

IDENTIFICACIÓN Y MANEJO DE HONGOS CAUSANTES DE PUDRICIÓN DE FRUTOS EN CALABAZA PIPIANA (*Cucurbita argyrosperma*)

IDENTIFICATION AND MANAGEMENT OF FUNGI CAUSING FRUIT ROT IN PIPIANA SQUASH (*Cucurbita argyrosperma*)

Díaz Nájera, J.F.¹; Ayvar-Serna, S.^{1*}; Arispe Vázquez, J.L.²; Vargas Hernández, M.³

¹Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero, Iguala de la Independencia, Guerrero, México.

²Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Iguala de la Independencia, Guerrero, México.

³Universidad Autónoma Chapingo. Km. 35.5 Texcoco-México. C. P. 56230.

* E-mail: ayvar.serna@csaegro.edu.mx

Fecha de envío: 30, mayo, 2025

Fecha de publicación: 10, diciembre, 2025

Resumen:

La pudrición de frutos es el principal problema fitopatológico del cultivo de calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma*) en el estado de Guerrero. En muestreos de campo realizados en dos localidades (Chilapa y CSAEGro) durante el año 2011, se identificó morfológica y molecularmente a *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii* en frutos. Las pruebas de patogenicidad mostraron que los hongos son agentes causales de la pudrición de los frutos. Adicionalmente, se evaluaron en campo diversos fungicidas químicos y biológicos para control de los patógenos identificados en tres genotipos (Apipilulco, Chilapa y Santa Teresa). En diferentes etapas de desarrollo fisiológico del cultivo se evaluaron entre otras, las variables siguientes: diámetro del cuello, longitud de guía, número de guías, número de frutos sanos, y dañados a los 60 días, número de frutos sanos y dañados cosechados, y rendimiento de semilla (kg ha^{-1}). En la mayoría de las variables estudiadas, los fungicidas Pentaclor*600F, Previcur®Energy y PHC®Biopak-F®, para los genotipos Apipilulco y Santa Teresa, en la localidad Chilapa, mostraron ser los más efectivos.

Palabras clave: Diagnóstico, control, pudrición de fruto, patógenos del suelo.

Abstract:

Fruit rot is the main phytopathologic problem of pipiana pumpkin (*C. argyrosperma*) crop in the state of Guerrero, Mexico. In field surveys conducted at two locations (Chilapa and CSAEGro) in 2011, the fungi *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* and *Sclerotium rolfsii* were morphological and molecularly identified in fruits. Pathogenicity tests showed that the fungi were the causal agents of fruit rot. Additionally, several chemical and biological fungicides were evaluated in field experiments using three genotypes (Apipilulco, Chilapa, and Santa Teresa). During different crop development stages, among others, the following variables were evaluated: neck diameter, length and number of guides, number of healthy and damaged fruits at the 60 days, number of healthy and damaged fruits harvested, and seed yield (kg ha^{-1}). In almost all of the variables studied the fungicides Pentaclor*600F, Previcur®Energy and PHC®Biopak-F® were the most effective for the Apipilulco and Santa Teresa genotypes in the location Chilapa.

Keywords: Diagnosis, control, fruit rot, soil pathogens.

INTRODUCCIÓN

La familia *Cucurbitaceae* incluye 118 géneros y 825 especies, y México es uno de los centros de diversidad más importantes, las cucurbitáceas han tenido un importante papel cultural y económico. La calabaza pipiana (*Cucurbita argyrosperma*) es un cultivo importante en el estado de Guerrero, siendo uno de los principales estados productores de semilla a nivel nacional (SIAP, 2018). En algunas zonas del estado de Guerrero, se cultiva calabaza pipiana en suelos planos, pesados y mal drenados, que se conjuntan con el hábito de crecimiento rastrero e indeterminado del cultivo, para generar un microclima con condiciones óptimas para el ataque de hongos fitopatógenos habitantes del suelo, como *Fusarium*, *Macrophomina*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia*, *Sclerotium* y otros, que pudren frutos y causan pérdidas importantes en el rendimiento, disminuyendo los ingresos económicos de los productores dedicados a esta actividad (Díaz et al., 2014). Los patógenos se controlan normalmente con fungicidas sistémicos, los cuales son compuestos capaces de penetrar la cutícula de las hojas y dispersarse en la planta, se caracterizan por sus propiedades protectoras y curativas, muy efectivos a bajas concentraciones para el control de la enfermedad durante largos períodos de tiempo (Gisi y Sierotzki, 2008). Sin embargo, su uso excesivo ha provocado contaminación ambiental y así mismo su eficacia disminuye con el paso del tiempo, debido a la evolución de patógenos resistentes (Bartlett et al., 2002). Por lo anterior,

