicida, lo que evidenció que estos fungicidas no mataron a las esporas y solo inhibieron su germinación mientras estuvieron en contacto con ellas, pero al sacarlas de este medio con los

fungicidas, recuperaron la viabilidad y continuaron con su crecimiento (Cuadro 2 y Figura 3).

CONCLUSIONES

Las características morfotaxonómicas y el análisis de las secuencias moleculares de los aislados provenientes de necrosis y pudriciones de tallo y de raíz de *C. odorata* y *S. macrophylla* correspondieron a *F. solani*, por lo que se asoció a esta especie como el probable factor biótico, responsable del 30 al 50 % de las pérdidas de producción de plantas estimado por viveristas en el sureste de México.

El Procloraz y el Mancozeb mostraron *in vitro* mejor efecto antifúngico contra *F. solani*, con promedios de CMI y CML de 2.44 y 7.81 ppm, respectivamente.

LITERATURA CITADA

- Alburqueque AD y Gusqui MR. 2018. Eficacia de fungicidas químicos para el control *in vitro* de diferentes fitopatógenos en condiciones controladas. *Arnaldoa* 25(2): 489-498. <http://doi.org/10.22497/arnaldoa.252.25209>
- Arsensi I and Mardji D. 2021. Diseases of Shoot, Stem and Root on *Eucalyptus pellita* F. Muell. At Sebulu, East Kalimantan. *Advances in Biological Sciences Research* 11:186-192. <http://doi.org/10.2991/absr.k.210408.031>
- Ayvar-Serna S, Díaz-Nájera JF, Vargas-Hernández M, Enciso-Maldonado GA, Alvarado-Gómez OG y Ortiz-Martínez AI. 2021. Actividad antifúngica de pesticidas biológicos, botánicos y químicos sobre el agente causal de la marchitez vascular del jitomate. *Revista Fitotecnia Mexicana* 44(4) 617-624. <https://doi.org/10.35196/rfm.2021.4.617>
- Balouri M, Sadiki M and Koraichi IS. 2016. Methods for *in vitro* evaluating antimicrobial activity: A review. *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6:71-79. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005>
- Barnett HL and Hunter B. 1998. *Illustrated Genera of Imperfect Fungi*, 4th Ed. The American Phytopathological Society. St Paul, Minnesota, USA. 218 p. https://www.academia.edu/35499449/Illustrated_genera_of_imperfect_fungi_fourth_edition_Barnett_y_Hunter_pdf_pdf
- Camero-Ayón CB, Rios-Velasco C, Luna-Esquível G, López-Guzmán GG, Estrada-Virgen MO y Camero-Campos OJ. 2023. Supresión *in vitro* de patógenos fúngicos de raíz en *Annona muricata* L. por cepas de *Trichoderma* y fungicidas convencionales. *Revista Bio Ciencias* <https://doi.org/10.15741/revbio.10.e1497>
- Caso CV, Pereira NSD, Cintra GM, Benard G, Lopes MH and Keiko SP. Evaluation of antimicrobial susceptibility testing of *Nocardia* spp. isolates by broth microdilution with resazurin and spectrophotometry. 2021. *BMC Microbiology* 21:331-338. <https://doi.org/10.1186/s12866-021-02394-w>
- CLSI. 2017. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 27th ed. CLSI supplement M100. Clinical and laboratory standards institute; Wayne, Pennsylvania USA. 282p. https://goums.ac.ir/files/deputy_treat/md_labs_ef39a/files/M100-S27_CLSI_2017.pdf (consulta, enero 2024).
- CLSI. 2020. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. 30th ed. CLSI supplement M100. Clinical and laboratory standards institute; Wayne, Pennsylvania USA. 332p. <https://www.nih.org.pk/wp-content/uploads/2021/02/CLSI-2020.pdf> (consulta, febrero 2024)
- Coronel AC, Parraguirre LC, Pacheco HY, Santiago TO, Rivera TA and Romero AO. 2022. Efficacy of four *in vitro* fungicides for control of wilting of strawberry crops in Puebla-Mexico. *Applied Sciences* 12, 3213: 2-15. <https://doi.org/10.3390/app12073213>

