



**COLEGIO DE POSTGRADUADOS**  
INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

**CAMPUS MONTECILLO**

POSTGRADO DE FITOSANIDAD  
FITOPATOLOGÍA

**ETIOLOGÍA Y CONTROL DE LA PUDRICIÓN  
DEL COGOLLO DE LA PIÑA**

**LUIS ALFONSO AGUILAR PÉREZ**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA  
OBTENER EL GRADO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS**

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. MÉXICO

2016

La presente tesis titulada: **ETIOLOGÍA Y CONTROL DE LA PUDRICIÓN DEL COGOLLO DE LA PIÑA**, realizada por el alumno: **LUIS ALFONSO AGUILAR PÉREZ**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para obtener el grado de:

**DOCTOR EN CIENCIAS**

**FITOSANIDAD**

**FITOPATOLOGÍA**

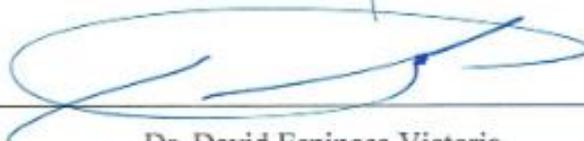
**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO: 

Dr. Daniel Nieto Ángel

ASESOR: 

Dr. Daniel Leobardo Ochoa Martínez

ASESOR: 

Dr. David Espinosa Victoria

ASESOR: 

Dr. Andrés Rebolledo Martínez

ASESOR: 

Dr. Abel Rebouças São José

Montecillo, Texcoco, México, febrero de 2016

# ETIOLOGÍA Y CONTROL DE LA PUDRICIÓN DEL COGOLLO EN PIÑA

Luis Alfonso Aguilar Pérez, D. en C.

Colegio de Postgraduados, 2016

La pudrición del cogollo es una enfermedad que ataca a la piña (*Ananas comosus* L.), causando daños significativos que afectan la calidad y el rendimiento. Se desconoce su agente causal y el manejo integrado es una estrategia para su control. Por ello, los objetivos del trabajo fueron: identificar el agente causal, determinar el método más eficiente de inoculación y evaluar diferentes fungicidas para el control *in vitro*. Además, evaluar los efectos del encalado, acolchado plástico e incorporación de *Crotalaria* sp. en la altura de planta, peso de frutos, rendimiento por hectárea, porcentaje de incidencia de la pudrición del cogollo, población de nematodos y hongos en el suelo, en la localidad de Juan Rodríguez Clara, Veracruz. En el primer trabajo se colectaron plantas con síntomas de pudrición en las localidades de: Juan Rodríguez Clara, Veracruz; Ciudad Isla, Veracruz y Loma Bonita, Oaxaca. El patógeno se identificó morfológicamente y mediante la secuencia ITS del ADNr. Para la inoculación se aplicaron tres concentraciones de inóculo ( $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$ ) en la base y centro del cogollo de la planta de piña “MD-2”. Adicionalmente, se evaluaron siete fungicidas para el control *in vitro* del oomycete. Se utilizó un factorial  $2^3$ , los tratamientos se distribuyeron en un diseño experimental completamente al azar con cuatro repeticiones. En el segundo experimento se utilizó un diseño completamente al azar con un arreglo de parcelas subdivididas. Los resultados indican que el agente causal de la pudrición del cogollo en las tres localidades fue *Phytophthora nicotianae*. La inoculación con  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$  en cogollo es la mejor forma para inocular el patógeno en piña y los fungicidas TCMTB y Metalaxil fueron los que mostraron mayor inhibición micelial en el estudio *in vitro*. El acolchado plástico y la incorporación de *Crotalaria* sp., incrementaron la altura de planta, peso de frutos y rendimiento por hectárea. También se disminuyó el porcentaje de incidencia de la enfermedad y se mantuvo controlada las poblaciones de nematodos y hongos fitopatógenos. Además, favoreció la permanencia de hongos benéficos como *Trichoderma* sp y *Aspergillus* sp.

**Palabras clave:** *Ananas comosus* L., *Crotalaria*, *Phytophthora nicotianae*, MD-2, nematodos y hongos.

## ETIOLOGY AND CONTROL OF THE HEART ROT IN PINEAPPLE

Luis Alfonso Aguilar Pérez, D. en C.

Colegio de Postgraduados, 2016

The heart rot is a disease that attacks the pineapple (*Ananas comosus* L.) producing zones in Mexico, with significant damage affecting quality and yield. The causal agent is unknown and integrated management is a strategy to control the disease. Therefore, the objectives of the research were to identify the causal agent, determine the most efficient method for infection and evaluate different fungicides for *in vitro* control. Additional, to evaluate the effects of liming, plastic mulch and *Crotalaria* in plant height, weight of fruits, yield per hectare, percentage of incidence of rot, fungi and nematode population in the soil in the locality of Juan Rodríguez Clara, Veracruz. In the first study pineapples rot symptoms were collected in the localities of Juan Rodríguez Clara, Veracruz; Ciudad Isla, Veracruz and Loma Bonita, Oaxaca. The disease was analyzed by ITS rDNA sequence. Also, three concentrations of oomycete are applied ( $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$  zoospores  $\text{mL}^{-1}$ ) in based and pineapple bud "MD-2". Additional, seven fungicides were evaluated for controlling oomycete *in vitro*. Factorial  $2^3$  was used, treatments were distributed in a completely randomized experimental design with four replications. In the second experiment, design completely random was used with an arrangement of subdivided parcels. The results indicate that the causal agent of the heart rot in the three locations was *Phytophthora nicotianae*. Applications  $1 \times 10^5$  and  $1 \times 10^6$  zoospores  $\text{mL}^{-1}$  in heart is the best way to inoculate the pathogen in pineapple and TCMTB and Metalaxyl fungicides were those who showed greater inhibition of the fungus *in vitro* studies. The microorganisms identified were: *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Mesocriconema*, *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and Oomycetes. The plastic mulch and *Crotalaria* increases plant height, fruit weight and yield per hectare. In addition, the responses of the *Crotalaria* mentioned above, also decreased the incidence percentage, kept controlled nematode populations and phytophagous fungi. In addition, he favored the permanence of *Trichoderma* and *Aspergillus*, beneficial fungi for pineapple.

**Keywords:** *Ananas comosus* L., *Crotalaria*, *Phytophthora nicotianae*, MD-2, nematodes and fungi.

## DEDICATORIA

*A Dios, Jesús y la Virgen por ser mis guías espirituales y sostén en los momentos difíciles de mi vida.*

*Con todo mi amor a mi esposa María Dolores Sánchez Aguirre por toda su comprensión, cariño, felicidad y apoyo en mis momentos más difíciles, por ser quien constantemente me ha apoyado y me da voz de aliento para salir adelante en cada uno de mis tropiezos*

*A mis hijos Luisito y Leonardito por ser el motivo de mi energía, alegría y éxitos en la vida*

*En especial a mi madre, por ser mi principal ejemplo de vida a quien le debo absolutamente todo lo que tengo y todo lo que soy.*

*A todos mis hermanos por el cariño y amistad que siempre nos ha unido*

*A todos mis sobrinos, familiares y seres queridos que siempre me han apoyado emocionalmente*

## AGRADECIMIENTOS

A **Dios** Todo Poderoso por quien todo fue hecho y porque nos da la oportunidad y la capacidad de conocer un poquito de su inmensa sabiduría.

Al pueblo de México, a través del **Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT)**, por haberme apoyado en la realización de mis estudios de Doctorado, dándome la oportunidad de alcanzar una más de mis metas.

Al **Dr. Daniel Nieto Angel**, quién como maestro y amigo, representó un gran apoyo durante mi formación académica, así como en la realización de la presente investigación.

Agradezco a **Dr. Daniel L. Ochoa Martínez** su apoyo incondicional en la realización de esta tesis.