recientemente ha crecido la tendencia del control de enfermedades de las plantas sin utilizar productos químicos. Se han utilizado otras alternativas, incluido el uso de microorganismos para el control biológico; esta práctica se basa en el uso de organismos enemigos naturales de una plaga o patógeno, con el fin de reducir o eliminar sus efectos dañinos en las plantas o en sus productos (Yang et al., 2012). Se han usado hongos de los géneros *Trichoderma*, *Gliocladium*, *Streptomyces*, *Coniothyrium* y *Candida*, así como bacterias de los géneros *Pseudomonas*, *Bacillus* y *Agrobacterium* (Harman et al., 2010; Pliego et al., 2011). Sin duda la mejor estrategia para el control de las enfermedades, es el manejo integrado. En base a lo anterior, los objetivos de esta investigación fueron: i) Identificar morfológica y molecularmente a los agentes causales de la pudrición de frutos de calabaza pipiana, ii) Evaluar alternativas de control químico y biológico contra hongos asociados a la pudrición de frutos de calabaza pipiana, en tres genotipos y dos localidades.

MATERIALES Y MÉTODOS.

Identificación morfológica de hongos presentes en frutos de calabaza pipiana.

Durante los meses de agosto y septiembre del 2011 se recolectaron frutos de *C. argyrosperma*, con diferentes síntomas y nivel de pudrición, en dos sitios de cultivo. El primero fue el campo experimental del Colegio Superior Agropecuario del Estado de Guerrero (CSAEGro), localizado en el municipio de Cocula, en el norte del estado de Guerrero, ubicado geográficamente a 18° 19' latitud norte y 99° 39' longitud oeste, a una altitud de 640 m. El segundo se ubicó en el municipio de Chilapa de Álvarez, Gro., en el centro de la entidad y localizado geográficamente entre los 17° 17' 40" y 17° 40' 55" de latitud norte, y los 98° 53' 44" y 99° 17' 11" de longitud oeste, con una altitud de 1420 m. El tamaño de muestra y tipo de muestreo se realizó bajo la metodología propuesta por Pedroza (2009), se utilizó un muestreo sistemático en transecto en W. Los síntomas considerados fueron: lesiones acuosas hundidas de color pardo a marrón; pigmentaciones rojizas a violáceas, podredumbres secas pardas y esponjosas con un halo blanco; manchas acuosas hundidas con crecimiento de micelio blanco en la parte inferior y superior del fruto; frutos con micelio blanco algodonoso tipo nido (donde el fruto está en contacto con el suelo) y con esclerocios (Zitter et al., 2004).

De los frutos de calabaza con síntomas y signos de pudrición, se tomaron 5 trozos de tejido de 0.5 cm² de la zona de avance de la enfermedad, se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 1.5% por dos minutos; se lavaron tres veces consecutivas con agua destilada estéril; se sembraron 100 muestras de tejido en cajas Petri con los medios de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) y jugo de verduras-Agar (V8-Agar), elaborados según Singlenton et al. (1992). Cada colonia desarrollada se separó y se purificó por cultivo monozoospórico y punta de hifa. De las cepas puras del último re-aislamiento se hicieron preparaciones permanentes para observar al microscopio compuesto las características morfológicas de los agentes causales. Se midió el largo y ancho de 30 estructuras sexuales y asexuales representativas de cada aislamiento (hifas y esporangios). La identificación a nivel género se realizó siguiendo las claves de Sneh et al. (1991); Singlenton et al. (1992); Barnett y Hunter (1998); Wantanabe (2002).

Pruebas de patogenicidad.

Se utilizaron 20 frutos en etapa de cosecha del genotipo criollo Apipilulco, se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 1.5% por dos minutos y se lavaron con agua destilada estéril, para cada aislamiento se utilizó un fruto como unidad experimental, con cuatro repeticiones. Los aislamientos se cultivaron en PDA o V8-Agar para el incremento de inóculo. Después de 15 días de crecimiento, se prepararon suspensiones de inóculo en agua destilada estéril; se ajustaron las concentraciones a 4×10^6 zoosporas mL⁻¹, 8×10^5 y 5×10^6 UFC mL⁻¹. Cada fruto se inoculó mediante aspersión con 2.5 mL de su correspondiente suspensión; en esta etapa de la investigación se utilizaron las técnicas descritas por Singlenton et al. (1992) para el aislamiento uno; Ramírez y Romero (1980) para el aislamiento dos y Singlenton et al. (1992) para los aislamientos tres, cuatro y cinco. Como tratamiento control se utilizaron 5 frutos, los cuales se inocularon con agua destilada estéril con el mismo procedimiento. Los 25 frutos inoculados se colocaron en charolas de unicel de 60×40 cm, desinfestadas con etanol al 70%. Se incubaron a 26°C y 80 % de humedad relativa, los síntomas se registraron diariamente por ocho días. De las zonas de avance de los hongos en los tejidos dañados, se tomaron 10 muestras de 0.5 cm² y se desinfestaron con hipoclorito de sodio al 1.5 % durante 2 min, posteriormente se lavaron tres veces consecutivas con agua destilada estéril y

se sembraron en los medios de cultivo PDA y V8-Agar. Las características morfológicas de las colonias y hongos re-aislados se compararon con las originalmente inoculadas, para comprobar los postulados de Koch. Los hongos re-aislados, se purificaron e incubaron durante 15 días en medios de cultivo V8-Agar y PDA para la extracción de ADN.