- Cristóbal-Alejo J, Navarrete-Mapen Z, Herrera-Parra E, Mis-Mut M, Tun-Suárez JM y Ruiz-Sánchez E. 2013. Hifomicetos asociados a plantas tropicales del estado de Yucatán, México: Identificación genérica y evaluación de fungicidas para su control. *Revista Protección Vegetal* 28(2): 138-144.
- Ekwoamadu ET and Mwanza M. 2023. *Fusarium* Fungi Pathogens, Identification, Adverse Effects, Disease Management, and Global Food Security: A Review of the Latest Research. *Agriculture* 13, 1810: 2-20. <https://doi.org/10.3390/agriculture13091810>
- Elshikh M, Ahmed S, Funston S, Dunlop P, McGaw M, Marchant R and Banat IM. 2016. Resazurin-based 96-well plate microdilution method for the determination of minimum inhibitory concentration of biosurfactants. *Biotechnol Lett* 38:1015-1019. <https://doi.10.1007/s10529-016-2079-2>
- FRAC, Fungicide Resistance Action Committee. 2024. Fungal control agents by cross resistance pattern and mode of action. <https://www.frac.info> (consulta, marzo 2024).
- Galicia L, Chávez-Vergara BM, Kolb M, Jasso-Flores RI, Rodríguez-Bustos LA, Solís LE, Guerra de la Cruz V, Pérez-Campuzano E y Villanueva A. 2018. Perspectivas del enfoque socioecológico en la conservación, el aprovechamiento y pago de servicios ambientales de los bosques templados de México. *Madera y Bosques* 4(2): 1-18. <https://doi.org/10.21829/myb.2018.2421443>
- García-Díaz SE, Aldrete A, Alvarado-Rosales D, Cibrián-Tovar D, Méndez-Montiel JT, Valdovinos-Ponce G y Equihua-Martínez A. 2017. Efecto de *Fusarium circinatum* en la germinación y crecimiento de plántulas de *Pinus greggii* en tres sustratos. *Agrociencia* 51 (8):895-908. https://www.researchgate.net/publication/328093696_Efecto_de_Fusarium_circinatum_en_la_germinacion_y_crecimiento_de_plantulas_de_Pinus_greggii_en_tres_sustratos
- GeoEnciclopedia. 2022. Tipos de climas en México. <https://www.geoenciclopedia.com/tipos-de-climas-en-mexico-558.html> (consulta, junio 2024).
- Hafizi R, Salleh B and Lattifah Z. 2013. Morphological and molecular characterization of *Fusarium solani* and *F. oxysporum* associated with crown disease of oil palm. *Brazilian Journal of Microbiology* 44(3):959-968. <https://doi.org/10.1590/s1517-83822013000300047>
- Harčárová M, Čonková E, Proškovcová M, Váczí P, Marcinčáková D and Bujňák L. 2021. Comparison of antifungal activity of selected essential oils against *Fusarium graminearum* *in vitro*. *Annals of Agricultural and Environmental Medicine* 28(3): 414-418. <https://doi.org/10.26444/aaem/137653>
- Kim YJ, Kim JH and Rho JY. 2019. Antifungal Activities of *Streptomyces blastmyceticus* Strain 12-6 Against Plant Pathogenic Fungi. *Mycobiology* 47(3): 329-334. <https://doi.org/10.1080/12298093.2019.1635425>
- Kiran, M, Gopakumar S, Reshmy and Vidyasagar. 2021. Documentation and characterization of fungal diseases in nursery seedlings of teak (*Tectona grandis* L.f.) in Kerala, India. *Indian Phytopathology* 74:639-647. <https://doi.org/10.1007/s42360-021-00333-3>
- Kisekka R. 2022. Major diseases of nursery forestry tree seedlings in Uganda. *National Agricultural Research Organization* 1-9. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.28919.09125>
- Kowalska-Krochmal B and Dudek-Wicher R. 2021. Inhibitory Concentration of Antibiotics: Methods, Interpretation, Clinical Relevance. *Pathogens* 10: 1-21. <https://doi.org/10.3390/pathogens10020165>
- Kumar P, Mishra S, Kumar A and Kumar SA. 2016 Antifungal efficacy of plant essential oils against stored grain fungi of *Fusarium* spp. *J Food Sci Technol* 53(10): 3725-3734. <https://doi.org/10.1007/s13197-016-2347-0>
- Kumar GP, Singh SK and Shikha S. 2020. *In vitro* efficacy of different fungicides against *Fusarium solani* isolate causing root rot of papaya (*Carica papaya* L.). *International Journal of Chemical Studies* 8 (3): 221-224. <https://doi.org/10.22271/chemi.2020.v8.i3c.9229>
- Kurt S, Uysal A, Soyulu EM, Kara M and Soyulu S. 2020. Characterization and pathogenicity of *Fusarium solani* associated with dry root rot of citrus in the eastern Mediterranean region of Turkey. *Journal of General Plant Pathology* 86:326-332. <https://doi.org/10.1007/s10327-020-00922-6>
- Leslie JF, Summerell BA and Bullock S. 2006. The *Fusarium* laboratory manual. First edition. Ed. Blackwell Publishing Iowa, USA. 388p. <https://doi.org/10.1002/9780470278376>
- Masiello M, Somma S, Ghiona, Francesco LA and Moretti A. 2019. *In Vitro* and in Field Response of Different Fungicides against *Aspergillus flavus* and *Fusarium* Species Causing Ear Rot Disease of Maize. *Toxins* 11(11): 1-18. <https://doi.org/10.3390/toxins11010011>