Al **Dr. David Espinosa Victoria** por el apoyo brindado a esta investigación

Al **Dr. Andrés Rebolledo Martínez** por sus valiosas sugerencias para mejorar este trabajo

**Dr. Abel Rebouças São José** por sus sugerencias durante la realización del trabajo de investigación.

Agradezco a Humberto, Juanito, Migue, Erika, Leti, Japhet, Eli, Paquito, Nadia y a todos los que por espacio no puedo mencionar aquí, por su apoyo en todos los momentos difíciles y por haber compartido grandes momentos de aprendizaje, discusión, paciencia y distracción, así como la gran amistad que encontré en ellos.

A todas aquellas personas que de alguna u otra forma hicieron aportaciones valiosas tanto en mi formación como en mi trabajo de investigación

## CONTENIDO GENERAL

<b>1. INTRODUCCIÓN GENERAL .....</b>	<b>1</b>
<b>2. OBJETIVOS .....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. GENERAL .....</b>	<b>4</b>
<b>2.2. ESPECIFICOS .....</b>	<b>4</b>
<b>3. HIPÓTESIS.....</b>	<b>5</b>
<b>3.1. GENERAL .....</b>	<b>5</b>
<b>3.2. ESPECIFICAS .....</b>	<b>5</b>
<b>CAPITULO I. REVISIÓN DE LITERATURA.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1. Generalidades de la Piña .....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.1. Origen de la Piña.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.2. Clasificación Taxonómica de la Piña.....</b>	<b>6</b>
<b>1.1.3. Ciclo Vegetativo y Propagación.....</b>	<b>7</b>
<b>1.2. Cultivares .....</b>	<b>8</b>
<b>1.2.1. Cayena Lisa .....</b>	<b>9</b>
<b>1.2.2. Híbrido MD-2 .....</b>	<b>9</b>
<b>1.2.3. Champaka.....</b>	<b>10</b>
<b>1.3. Usos del Cultivo .....</b>	<b>10</b>
<b>1.4. Producción Mundial de Piña.....</b>	<b>11</b>
<b>1.5. Rendimiento Promedio Mundial .....</b>	<b>13</b>

1.6.	Principales Países Exportadores de Piña .....	14
1.7.	Principales Países Importadores de Piña .....	15
1.8.	Producción Nacional de Piña .....	16
1.9.	Municipios Productores de Piña en Veracruz .....	19
1.10.	Principales Plagas y Enfermedades en Piña.....	20
1.11.	Nematodos en Piña .....	23
1.11.1.	Interacciones de Nematodos con otros Patógenos.....	25
1.12.	Pudrición del Cogollo ( <i>Phytophthora nicotianae</i> ) .....	26
1.12.1.	Descripción de <i>Phytophthora nicotianae</i> .....	26
1.12.2.	Ciclo de Vida de <i>Phytophthora</i> sp.....	27
1.12.3.	Sintomatología.....	28
1.12.4.	Manejo de la Enfermedad .....	28
1.13.	Cultivos de Cobertura como Estrategia Táctica para el Control de Plagas y Enfermedades .....	29
1.14.	Encalado del Suelo como Estrategia Táctica para el Control de Plagas y Enfermedades .....	32
1.2.	Literatura citada .....	33
<b>CAPITULO II. ETIOLOGÍA Y CONTROL <i>IN VITRO</i> DE LA PUDRICIÓN DEL COGOLLO DE LA PIÑA.....</b>		<b>41</b>
2.1.	<b>RESUMEN.....</b>	<b>41</b>

2.2.	ABSTRACT .....	42
2.3.	INTRODUCCION.....	43
2.4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	44
2.5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	49
2.6.	CONCLUSIONES.....	55
2.7.	BIBLIOGRAFIA.....	55
	<b>CAPITULO III. MANEJO INTEGRADO DE LA PIÑA PARA EL CONTROL DE LA PUDRICIÓN DEL COGOLLO, NEMATODOS Y MICOFLORA .....</b>	<b>59</b>
3.1.	RESUMEN.....	59
3.2.	ABSTRACT .....	60
3.3.	INTRODUCCIÓN.....	61
3.4.	MATERIALES Y MÉTODOS.....	62
3.5.	RESULTADOS Y DISCUSIÓN.....	65
3.6.	CONCLUSIONES.....	78
3.7.	LITERATURA CITADA .....	78
4.	DISCUSIÓN GENERAL .....	85
5.	CONCLUSIONES GENERALES.....	88
6.	LITERATURA CITADA.....	89

## ÍNDICE DE CUADROS

### CAPITULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

<b>Cuadro 1.</b> Clasificación taxonómica de la piña ( <i>Ananas comosus</i> (L.) Merr.).....	7
<b>Cuadro 2.</b> Rendimiento promedio de países con mayores rendimientos de piña al año (t ha <sup>-1</sup> ).....	14
<b>Cuadro 3.</b> Principales países exportadores (t año <sup>-1</sup> ).....	15
<b>Cuadro 4.</b> Principales países importadores (t año <sup>-1</sup> ).....	16
<b>Cuadro 5.</b> Producción nacional de piña en 2014 (SIAP, 2015).....	18
<b>Cuadro 6.</b> Municipios productores de piña en el estado de Veracruz en 2015.....	20
<b>Cuadro 7.</b> Principales plagas de la piña en México (Uriza, 2011; Rebolledo <i>et al.</i> , 2011).....	21
<b>Cuadro 8.</b> Principales enfermedades de la piña en México (Uriza, 2011; Rebolledo <i>et al.</i> , 2011).....	22

### CAPITULO II. ETIOLOGÍA Y CONTROL *IN VITRO* DE LA PUDRICIÓN DEL COGOLLO DE LA PIÑA

<b>Cuadro 1.</b> Tratamientos para evaluar la patogenicidad del oomicete aislado de plantas de piña con pudrición del cogollo.....	47
<b>Cuadro 2.</b> Características generales de los productos evaluados <i>in vitro</i> como posible control del oomicete en estudio.....	48
<b>Cuadro 3.</b> Valores de concentración efectiva que inhibe el 50% del crecimiento micelial (CE <sub>50</sub> ) calculados para fungicidas y <i>Bacillus subtilis</i> en el control <i>in vitro</i> de <i>P. nicotianae</i> .....	54

## ÍNDICE DE FIGURAS

### CAPITULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

<b>Figura 1.</b> Comparativo de la producción mundial de piña por año (Faostat, 2015).....	12
<b>Figura 2.</b> Principales países productores de piña en 2013 (Faostat, 2015).....	13
<b>Figura 3.</b> Producción de piña en México en los últimos seis años (SIAP, 2015).....	17
<b>Figura 4.</b> Principales estados productores de piña en 2014 (SIAP, 2015).....	19
<b>Figura 5.</b> Ciclo de vida de <i>Phytophthora</i> spp.....	27
<b>Figura 6.</b> Síntomas de la pudrición del cogollo en campo.....	28

### CAPITULO II. ETIOLOGÍA Y CONTROL *IN VITRO* DE LA PUDRICIÓN DEL COGOLLO DE LA PIÑA

<b>Figura 1.</b> a) Planta de piña con síntomas de clorosis, amarillamiento y necrosis apical de hojas; b) Síntomas de pudrición en la base de las hojas y desprendimiento con facilidad.....	45
<b>Figura 2.</b> a) Colonia de <i>Phytophthora nicotianae</i> , creciendo en medio de cultivo V8-agar; b) esporangios y micelio con crecimiento aracnoide; c) Esporangio con papila y d) Clamidospora intercalar.....	50
<b>Figura 3.</b> Porcentaje de incidencia de plantas de piña con pudrición del cogollo inoculadas con <i>Phytophthora nicotianae</i> en dos sitios y tres concentraciones de zoosporas mL <sup>-1</sup> . TB: testigo con aplicación de agua destilada estéril en la base de la planta; TC: testigo con aplicación de agua destilada estéril en el cogollo; IBC1: inoculación en la base de la planta con 1x10 <sup>4</sup> zoosporas mL <sup>-1</sup> ; IBC2: inoculación en la base de la planta con 1x10 <sup>5</sup> zoosporas mL <sup>-1</sup> ; IBC3: inoculación en la base de la planta con 1x10 <sup>6</sup> zoosporas mL <sup>-1</sup> ; ICC1:	