Identificación molecular.

La extracción de ADN se realizó a partir de 50 a 100 mg de micelio utilizando el kit DNeasyMR, siguiendo el procedimiento del fabricante (Qiagen, 2012). El procedimiento fue repetido 4 veces por hongo. Se realizaron reacciones de PCR universal para hongos con los oligos ITS-1fu 5'-tccgttagtgAACCTGCGG-3' y ITS-4 5'-tcctccgcttattgatatgc-3' (White et al., 1990); los cuales amplifican un espaciador intergénico interno (ITS) y generan un producto de talla variable entre 500 y 900 pares de bases (pb) aproximadamente. Esta práctica se realizó con una mezcla de reacción en un volumen de 25 µL, cuyos componentes finales fueron: amortiguador de reacción 1X, MgCl₂ 2 mM, dNTP's 200 nM de cada uno, 20 pmoles de cada oligonucleótido y 1 unidad de Taq DNA polimerasa (Promega). El programa térmico consistió en mantener una temperatura de 94 °C durante 2 min, seguido de 35 ciclos a 94-55-72 °C durante 30-30-60 seg y una extensión final de 5 min a 72 °C. Los productos de las reacciones de PCR fueron separados por electroforesis en geles de agarosa a 1.5%, las bandas se observaron en un transiluminador de luz ultravioleta marca UVP y se tomaron fotografías. Los fragmentos amplificados por PCR fueron secuenciados directamente y se compararon los resultados con las secuencias disponibles en el banco de genes (Gen Bank) del Centro Nacional de Información Biotecnológica (NCBI) del Instituto Nacional de Salud (NIH) de Estados Unidos.

Análisis filogenético.

Se alinearon nueve secuencias de nucleótidos de ADN, correspondientes a la región parcial del espacio interno transcripto 1, 5.8S del ARN ribosomal y el espacio interno transcripto 2. Las secuencias corresponden a tres generadas en el presente estudio, KJ652220.1 *Phytophthora capsici* Capip1, KJ652222.1 *Athelia rolfsii* Capip3 y KJ652221.1 *Rhizoctonia solani* Capip2, mientras que las seis restantes fueron

obtenidas a través de la base de datos de GenBank, MH842162.1 *Phytophthora capsici* JS8, GU564665.1 *Phytophthora tropicalis* CADN23, KY446394.1 Athelia rolfsii SPL15001, GU567775.1 *Sclerotium delphinii* CBA-HW05, JF792354.1 Rhizoctonia solani AG2-1 y MF070568.1 *Thanatephorus cucumeris* AG-2-1 SHX-LLSY-6, la cual fue utilizada para el enraizamiento del árbol. El alineamiento de las nueve secuencias consistió en una extensión total de 348 bases. Las características descriptivas del alineamiento fueron: 124 sitios conservados y 223sitios variables, de los cuales 222 son sitios parsimonio informativos y 1 sitio Singleton. Esto se realizó mediante el programa MEGA 7.026 (Kumar et al., 2016). Se utilizó el método de máxima parsimonia para la reconstrucción filogenética. El análisis consideró que todos los caracteres presentes tuvieran el mismo valor y los espacios vacíos presentes entre las secuencias alineadas (GAP) se consideraron como datos perdidos (“complete deletion”). Para obtener los árboles más parsimoniosos se utilizó una búsqueda heurística con 1000 repeticiones de adición de taxones al azar y un intercambio de bifurcaciones de biseción-reconexión de árboles; se guardaron los mejores ocho árboles en el análisis. Se aplicó una prueba de remuestreo “bootstrap” de 1000 repeticiones para estimar el nivel de confianza de la topología del árbol de consenso. Este análisis se realizó mediante el programa PAUP* 4.0 b10 (Swofford, 2002).

Experimentos de campo.

Con la finalidad de poder comparar el desempeño de los tres criollos de calabaza y evaluar los productos químicos y biológicos propuestos bajo diferentes condiciones agroecológicas, se realizó un experimento de campo en dos localidades del estado de Guerrero, durante el ciclo Primavera-Verano del 2012. Se utilizaron tres genotipos de calabaza pipiana comúnmente utilizados en la región (Apipilulco, Chilapa y Santa Teresa). Los tratamientos se describen en el Cuadro 1. Se hicieron dos aplicaciones, con una bomba aspersora de mochila de 15 L marca Swissmex. Las aplicaciones se realizaron a los 20 (inicio de la floración) y 35 días después de la emergencia (dde) con un gasto de agua de 300 L ha⁻¹.