- Medina-Osti F, Gutiérrez-Díez A, Ochoa-Ascencio S and Sinagawa-García SR. 2022. *In vitro* sensitivity of *Fusarium sacchari* isolated from sugar cane to five fungicides. Mexican Journal of Phytopathology 40(3): 447-457. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2206-1>
- NCBI (National Center For Biotechnology Information). 2024. <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi> (consulta, junio 2024).
- Omar NH, Mohd M, Nik Mohd Izham MN and Zakaria L. 2018. Characterization and pathogenicity of *Fusarium* species associated with leaf spot of mango (*Mangifera indica* L.). Microbial Pathogenesis 114:362-368. <https://doi.org/10.1016/j.micpath.2017.12.026>
- Ortiz-Martínez LE, Robles-Yerena L, Leyva-Mir SG, Camacho-Tapia M and Juárez-Rodríguez L. 2022. *Fusarium* sp., causal agent of vascular wilt in citrus and its sensitivity to fungicides. Mexican Journal of Phytopathology 40(1): 1-17. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2106-3>
- Perczak A, Gwiazdowska D, Marchwinska K, Jus K, Gwiazdowski R and Waskiewicz A. 2019. Antifungal activity of selected essential oils against *Fusarium culmorum* and *F. graminearum* and their secondary metabolites in wheat seeds. Archives of Microbiology 201:1085–1097. <https://doi.org/10.1007/s00203-019-01673-5>
- Ríos-Hernández TA, Uc-Vázquez A y Evangelista-Martínez Z. 2021. Control biológico de *Fusarium oxysporum*, agente causal de la pudrición del cormo en gladiolo, mediante estreptomicetos. Revista Mexicana de Fitopatología 39 (3): 391-413. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2105-3>
- Secretaría de Medio Ambiente y Recursos Naturales, 2017. Bosques tropicales, ecosistemas con gran riqueza de especies. <https://www.gob.mx/semarnat/articulos/bosques-tropicales-ecosistemas-con-gran-riqueza-de-especies> (consulta, junio 2024).
- Sabahi F, Banihashemi Z, Mirtalebi M, Rep M and Cacciola SO. 2023. Molecular Variability of the *Fusarium solani* Species Complex Associated with Fusarium Wilt of Melon in Iran. Journal of Fungi 9 (4): 1-19. <https://doi.org/10.3390/jof9040486>
- Sharma A, Rajendran S, Srivastava A, Sharma S and Kundu B. 2016. Antifungal activities of selected essential oils against *Fusarium oxysporum* f. sp. *lycopersici* 1322, with emphasis on *Syzygium aromaticum* essential oil. Journal of Bioscience and Bioengineering 1-6. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiosc.2016.09.011>
- SNIGF, Sistema Nacional de Información y Gestión Forestal. 2021. Comisión Nacional Forestal. <https://old-snigf.cnf.gob.mx/categoria-producto/noticias-del-sector-forestal/> (consulta enero 2021).
- Sun HM, Ryu H, Jong JH and Hyo-Won C. 2023. Diversity and pathogenic characteristics of the *Fusarium* species isolated from minor legumes in Korea. nature portfolio 13:22516. <https://doi.org/10.1038/s41598-023-49736-4>
- Uc-Vázquez A, López-Puc G, Góngora-Canul C, Martínez- Sebastián M and Aguilera-Cauich EA. 2018. Spatio-temporal spread of foot rot (*Lasiodiplodia theobromae*) in *Jatropha curcas* L. plantations in Yucatán, México. European Journal Plant Pathology 150:991-1000. <https://doi.org/10.1007/s10658-017-1338-y>
- Vega-López M y Granados-Montero M. 2023. Efficacy of benomyl and folpet on *Fusarium oxysporum* a strawberry pathogen. Revista Mexicana Ciencias Agrícolas 14(3): 485-490. <https://doi.org/10.29312/remexca.v14i3.3253>
- White T, Bruns T, Lee S & Taylor J. 1990. Amplification phylogenetics. In: Innis MA, Gelfand DH, Sninsky JJ & White TJ (Eds.). PCR Protocols: A guide to methods and applications. Academic Press. San Diego Californie. pp. 315–321. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-372180-8.50042-1>
- Zárate-Ramos A, Quero-Carrillo AR, Miranda-Jiménez L, Nava-Díaz C and Robles-Yerena L. 2022. Fungicides and *Bacillus subtilis* against fungi isolated from commercial seed of Side oats grama (*Bouteloua curtipendula*). Mexican Journal of Phytopathology 40(1): 103-115. <https://doi.org/10.18781/R.MEX.FIT.2104-4>