inoculación en el cogollo de la planta con $1 \times 10^4$ zoosporas $\text{mL}^{-1}$ ; ICC2:	
inoculación en el cogollo de la planta con $1 \times 10^5$ zoosporas $\text{mL}^{-1}$ ; ICC3:	
inoculación en el cogollo de la planta con $1 \times 10^6$ zoosporas $\text{mL}^{-1}$ . <sup>1</sup> Barras con	
diferente literal son estadísticamente diferentes Tukey ( $\alpha = 0.05$ ).....	52
<b>Figura 4.</b> a) Planta de piña inoculada en el centro del cogollo; b) planta de piña	
inoculada en la base; c) planta testigo con agua estéril en la base de la planta y	
d) planta testigo con agua esteril en el cogollo.....	53
 <b>CAPITULO III. MANEJO INTEGRADO DE LA PIÑA PARA EL CONTROL DE LA</b>	
<b>PUDRICIÓN DEL COGOLLO, NEMATODOS Y MICOFLORA</b>	
<b>Figura 1.</b> Altura de planta de piña en cada tratamiento. Letras distintas en cada par de	
barras de izquierda a derecha, indican diferencia estadística significativa	
(Tukey, $P \leq 0.05$ ).....	66
<b>Figura 2.</b> Peso de fruto promedio por planta de acuerdo a cada tratamiento. Letras	
distintas en cada par de barras de izquierda a derecha, indican diferencia	
estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$ ).....	67
<b>Figura 3.</b> Rendimiento por hectárea de piña de acuerdo a cada tratamiento. Letras	
distintas en cada par de barras de izquierda a derecha, indican diferencia	
estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$ ).....	68
<b>Figura 4.</b> Porcentaje de incidencia mensual de la pudrición del cogollo en piña. a) Con	
o sin tratamiento de encalado, b) con o sin acolchado y c) con o sin <i>Crotalaria</i>	
sp.....	70
<b>Figura 5.</b> Población de nematodos en 300 g de suelo. a) <i>Meloidogyne</i> sp., b)	
<i>Pratylenchus</i> sp., c) <i>Mesocriconema</i> sp. Letras distintas en cada par de barras	

de izquierda a derecha, indican diferencia estadística significativa (Tukey, $P \leq 0.05$ ).....	72
<b>Figura 6.</b> Unidades formadoras de colonia de <i>Trichoderma</i> sp por g de suelo.....	74
<b>Figura 7.</b> Unidades formadoras de colonia de <i>Aspergillus</i> spp., por g de suelo.....	75
<b>Figura 8.</b> Unidades formadoras de colonia de Oomycete por g de suelo.....	76
<b>Figura 9.</b> Unidades formadoras de colonia de <i>Cladosporium</i> spp., por g de suelo.....	77

## 1. INTRODUCCIÓN GENERAL

La piña (*Ananas comosus* L.), es una planta monocotiledónea perteneciente al género *Ananas* de la familia de las bromeliaceae. Es una fruta exótica originaria en Sudamérica y su producción comercial se inició en las Antillas, Brasil y México, pero con el desarrollo tecnológico, la producción se ha expandido en Hawái, Malasia, Taiwán, Filipinas, Australia, Sudáfrica, el Caribe y Kenia (Wijeratnam, 2016). La piña contribuye a más del 20% de la fruta tropical que se produce en el mundo, después del plátano y los cítricos. En el año 2012, la FAO estimó una producción total que asciende a los 23.33 millones de toneladas. Aunque, se cultiva en 85 países, entre los principales productores destacan: Tailandia, Costa Rica, Brasil, Filipinas e Indonesia, juntos producen más del 66% de la producción global. De la exportación de la piña en conserva, Tailandia, Filipinas, Indonesia y Malasia aportan el 75% y 55% en concentrado de jugo. De acuerdo con la FAO, los países productores consumen el 70% de la producción mundial. En México, tanto su consumo como la producción van en aumento, se producen en 12 estados; sin embargo, Veracruz concentra cerca del 70%, destacando la región conocida como la cuenca de Papaloapan (SIAP, 2015). La piña se cultiva en diferentes suelos aireados y bien drenados, con pH que van desde 4.5 hasta 5.5; la planta es una xerofita adaptada para soportar períodos de sequía. En promedio, las plantas de piña necesitan de 1 000 a 1 800 mm de lluvia al año (Rebolledo *et al.*, 2011). La temperatura óptima para el crecimiento vegetativo de la planta es de entre 28 y 32 °C. El acolchado plástico se practica en muchas plantaciones para evitar el crecimiento de malezas alrededor de la planta. Los beneficios que ofrece el acolchado son: la reducción de la erosión del suelo, la pérdida de agua y ayuda a regular la temperatura del suelo. Otras formas de cobertura son las plantas o abonos verdes como la incorporación de *Crotalaria* sp. Los cultivos de cobertura como *Crotalaria juncea* L., acumula biomasa rápidamente,

proporcionando importantes beneficios para el sistema de cultivo, como la reducción de malezas y provee nitrógeno necesario para los cultivos subsiguientes (Cho *et al.*, 2015). Las raíces, tallos, hojas y semillas de *Crotalaria* contienen varios alcaloides deshidro pirrolizidina, los identificados son: junceina, tricodesmina, isohemijunceinas A, B, C y acetilisoemijunceinas I y II. Los alcaloides adicionales que han sido identificados en las semillas incluyen: fidelina, senecionina y senecifilina. Estos alcaloides pueden proporcionar alelopático supresión de algunas especies de malezas (Colegate *et al.*, 2012). Además, varios estudios demuestran que la *Crotalaria* reduce las poblaciones de nematodos fitopatógenos de varios cultivos (McSorley *et al.*, 2009). La planta de la piña se ve afectada por una amplia variedad de plagas y enfermedades; entre estos se encuentran los nematodos (Lacerda *et al.*, 2009). Los géneros predominantes en la región piñera de México se encuentran: *Pratylenchus*, *Meloidogyne*, *Mesocriconema*, *Helicotylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Criconemoides*, *Aphelenchus*, *Radophulos*, *Tylenchus*, *Psilenchus* y *Hoplolaimus* (Domínguez, 2001). Algunos nematodos se asocian con hongos fitófagos que afectan a diversos cultivos de interés (Zahid, 2002). Los hongos fitopatógenos ocupan un lugar importante por los daños que causan a las piñas en diferentes fases del cultivo, desde viveros para la obtención de material de propagación, plantación, tanto plantas en desarrollo como en fructificación y cosecha (Hernández *et al.*, 2011). Dentro del género *Phytophthora* se encuentran una gran diversidad de especies fitopatógenos del suelo que afectan cultivos de importancia económica en diversas regiones el mundo (Vaillant y Gómez, 2009). Por ejemplo, la pudrición del cogollo es un problema frecuente en las zonas productoras de piña en el país. Diversos estudios demuestran que la pudrición del cogollo es afectado por diversos hongos; por ejemplo en Costa Rica y Hawai se reporta que esta enfermedad su agente causal es *Phytophthora nicotianae* y *Phytophthora cinnamomi* (Rohrbach *et al.*, 2003), mientras que en

Thailandia se menciona a *Pythium graminicola* (Pornsuriya *et al.*, 2008). Otros estudios realizados en Hawai revelan que síntomas muy parecidos a la pudrición del cogollo en piña es debido a la presencia de *Erwinia chrysanthemi* (Kaneshiro *et al.*, 2008). En México ésta enfermedad, empezó a extenderse posterior a la introducción del híbrido MD2, debido a la susceptibilidad de este cultivar. Sin embargo, se desconoce el agente causal de esta enfermedad y es por ello, que los piñeros del país aplican constantemente fungicidas sin tener éxito. De esta manera, es necesario identificar el agente causal de la pudrición del cogollo de la piña en México para que así se tomen las medidas correctas para su control. Asimismo, realizar un buen manejo integrado para el cultivo, cuidando la microbiología del suelo debido a la presencia de hongos benéficos que mantienen un equilibrio con otros microorganismos fitófagos en el cultivo.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. GENERAL

Identificar el agente causal de la pudrición del cogollo en piña y determinar la respuesta del encalado, acolchado plástico e incorporación de la *Crotalaria* en el crecimiento y rendimiento del cultivo; además, de las variaciones poblacionales de nematodos, hongos fitófagos y benéficos en el suelo.