Cuadro 1. Evaluación de productos contra hongos fitopatógenos en calabaza pipiana.

Table 1. Evaluation of products against phytopathogenic fungi in pipiana squash.

No.	Tratamiento foliar	Ingrediente activo	Dosis L ⁻¹
1	Benomil	benomilo	1.25 g
2	Previcur®Energy	propamocarb + fosetyl	6 mL
3	Pentaclor*600F	quintozeno	7.5 mL
4	Ridomil Gold® Bravo SC	metalaxil + clorotalonil	6 mL
5	PHC ®Biopak-F®	<i>Bacillus</i> spp., <i>Streptomyces</i> spp., <i>Trichoderma</i> spp.	3 g
6	Q 2000	Yodo libre	5 mL L ⁻¹
7	PHC ® Root Mate®	<i>T. virens</i> cepa G-41	3 g L ⁻¹
8	<i>Trichoderma</i> cepa CSAEGro	<i>T. asperellum</i>	1×10 ⁸ UFC mL ⁻¹
9	<i>Trichoderma</i> cepa CHILAPA	<i>T. asperellum</i>	1×10 ⁸ UFC mL ⁻¹
10	Testigo	Sin aplicación	--

Variables evaluadas.

Se evaluaron el número de frutos sanos cosechados en 30 m² (frutos que llegaron a la cosecha sin ningún daño); número de frutos dañados cosechados en 30 m² (frutos con algún síntoma o nivel de daño por hongos); rendimiento de semilla en kg ha⁻¹.

Diseño experimental.

En cada uno de los sitios, se utilizó un diseño experimental de parcelas divididas, con parcelas grandes arregladas como bloques completos al azar y parcelas chicas arregladas completamente al azar. Las parcelas grandes correspondieron a los genotipos y las parcelas chicas a los tipos de control (control químico y/o biológico); para cada experimento se utilizaron cuatro repeticiones. La unidad experimental estuvo constituida por 24 plantas, y por las características del cultivo se consideró a toda la unidad experimental como parcela útil. A los datos obtenidos de las diferentes variables de estudio, se les realizaron análisis de varianza individuales para cada uno de los sitios y combinados a través de los 2 sitios. De igual forma, se efectuaron pruebas de comparaciones múltiples de medias utilizando el método de la Diferencia Mínima Significativa (LSD) con nivel de significancia al 5% y contrastes ortogonales para comparar el grupo de tratamientos químicos contra el grupo de tratamientos biológicos. Todos los análisis estadísticos se realizaron con el software Statistical Analysis System.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las colonias de las cepas aisladas de los frutos inoculados mostraron características culturales diferentes en cuanto a pigmentaciones y crecimiento micelial; se obtuvieron colonias blanco algodonosas y otras con micelio castaño; similar a los aislamientos originales. Aislamiento 1. Mostró esporangios de 20-50×15-42.5 μm , papila 06.02 a 07.05 μm de ancho, 1.2-6 μm de profundidad, clamidosporas de 35 μm de diámetro. Por las características de este hongo se trató de *Phytophthora capsici* (Singlenton et al., 1992; Wantanabe, 2002). Aislamiento 2. Las características de este aislamiento fueron hifas de 5-8 μm de ancho, ramificaciones de hifas aproximadamente en ángulo recto, con una constrictión en la unión de las ramificaciones cerca de su sitio de origen y esclerocios de 1-3 mm de diámetro, típico de *Rhizoctonia solani* (Sneh et al., 1991; Wantanabe, 2002). Aislamiento 3. Este hongo presentó hifas principales de 4.5-8 μm de diámetro, con conexiones en argolla que dan lugar a hifas secundarias y terciarias, con diámetro de 2-4.5 μm , y esclerocios esféricos de 0.5-2 mm. Por las características encontradas se trata de *Sclerotium rolfsii* (Barnnett y Hunter, 1998; Wantanabe, 2002).

Identificación molecular.

El producto de PCR del aislamiento dos de *P. capsici* fue de 786 pb que concuerda con una secuencia completa de la región ITS, cuya alineación coincidió con *P. capsici* con número de accesión KC311834.1 y con 95% de índice de similitud. Las regiones internas ITS del aislamiento tres perteneciente a *R. solani* fueron de 700 pb y perteneció a la secuencia de *R. solani* con número de accesión JX050241.1 y un índice de similitud de 99%. En el caso de *S. rolfsii* siendo el aislamiento cuatro, el producto obtenido fue de 666 pb y coincidió con una secuencia alineada con el teleomorfo *A. rolfsii* con número de accesión KC894858.1 y un índice de similaridad de 99%.