### 2.2. ESPECIFICOS

1. Identificar el agente causal de la pudrición del cogollo en piña en la zona productora del papaloapan
2. Determinar el mejor método de inoculación de la pudrición del cogollo en piña.
3. Comparar los diferentes fungicidas para el control *in vitro* de la pudrición del cogollo.
4. Evaluar la cal dolomítica, acolchado plástico e incorporación de la *Crotalaria* y su efecto en la altura de planta, peso de frutos y rendimiento por hectárea.
5. Determinar el porcentaje de incidencia de la pudrición del cogollo con tratamiento de encalado, acolchado plástico y del uso de la *Crotalaria*.
6. Identificar los principales géneros de nematodos, hongos fitófagos y benéficos presentes en piña en la localidad de Juan Rodríguez Clara, Veracruz.
7. Evaluar los efectos del encalado, acolchado plástico y la *Crotalaria* en las poblaciones de nematodos, hongos fitófagos y benéficos en suelo.

### 3. HIPÓTESIS

#### 3.1. GENERAL

El agente causal de la pudrición del cogollo en piña es *Phytophthora nicotianae* y el encalado, la utilización del acolchado plástico, la incorporación de la *Crotalaria* afectan el crecimiento y rendimiento del cultivo y de las poblaciones de nematodos, hongos fitófagos y benéficos.

#### 3.2. ESPECIFICAS

1. El agente causal de la pudrición del cogollo en piña en las tres localidades de la cuenca del Papaloapan es *Phytophthora nicotianae*.
2. El método de inoculación en cogollo es la mejor forma para infectar rápidamente a las plantas de piña.
3. Todos los fungicidas utilizados disminuyen el crecimiento micelial de *Phytophthora nicotianae*.
4. La cal dolomítica, acolchado plástico e incorporación de la *Crotalaria* afectan el crecimiento y rendimiento de la piña.
5. El porcentaje de incidencia de la pudrición del cogollo es afectado por el encalado, acolchado plástico y uso de la *Crotalaria*.
6. Los géneros de nematodos, hongos fitófagos y benéficos son los mismos con lo reportado en otras regiones productoras de piña.
7. El encalado, acolchado plástico y la *Crotalaria* en el sitio de estudio modifican las poblaciones de nematodos fitoparásito, de hongos fitófagos y benéficos en suelo.

## CAPITULO I. REVISIÓN DE LITERATURA

### 1.1. Generalidades de la Piña

#### 1.1.1. Origen de la Piña

Las bromelias (Bromeliaceae) son originarias de América subtropical y tropical, comprenden aproximadamente 56 géneros y 3, 000 especies (Luther, 2004). La piña *Ananas comosus* (L.) Merr es la especie más importante de la familia Bromeliaceae. Los estudios de diversidad sugieren que se originó entre Brasil, norte de Argentina y Paraguay en los bordes meridionales del Amazonas, desde donde se difundió al curso superior del Amazonas, la zona de Venezuela y las Guayanas (Chao *et al.*, 2007).

#### 1.1.2. Clasificación Taxonómica de la Piña

La piña es una planta monocotiledónea perteneciente a la familia de las Bromeliáceas (Cuadro 1). Todos los tipos cultivados de la piña pertenecen al género *Ananas* y en particular a la especie comestible a *comosus* (Bartholomew *et al.*, 2002).

**Cuadro 1.** Clasificación taxonómica de la piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.)

<b>Reino</b>	<b>Vegetal</b>
Subreino	<i>Tracheobionta</i>
División	<i>Magnoliophyta</i>
Clase	Liliopsida
Subclase	<i>Commelinidae</i>
Orden	Bromeliales
Familia	Bromeliácea
Subfamilia:	<i>Bromelioideae</i>
Género	<i>Ananas</i>
Especies	<i>Comosus</i>

### 1.1.3. Ciclo Vegetativo y Propagación

La piña se propaga por vía asexual, ya que presenta una marcada autoesterilidad intravarietal, que impide a que el polen de un mismo clon, variedad o genotipo, fertilice los óvulos de sus propias flores. Al no haber fecundación del óvulo, los frutos se desarrollan de manera partenocárpica y no presentan semillas; además, al no haber recombinación genética durante el proceso de multiplicación vegetativa. Las características originales de la planta-madre son heredadas directamente a sus nuevos descendientes. Por ser un factor que deteriora la calidad y aspecto de la fruta, debe evitarse la presencia de semilla en su pulpa. Este inconveniente ocurre cuando se produce un intercambio de polen (principalmente por insectos) entre plantaciones muy cercanas, de al menos dos clones diferentes que coinciden en sus periodos de floración. Los brotes vegetativos que la misma planta madre emite en forma natural poco antes o posterior a la

cosecha del fruto, son los que se utilizan para el establecimiento comercial de las nuevas plantaciones. Los hay de tres tipos, los cuales se describen a continuación:

- a) **Coronas.** Localizadas en la parte superior del fruto, sólo disponibles para ser utilizadas en plantaciones cuando existe actividad en la agroindustria local. Deben desecharse las coronas múltiples, las muy pequeñas, descogolladas y aquellas que tengan residuos del fruto (a menos que se les retire). Su desarrollo en general es el más lento, pero uniforme, con bajo porcentaje de floración natural prematura.
- b) **Gallos.** Estos crecen y desarrollan a partir de yemas localizadas en el pedúnculo y la base del fruto. Es de vigor intermedio.
- c) **Clavos.** Vástagos que crecen y se desarrollan de yemas axilares en todo el tallo. Por ser más vigorosos, se asocian mayormente a las floraciones naturales que ocurren durante los meses de noviembre a febrero.

Para su adecuado corte y selección, los vástagos se separan de la planta madre cuando estos alcanzan el peso y tamaño requerido, según el tipo de material (gallo o clavo) y mes en que serán sembrados. Normalmente para las siembras de junio a agosto se utilizan vástagos con peso fresco al corte de 200 a 300 g; de septiembre a octubre de 400 a 500g; mientras que de noviembre en adelante, de 600 g o más (Rebolledo *et al.*, 2011).

## 1.2. Cultivares

El cultivar más utilizado en México es ‘Cayena Lisa’ en 80 % de la plantaciones, sin embargo, se está introduciendo el cultivar ‘Champaka’ y el híbrido MD-2 que han dado buenos resultados en los agroecosistemas piñeros del país, al igual que en otras regiones productoras en el mundo (Rebolledo *et al.*, 2006). La introducción de estos cultivares desarrollados por programas de

mejoramiento genético de Hawaii, responde a la necesidad de diversificar (Cunha *et al.*, 1999), debido a que la agroindustria mexicana relacionada con la piña se ha basado únicamente en el cultivar ‘Cayena Lisa (Leal y García, 1993). A continuación se describen los cultivares más importantes en México.

### **1.2.1. Cayena Lisa**

La fruta es de tamaño mediano ovoide 1.5 a 2.5 kg, la pulpa es de color amarillo pálido, es suave y jugosa, con una variación considerable en azúcar de entre 13 - 19 °Brix, acidez alta y bajo contenido de ácido ascórbico. A pesar del alto contenido de azúcar, su acidez es considerada como excesiva entre los consumidores tropicales, lo que ha contribuido en gran parte a la imagen de la piña como una fruta ácida. La planta es de tamaño mediano, entre 80 a 100 cm., de 60 a 80 hojas verde oscuro con pequeñas espinas en su base y en la punta. Es sensible a muchas plagas como: ácaros, sinflidos y nemátodos; además, enfermedades como la pudrición del cogollo, fusariosis, putrefacción del núcleo de la fruta y pardeamiento interno (Bartholomew *et al.*, 2002).