Análisis filogenético.

Se generó un total de 5190 árboles con una longitud de pasos de 276, índice de consistencia (CI) de 1.0, índice de homoplasia de 0.0 e índice de retención de 1.0. Se retuvieron ocho árboles como los más parsimoniosos. El árbol consenso estricto

mostró la agrupación de los ejemplares de acuerdo con el género y la especie correspondiente; obteniéndose tres subgrupos: *Phytophthora*, *Athelia* y *Rhizoctonia* (bootstrap= 100) (Figura 1). El Árbol consenso estricto región parcial del espacio interno transrito 1, 5.8S del ARN ribosomal y el espacio interno transrito 2, generado con el método de máxima parsimonia, 1000 búsquedas heurísticas y prueba de bootstrap de 1000 repeticiones. El árbol incluye tres ejemplares del género *Phytophthora* (KJ652220.1, MH842162.1, GU564665.1), dos del género *Athelia* (KJ652222.1, KY446394.1), dos del género *Rhizoctonia* (KJ652221.1, JF792354.1), uno del género *Sclerotium* (GU567775.1) y una del género *Thanatephorus* (MF070568.1), para enraizar el árbol. Los valores de “bootstrap” 100 se encuentran por debajo de las ramas principales (Figura 1).

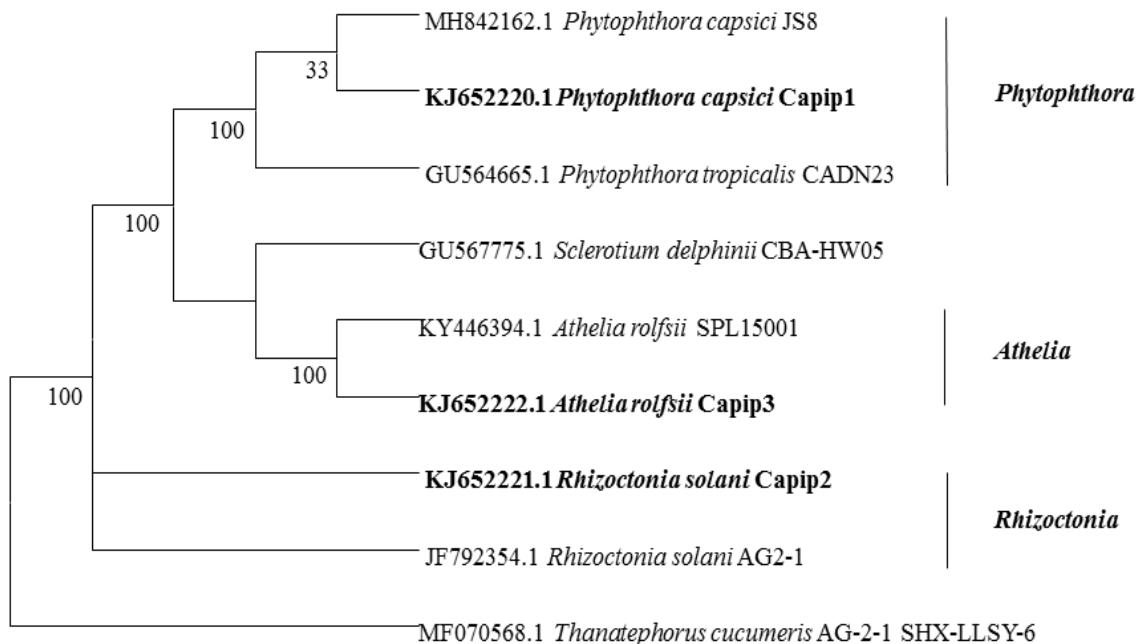


Figura 1. Árbol consenso estricto basado en ITS (ITS1, 5.8S, ITS2) obtenido por máxima parsimonia.

Figure 1. Strict consensus tree based on ITS (ITS1, 5.8S, ITS2) obtained by maximum parsimony.

Experimentos en campo.

Número de frutos sanos cosechados en 30 m². Sólo se encontró significancia para los tratamientos ($P<0.0001$); en las comparaciones de medias solo el testigo se diferenció de los productos químicos y/o biológicos, obteniéndose la menor cantidad de frutos sanos (21.82, Figura 2), para el testigo. Aún cuando los otros tratamientos no resultaron significativamente diferentes entre sí, el mayor promedio se obtuvo con el producto PHC ®Biopak-F® (38.54, Figura 2). Por otro lado, aunque no existió diferencia significativa para los genotipos y sitios, se cosecharon más frutos sanos en las plantas del criollo Santa Teresa (36.38, Cuadro 3) y el sitio Chilapa (37.15, Cuadro 3). Los resultados obtenidos demuestran que con la combinación de diferentes microorganismos biocontroladores, se potencializa el control de fitopatógenos en el cultivo de calabaza pipiana, y este efecto influyó en la cosecha de más frutos sanos por unidad de superficie cultivada. Estos resultados positivos coinciden con la información reportada con diferentes microorganismos biocontroladores contenidos en el producto comercial PHC ®Biopak-F® (Woo y Kim, 2008).

Número de frutos dañados cosechados en 30 m².

Esta característica presentó diferencias significativas para los tratamientos ($P<0.0001$), y para sitios ($P=0.0070$). En la comparación múltiple de medias, el tratamiento PHC ®Biopak-F® obtuvo el menor número de frutos dañados con 2.19 (Figura 2). Chilapa obtuvo menos frutos dañados con 1.08 (Cuadro 3). Aunque no existieron diferencias significativas para genotipos, Apipilulco presentó el menor valor de frutos dañados (3.74, Cuadro 3). Existe evidencia de que los microorganismos biocontroladores incluidos en el producto PHC ®Biopak-F®, son eficaces, porque las bacterias que contienen, suprimen el desarrollo de hongos fitopatógenos (Lim y Kim, 2010).

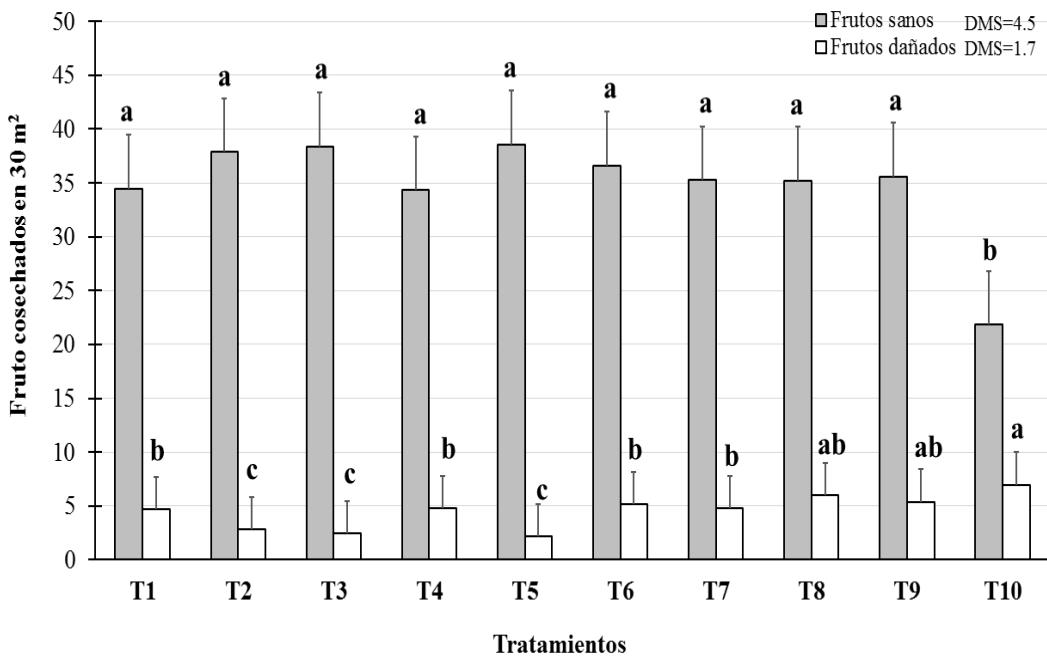


Figura 2. Número de frutos sanos y dañados cosechados en 30 m² por tratamiento. DMS: diferencia mínima significativa al 5%. T1: Benomil; T2: Previcur®Energy; T3: Pentaclor*600F; T4: Ridomil Gold® Bravo SC; T5: PHC®Biopak-F®; T6: Q 2000; T7: PHC®Root Mate®; T8: *Trichoderma* cepa CSAEGro; T9: *Trichoderma* cepa CHILAPA; T10: Testigo.

Figure 2. Number of healthy and damaged fruits harvested in 30 m² per treatment. DMS: least significant difference at 5%. T1: Benomyl; T2: Previcur®Energy; T3: Pentaclor*600F; T4: Ridomil Gold® Bravo SC; T5: PHC®Biopak-F®; T6: Q 2000; T7: PHC®Root Mate®; T8: *Trichoderma* strain CSAEGro; T9: *Trichoderma* strain CHILAPA; T10: Control.

Rendimiento de semilla en kg ha⁻¹.