### **1.2.2. Híbrido MD-2**

También llamado “Oro”, “Golden Sweet” ó “Extra Sweet”, fue desarrollado por Del Monte Fresh Produce Inc. en Hawái, de un cruzamiento entre los híbridos del PRI 58-1184 y 59-443 para el mercado de fruta fresca. El cultivar MD-2 tiene fruto grande (1.3 a 2.5 kg), con grandes ojos planos y un intenso color amarillo anaranjado. La pulpa es amarillo claro, dulce, compacta y fibrosa. Tiene un alto contenido de azúcar (15 - 17 °Brix) y de ácido ascórbico, pero más bajo en acidez total que “Cayena Lisa”. El núcleo es blando, comestible y más delgado. Sus hojas son de

color verde amarillo con una punta de color rojizo y son en su mayoría sin espinas. Este cultivar es susceptible a la pudrición del fruto y más sensible a *Phytophthora sp.* (Chan *et al.*, 2002).

### **1.2.3. Champaka**

Es una selección de 'Cayena Lisa' obtenida en la India, con frutos que presentan altos sólidos solubles totales, de color intenso de la pulpa, mayor densidad y mejor forma; además, de tener menor cantidad de espinas en las hojas, que podría desplazar a 'Cayena Lisa' en las principales zonas piñeras del mundo (Jiménez, 1996). Presenta contenido de sólidos solubles totales que va de 12 a 15 °Brix, mientras que 'MD-2' alcanza de 15 a 17 °Brix (Morgan y Thompson, 2000).

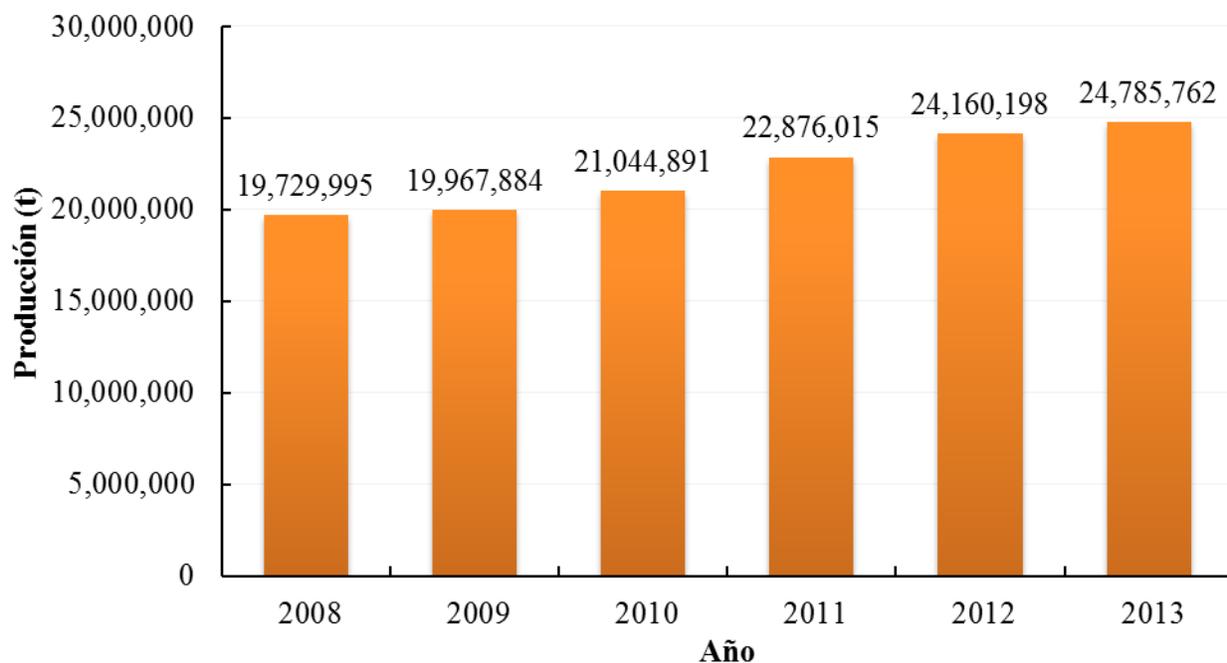
### **1.3. Usos del Cultivo**

La mayor parte de la producción mundial de piña es enlatada. Las rebanadas son el producto más valioso, seguidas del jugo; otros productos son ensaladas de fruta, jarabe de azúcar, alcohol y ácido cítrico. Recientemente, la exportación de piña en fresco hacía países templados se ha incrementado enormemente. En general, se seleccionan para este propósito frutos más pequeños, en un estado temprano a la madurez. El fruto contiene de 80 a 85% de agua, 12 a 15% de azúcares (del cual dos terceras partes se encuentran en forma de sacarosa, el resto en glucosa y fructosa), 0.6% de ácido (del cual 87% es cítrico, el resto es ácido málico), 0.4% de proteínas, 0.5% de cenizas (principalmente, potasio), 0.1% es grasa, fibra y diversas vitaminas (principalmente A y C). El contenido de vitamina C varía de 8 a 30 mg 100 g<sup>-1</sup>. Las hojas de la piña producen una fibra blanca fuerte, de la cual, se elabora la ropa de seda de piña en Filipinas y Taiwán. Se utilizan cultivares especiales para este fin, los cuales se cultivan en altas densidades a la sombra. Los frutos tienen que eliminarse, por lo que no es posible combinar la producción de

la fruta con la de la fibra (Samson, 1991). En México se han realizado investigaciones para la producción de etanol a partir de desechos lignocelulósicos (Barrita y Pacheco, 2010) y de jugo de desecho de piña (Rico, 2009), elaboración de papel artesanal (Hernández, 2008), extracción de fibra textil a partir de la hoja (Goytia *et al.*, 2005) y obtención de bromelina (Gómez, 2007).

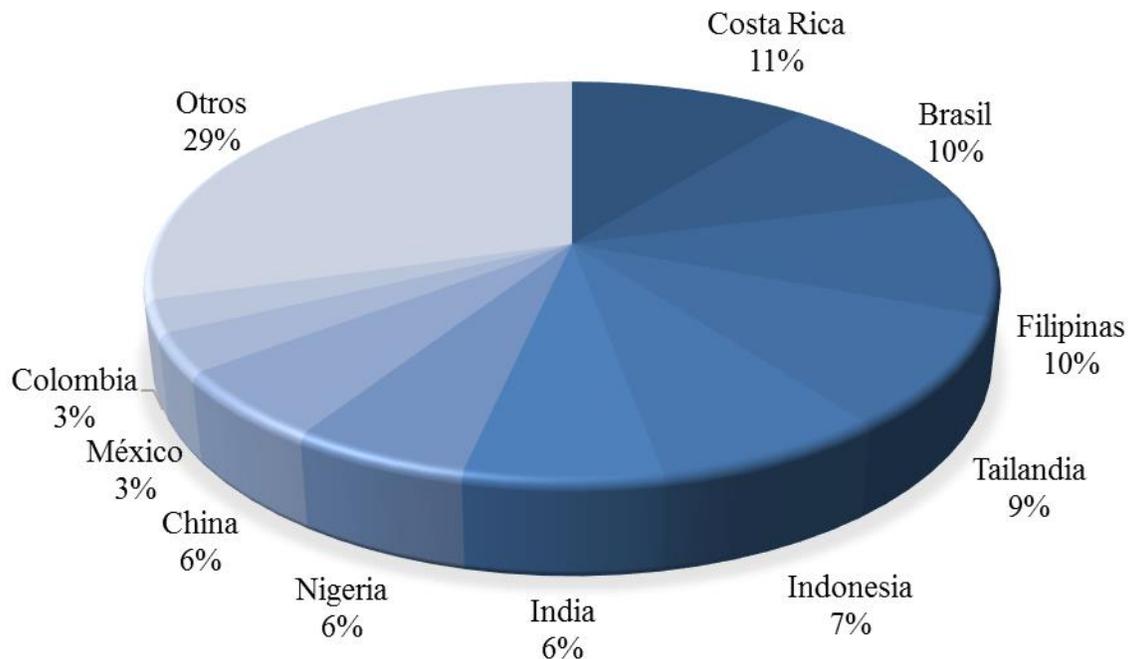
#### **1.4. Producción Mundial de Piña**

La piña *Ananas comosus* (L.) Merr es la tercera fruta tropical más importante en el mundo después del plátano y cítricos (Faostat, 2015). La demanda internacional de la piña sigue en crecimiento principalmente gracias a los hábitos alimenticios de los consumidores americanos y europeos que consideran a esta fruta tropical, como una de las más finas del mundo, destacando en ella su agradable sabor, aroma y su contenido de vitamina C. En el año 2013, la producción ascendió a 24.8 millones de toneladas, observándose un incremento de 625 564 toneladas respecto al año anterior (Figura 1). Desde el 2008 hasta el 2013 se ha mantenido en constante crecimiento en la producción global de la piña (Figura 1).



**Figura 1.** Comparativo de la producción mundial de piña por año (Faostat, 2015).

Tan importante es el cultivo, que se produce en más de 80 países, siendo; Costa Rica con 11%; Brasil, 10%; Filipinas, 10%; Tailandia, 9% e Indonesia, 7%, los principales productores de piña en el año 2013. En este año se tuvo una producción superior a 24.7 millones de toneladas, de la cual, México tuvo una participación del 3%, ubicándose en el noveno lugar con 771, 942 t (Faostat, 2015).



**Figura 2.** Principales países productores de piña en 2013 (Faostat, 2015).

### 1.5. Rendimiento Promedio Mundial

Entre los países con mayor productividad en 2013, destacan Indonesia y Costa Rica, con 114.82 y 59.66 t ha<sup>-1</sup> (Faostat, 2015). México, por su parte, registra rendimientos de 42 a 44 toneladas por hectáreas (Cuadro 2). La variabilidad productiva se debe al nivel tecnológico, material genético de la piña y las condiciones climáticas de cada región donde se produce.

**Cuadro 2.** Rendimiento promedio de países con mayores rendimientos de piña al año (t ha<sup>-1</sup>).

País	Año					
	2008	2009	2010	2011	2012	2013
Indonesia	100.40	123.55	115.84	124.89	104.84	114.82
Costa Rica	49.70	48.65	51.39	54.86	60.84	59.66
Panamá	47.40	51.67	53.83	44.17	52.59	48.84
Colombia	40.80	40.86	39.30	39.45	37.90	44.77
México	42.00	44.05	42.26	42.95	42.91	43.22

### **1.6. Principales Países Exportadores de Piña**

A nivel mundial en el año 2012 se exportaron 3.4 millones de toneladas, que representan el 13.7% de la producción total mundial (Cuadro 3). Las exportaciones de piña a nivel mundial de los años 2008 al 2012 han incrementado en un 16.7%. Cinco países concentran el 90% de las exportaciones mundiales de piña, el principal país exportador fue Costa Rica con 1.8 millones de toneladas, cantidad que representa el 56% de las exportaciones totales, en segundo lugar se ubicó Filipinas con 397 mil toneladas. México ocupó el décimo lugar con 56 405 toneladas, lo que representa el 7.4% de la producción nacional para el mismo año (Faostat, 2015).

**Cuadro 3.** Principales países exportadores (t año<sup>-1</sup>).

País	Año				
	2008	2009	2010	2011	2012
Costa Rica	1 458 975	1 511 458	1 677 702	1 749 363	1 886 003
Filipinas	291 825	209 532	164 650	263 019	397 282
Países Bajos	216 131	188 000	175 193	184 464	214 489
Bélgica	234 123	273 014	229 022	217 359	169 499
EUA	90 512	88 108	99 076	103 300	112 806
México	42 792	49 359	53 648	38 069	56 405
Resto del mundo	550 213	551 233	508 768	590 269	530 733
Total	2 884 571	2 870 704	2 908 059	3 145 843	3 367 217

### 1.7. Principales Países Importadores de Piña

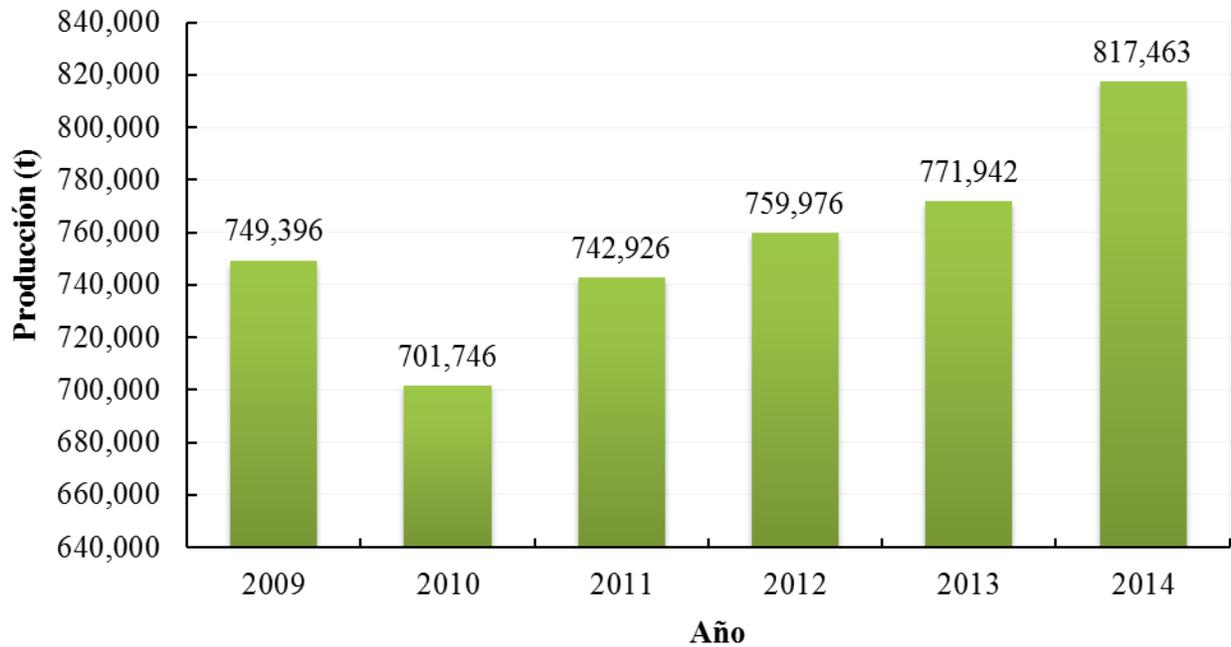
De acuerdo a datos de la FAO, las importaciones de piña en el mercado mundial, alcanzaron 2.9 millones de toneladas en el año 2012, siendo Estados Unidos el principal país importador, con más de 924 mil toneladas, que representa el 32 % del total (Cuadro 4). La demanda de Estados Unidos de esta fruta tropical permanece sólida, con un crecimiento anual a partir del 2009. Le siguen en importancia, Países Bajos, Bélgica, Alemania y Japón, que junto con los Estados Unidos, concentran más del 50 % de las importaciones mundiales de piña. Por su parte, México se posicionó en el sitio 62 con 1 019 t, 334 t más que el año anterior.

**Cuadro 4.** Principales países importadores (t año<sup>-1</sup>).

País	Año				
	2008	2009	2010	2011	2012
EUA	713 584	712 945	815 872	817 131	924 886
Países Bajos	228 079	198 087	213 781	232 850	276 456
Bélgica	309 156	290 252	258 827	232 054	189 552
Alemania	173 060	202 557	183 325	191 956	180 626
Japón	144 464	143 981	142 577	152 864	174 041
Resto del mundo	1 066 434	1 009 716	1 100 002	1 273 204	1 193 900
Total	2 634 777	2 557 538	2 714 384	2 900 059	2 939 461

### 1.8. Producción Nacional de Piña

En el año 2014, México tuvo una superficie cosechada de 18, 961 ha, con una producción de 817, 463 t y un rendimiento promedio nacional de 36.39 t ha<sup>-1</sup> (SIAP, 2015). A partir del 2010 se tuvo un crecimiento constante en la producción de piña; sin embargo, en el 2014 hubo un aumento significativo (Figura 3).