Este componente es el de mayor interés, determina la productividad y rentabilidad que puede generar este cultivo. Se encontró diferencia significativa sólo para los tratamientos ($P<0.0001$). La prueba de comparación múltiple de medias detectó los rendimientos más altos para los siguientes tratamientos (Figura 3): Pentaclor*600F (787.72 kg ha⁻¹) y PHC ®Biopak-F® (768.16 kg ha⁻¹). A pesar de no haber encontrado diferencia significativa para sitios y para genotipos, Chilapa registró un rendimiento de semilla de 789.20 kg ha⁻¹, mayor que para CSAEGro, mientras que el genotipo Apipilulco fue el de mayor rendimiento, con 675.26 kg ha⁻¹ (Cuadro 4).

El efecto positivo de quintozeno se debe a que afecta la integridad de la membrana y pared celulares, así como las mitocondrias en los hongos fitopatógenos, disminuyendo la formación de esclerocios y propágulos infecciosos (Latin, 2011).

Varios microorganismos usados en este trabajo tales como *Bacillus subtilis* y *Streptomyces* spp., han demostrado un satisfactorio biocontrol en varios hongos fitopatógenos habitantes del suelo, de géneros encontrados en el diagnóstico de patógenos del presente trabajo (Zhang et al., 2009).

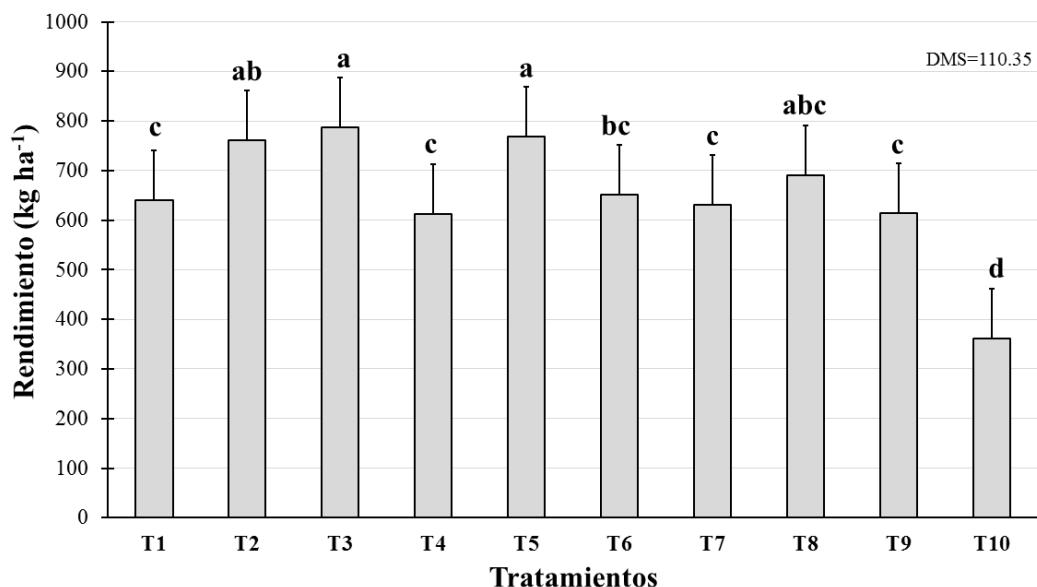


Figura 3. Rendimiento de semilla (kg ha⁻¹) por tratamiento. DMS: diferencia mínima significativa al 5%. T1: Benomil; T2: Previcur®Energy; T3: Pentaclor*600F; T4: Ridomil Gold® Bravo SC; T5: PHC®Biopak-F®; T6: Q 2000; T7: PHC®Root Mate®; T8: Trichoderma cepa CSAEGro; T9: Trichoderma cepa CHILAPA; T10: Testigo.

Figure 3. Seed yield (kg ha⁻¹) per treatment. DMS: least significant difference at 5%. T1: Benomyl; T2: Previcur®Energy; T3: Pentaclor*600F; T4: Ridomil Gold® Bravo SC; T5: PHC®Biopak-F®; T6: Q 2000; T7: PHC®Root Mate®; T8: Trichoderma strain CSAEGro; T9: Trichoderma strain CHILAPA; T10: Control.

CONCLUSION

En este estudio, los hongos causantes de la pudrición de frutos de calabaza pipiana identificados morfológicamente fueron *Phytophthora capsici*, *Rhizoctonia solani* y *Sclerotium rolfsii*. Molecularmente y basado en la secuenciación del ADN se identificaron las mismas especies. Los tratamientos Pentaclor*600F, Previcur® Energy y PHC ®Biopak-F®, con los genotipos Apipilulco y Santa Teresa, en el sitio Chilapa, mostraron los resultados más sobresalientes en la mayoría de las variables estudiadas.

LITERATURA CITADA

- Barnett, H., & Hunter, B. (1998). *Illustrated genera of imperfect fungi* (4^a ed., 217 p.). The American Phytopathological Society.
- Bartlett, D. W., Clough, J. M., Godwin, J. R., Hall, A. A., Hamer, M., & Parr-Dobrzanski, B. (2002). The strobilurin fungicides. *Pest Management Science*, 58(7), 649–662. <https://doi.org/10.1002/ps.520>
- Gisi, U., & Sierotzki, H. (2008). Fungicide modes of action and resistance in downy mildews. *European Journal of Plant Pathology*, 122, 157–167. <https://doi.org/10.1007/s10658-008-9290-5>
- Harman, G. E., Obregón, M. A., Samuels, G. J., & Lorito, M. (2010). Changing models for commercialization and implementation of biocontrol in the developing and the developed world. *Plant Disease*, 94(8), 928–939. <https://doi.org/10.1094/PDIS-94-8-0928>
- Kumar, S., Stecher, G., & Tamura, K. (2016). MEGA7: Molecular evolutionary genetics analysis version 7.0 for bigger datasets. *Molecular Biology and Evolution*, 33(7), 1870–1874. <https://doi.org/10.1093/molbev/msw054>
- Latin, R. (2011). *Practical guide to turfgrass fungicides* (270 p.). APS Press.
- Lim, J. H., & Kim, S. D. (2010). Biocontrol of *Phytophthora* blight of red pepper caused by *Phytophthora capsici* using *Bacillus subtilis* AH18 and *B. licheniformis* K11 formulations. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 53(6), 766–773. <https://doi.org/10.3839/jksabc.2010.116>
- Nájera, J. F. D., Hernández, M. V., Serna, S. A., Gómez, O. G. A., Aguilar, J. F. S., Ramírez, J. A. D., ... & Aguilar, A. H. (2014). Identificación morfológica y por PCR de *Rhizoctonia solani* Kühn a partir de frutos de calabaza pipiana y su manejo en invernadero. *Biotecnia*, 16(3), 17–21.
- Pedroza, S. A. (2009). Monitoreo y escalas visuales en la evaluación de las enfermedades. En M. N. Bautista, R. L. Soto, & P. R. Pérez (Eds.), *Tópicos selectos de estadística aplicados a la fitosanidad* (p. 256). Colegio de Postgraduados.
- Pliego, C., Ramos, C., Vicente, A., & Cazorla, F. M. (2011). Screening for candidate bacterial biocontrol agents against soilborne fungal plant pathogens. *Plant and Soil*, 340, 505–520. <https://doi.org/10.1007/s11104-010-0615-8>
- Ramírez, V. J., & Romero, C. S. (1980). Supervivencia de *Phytophthora capsici* Leo., agente causal de la marchitez del chile. *Agrociencia*, 39, 9–18.
- SIAP. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. (2018). SAGARPA. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. Recuperado de http://www_siap.gob.mx
- Singleton, L. L., Mihail, J. D., & Rush, C. M. (1992). *Methods for research on soilborne phytopathogenic fungi* (264 p.). APS Press.
- Sneh, B., Burpee, L., & Ogoshi, A. (1991). *Identification of Rhizoctonia species* (133 p.). The American Phytopathological Society.

- Swofford, D. L. (2002). *PAUP: Phylogenetic analysis using parsimony (and other methods)* (142 p.). Sinauer Associates.
- Watanabe, T. (2002). *Pictorial atlas of soil and seed fungi: Morphologies of cultured fungi and key to species* (2^a ed., 500 p.). CRC Press.
- White, T. J., Bruns, T., Lee, S., & Taylor, J. (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenies. En M. A. Innis, D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, & T. J. White (Eds.), *PCR protocols* (pp. 315–322). Academic Press.
- Woo, S. M., & Kim, S. D. (2008). Structural identification of siderophore AH18 from *Bacillus subtilis* AH18, a biocontrol agent of *Phytophthora* blight disease in red-pepper. *Korean Journal of Microbiology and Biotechnology*, 36, 326–335.
- Yang, M. M., Xu, L. P., Xue, Q. Y., Yang, J. H., Xu, Q., Liu, H. X., & Guo, J. H. (2012). Screening potential bacterial biocontrol agents towards *Phytophthora capsici* in pepper. *European Journal of Plant Pathology*, 134, 811–820.
- Zhang, J. X., Xue, A. G., & Tambong, J. T. (2009). Evaluation of seed and soil treatments with novel *Bacillus subtilis* strains for control of soybean root rot caused by *Fusarium oxysporum* and *F. graminearum*. *Plant Disease*, 93, 1317–1323. <https://doi.org/10.1094/PDIS-93-12-1317>
- Zitter, T. A., Hopkins, D. L., & Thomas, C. E. (2004). *Plagas y enfermedades de las cucurbitáceas* (88 p.). The American Phytopathological Society.