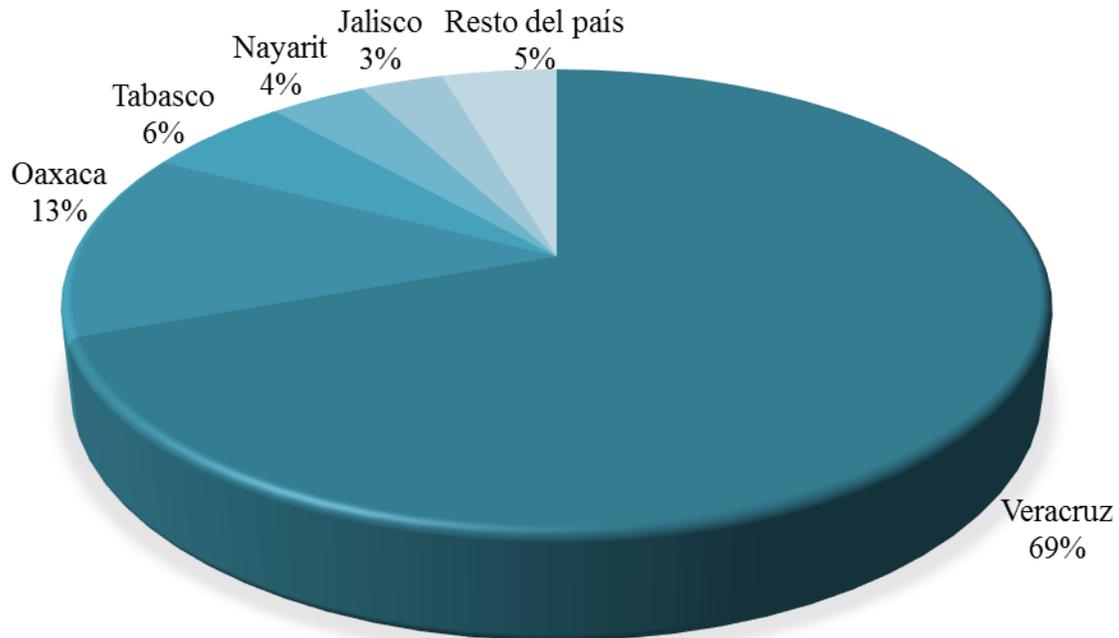
**Figura 3.** Producción de piña en México en los últimos seis años (SIAP, 2015).

De acuerdo con el Sistema de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), son 12 los estados productores de piña en el país, no obstante, Veracruz posee la mayor superficie sembrada con 13 023 ha; con esta superficie aporta 567 534 t y un rendimiento promedio de 43.58 t ha<sup>-1</sup>, muy similar al rendimiento del estado de Quintana Roo (Cuadro 5). Sin embargo, Colima tiene el mayor rendimiento promedio con 78.58 t ha<sup>-1</sup>.

**Cuadro 5.** Producción nacional de piña en 2014 (SIAP, 2015).

Posición	Estado	Superficie cosechada	Producción	Rendimiento
		ha	t	t ha <sup>-1</sup>
1	Veracruz	13 023.00	567 534.00	43.58
2	Oaxaca	1 803.00	107 835.22	59.81
3	Tabasco	1 389.00	47 210.00	33.99
4	Nayarit	1 338.58	31 137.87	23.26
5	Jalisco	477.00	26 701.50	55.98
6	Chiapas	346.00	6 359.00	18.38
7	Quintana Roo	267.00	11 507.00	43.10
8	Colima	226.00	17 760.00	78.58
9	Guerrero	45.00	448.00	9.96
10	Campeche	28.50	688.90	24.17
11	México	12.50	86.13	6.89
12	Tamaulipas	5.00	195.00	39.00

Veracruz y Oaxaca se encuentran en la zona productora de piña por excelencia. A esta región se le conoce como la zona del Bajo Papaloapan o Cuenca del Papaloapan, y abarca los municipios de Medellín, Alvarado, Tlalixcoyan, Villa Isla, Juan Rodríguez Clara, Villa Azueta y Chacaltianguis, los cuales pertenecen al estado de Veracruz; y los municipios de Loma Bonita y Tuxtepec, al estado de Oaxaca. En estos dos estados se concentra el 82% de la producción, pero Veracruz aporta el 69% de la producción nacional (SIAP, 2015) (Figura 4).



**Figura 4.** Principales estados productores de piña en 2014 (SIAP, 2015).

### 1.9. Municipios Productores de Piña en Veracruz

Son 12 los municipios productores de piña en Veracruz (SIAP, 2015). En el 2014, se tuvo una superficie cosecha estatal de 12 823 ha con una producción de 559 134 t, de los cuales tres municipios concentran el 83% de la producción: Juan Rodríguez Clara, 31%; Isla, 27% y José Azueta, 25% (Cuadro 6). El municipio de Juan Rodríguez Clara tiene mayor productividad por superficie, con el  $46 \text{ t ha}^{-1}$ . Los otros dos municipios presentan un rendimiento similar de  $43 \text{ t ha}^{-1}$ . La piña es un cultivo rentable, debido a los productos y subproductos que se generan con la fruta fresca. Su importancia radica en la generación de empleo tanto en el campo como en la industria, lo que aunado a la gran cantidad de insumos requeridos durante su desarrollo, ocasiona una fuerte derrama económica para la región (Rebolledo, 1992).

**Cuadro 6.** Municipios productores de piña en el estado de Veracruz en 2015.

Municipio	Sup. Sem.	Sup. Cos.	Producción	Ren.	PMR	Valor
	(ha)	(ha)	(t)	(t ha <sup>-1</sup> )	(Pesos t <sup>-1</sup> )	Producción (Miles de pesos)
Alvarado	200	200	8 400	42	3 748	31 479
Chacaltianguis	750	750	30 375	41	1 650	50 119
Isla	9 650	3 500	150 650	43	3 418	514 931
Jamapa	25	25	1 053	42	3 739	3 938
José Azueta	9 350	3 250	140 002	43	3 379	473 095
J. Rodríguez Clara	10 420	3 700	170 869	46	3 420	584 343
Mtz. de La Torre	28	28	952	34	3 900	3 713
Medellín	930	930	39 339	42	3 748	147 433
Playa Vicente	200	200	9 020	45	3 327	30 005
Tampico Alto	85	85	2 125	25	2 800	5 950
Tierra Blanca	285	285	11 970	42	3 774	45 171
Tres Valles	70	70	2 779	40	1 700	4 724

### 1.10. Principales Plagas y Enfermedades en Piña

Son considerables los organismos dañinos cuya presencia ha sido confirmada en las principales regiones productoras de piña en México. Entre los más importantes por su orden de aparición en el ciclo, frecuencia, grado de daño e impacto negativo sobre la producción de esta fruta, están los que se muestran en los Cuadros 7 y 8.

**Cuadro 7.** Principales plagas de la piña en México (Uriza, 2011; Rebolledo *et al.*, 2011).

Nombre común	Nombre científico
Comején	<i>Gnathamitermes tubidormans</i>
Gallina ciega	<i>Phyllophaga sp.</i>
Sinfílidos	<i>Scutigerella sakimurai</i>
Piojos harinosos	<i>Dysmicoccus brevipes</i> y <i>Dysmicoccus neobrevipes</i> . Transmisores de los Virus de la Marchitez PMWaV-1, PMWaV-2 y PMWaV-3
Hormigas	<i>Solenopsis geminata</i> y <i>Pheidole megacephala</i> . Protectores y dispersores de los piojos harinosos entre plantaciones.
Ácaro rojo o Araña roja	<i>Dolichotetranychus floridanus</i>
Ácaro blanco o del fruto	<i>Steneotarsonemus ananas</i>
Trips	<i>Thrips tabaci</i> . Transmisor del Virus TSWV
Barrenador del fruto	<i>Thecla basilides</i>
Picudo negro o mexicano de las bromelias	<i>Metamasius callizona</i>
Elaphria	<i>Elaphria nucicolora</i>
Grillo de campo	<i>Acheta assimilis</i>
Escarabajo del fruto podrido	<i>Carpophilus hemipterus</i>
Escama	<i>Diapsis bromelia</i>
Rata café o de campo	<i>Sigmodon hispidus</i>
Langosta	<i>Schistocerca piceifrons</i>
Nematodos	<i>Pratylenchus sp</i> , <i>Meloidogyne sp.</i> ,

**Cuadro 8.** Principales enfermedades de la piña en México (Uriza, 2011; Rebolledo *et al.*, 2011).

---

Nombre común	Nombre científico
Virus de la marchitez roja	PMWaV-1, PMWaV-2 y PMWaV-3.
Pudrición del cogollo	<i>Phytophthora nicotianae</i>
Pudrición negra del tallo	<i>Thielaviopsis paradoxa</i> o <i>Ceratocystis paradoxa</i>
Pudrición bacterial del cogollo	<i>Erwinia chrysanthemi</i>
Mancha blanca de la hoja	<i>Thielaviopsis paradoxa</i> o <i>Ceratocystis paradoxa</i>
Pudrición o colapso bacterial del fruto	<i>Erwinia chrysanthemi</i>
Pudrición del “fruto verde”	<i>Phytophthora cinnamomi</i>
Corchosidad inter-frutillos (IFC)	<i>Penicillium funiculosum</i>
Frutillos “cuerudos” (LP)	<i>Penicillium funiculosum</i>
Pudrición del corazón del frutillo (FCR) u “Ojo de gringa”	<i>Penicillium funiculosum</i> y <i>Fusarium moniliforme</i>
Pudrición negra o blanda del fruto	<i>Thielaviopsis paradoxa</i> o <i>Ceratocystis paradoxa</i>
Pudrición del fruto por levaduras	<i>Saccharomyces</i> sp.
Fruto jaspeado	<i>Erwinia herbicola</i> var. <i>ananas</i> y <i>Acetobacter peroxydans</i>
Virus de la mancha amarilla	TSWV o Virus del Bronceado del Tomate, transmitido por <i>Thrips tabaci</i> y <i>Frankliniella</i> sp.
Mancha café del fruto	Desorden fisiológico.

---

De estas plagas y enfermedades presentadas con anterioridad, las más importantes para la zona piñera de México, específicamente de la Cuenca Baja del Papaloapan se describen a continuación.

### **1.11. Nematodos en Piña**

La piña se considera un cultivo anual susceptible al ataque nematodos fitopatógenos, los cuales constituyen la principal limitación en la mayoría de las zonas productoras del mundo, especialmente en los países tropicales (Malezieux, 2000). Estos microorganismos han causado grandes pérdidas en plantaciones comerciales en Hawai, Puerto Rico, Australia, Costa de Marfil, Guinea, Martinica, México, África del Sur, Filipinas, Panamá, Brasil, Cuba, y Venezuela, entre otros (Jiménez *et al.*, 2001). Por tal motivo, la obtención de cosechas eficientes y de una industria rentable de la piña depende del efectivo manejo de los nematodos (Gianessi *et al.*, 2002). Reportes procedentes de diferentes partes del mundo han señalado la presencia de más de 15 géneros de nematodos en las raíces de la piña o su entorno, cinco de los cuales (*Meloidogyne*, *Rotylenchulus*, *Helicotylenchus*, *Pratylenchus* y *Mesocriconema*) están relacionados con el decaimiento de la producción. Se han señalado más de 100 especies en asociación con las raíces del cultivo; aunque *Pratylenchus brachyurus*, *Meloidogyne javanica*, *Meloidogyne incognita* y *R. reniformis* son las más abundantes y patogénicas (Jiménez *et al.*, 2001). Los géneros predominantes en la región piñera de México son: *Pratylenchus*, *Meloidogyne*, *Mesocriconema*, *Helicotylenchus*, *Tylenchorhynchus*, *Criconemoides*, *Aphelenchus*, *Radophulos*, *Tylenchus*, *Psilenchus* y *Hoplolaimus*; por su presencia sobresalen los primeros cuatro géneros, los cuales coinciden con los reportados en Australia, Costa de Marfil, Martinica, Puerto Rico y Brasil (Domínguez, 2001; Rebolledo *et al.*, 2002). Se reporta que estos pueden causar pérdidas en el

rendimiento de cayena lisa de 30 a 40% en la primera cosecha y de 80 a 100% en la segunda cosecha (Rebolledo *et al.*, 2002). *Meloidogyne* sp., es de los géneros más importantes, provocando pérdidas en países como Hawái, Puerto Rico, México, el Sur de África, Zimbabue y Tailandia (Luc *et al.*, 2005). El incremento de las poblaciones de *Meloidogyne* sp., es lento comparado con otras plantas (Luc *et al.*, 2005). Los síntomas que ocasiona en piña son diferentes respecto a otros cultivos, las agallas son pequeñas y poco complejas como puede ocurrir en otras hortalizas. Las agallas en las raíces en desarrollo inicial son blancas, blandas y suculentas. Conforme pasa el tiempo se tornan amarillas y luego pardas, estas agallas pueden ser muy pequeñas, en varios casos difícilmente se puede observar a simple vista. Incluso pueden no presentarse agallas, pero si se realiza una disección se encuentran los adultos. En el estado de Veracruz, la presencia de *Meloidogyne* sp., en plantaciones de piña mostró una variación de población de 0 hasta 2467 individuos, con una media de 169 a 350 individuos por muestra de 100g de suelo y raíces (Rebolledo *et al.*, 2002b). Luc *et al.* (2005) mencionan que otro género de gran importancia en el cultivo de piña es *Pratylenchus* sp., al cual se le conoce como el nematodo lesionador de la raíz. Se describió originalmente en raíces de piña en Hawái (Luc *et al.*, 2005). La especie más estudiada en raíces de piña es *P. brachyurus*, es un nematodo endoparásito migratorio, que se puede observar generalmente dentro de las raíces, se introduce en las mismas a través de las células de la epidermis y en algunas ocasiones a través de los pelos radicales y una vez que se alimenta, va migrando y dejando células muertas a lo largo de la raíz. Su reproducción es partenogénica mediante huevos sin fecundación y el ciclo de vida se completa en 17 días (Oka *et al.*, 2000). Los síntomas ocasionados por ataques de éste género de nematodos, son: reducción del crecimiento, plantas muertas, coloración amarilla, pérdida de turgencia en las hojas con marchitamiento de las plantas y síntomas de deficiencias nutricionales

o estrés hídrico, poblaciones superiores a 1 000 ejemplares de *Pratylenchus* spp., por 10 g de raíz, causan la destrucción de los pelos radicales y de las raíces secundarias, así como pobre desarrollo de la parte aérea (Oka *et al.*, 2000). De acuerdo con Rebolledo *et al.* (2002a), esta especie se encontró en la zona piñera del estado de Veracruz en poblaciones de 0 a 376, con una media de 38 a 57 por muestra de 100 g de suelo y raíz de piña. Ferreira *et al.* (2014) indican que *Helicotylencus* sp., es un nematodo que está asociado con la piña y ocasiona graves daños a las raíces. Cuando se encuentra con una alta población y junto a los otros géneros y especies, causa graves daños a las raíces de la plantación, afectando el rendimiento y la calidad de las frutas de la piña. Los reportes de estos géneros de nematodos son los más abundantes en la región piñera de México, con valores de 0 a 8 604, con una media de 598 a 1 277 por 100 g de suelo y raíces de piña (Rebolledo *et al.*, 2002).

### **1.11.1. Interacciones de Nematodos con otros Patógenos**

Con frecuencia *Pratylenchus* se asocia con *Fusarium* sp., y *Phytophthora* sp., causando severas pudriciones en las raíces. Las lesiones causadas por nematodos desencadenan una serie de anomalías en toda la planta, como el debilitamiento general causado por trastornos nutricionales y en consecuencia, una mayor predisposición al ataque de hongos, bacterias y virus causantes de enfermedades en la parte aérea y subterránea. Las especies del género *Meloidogyne* por lo general están asociadas con otros patógenos, especialmente hongos del suelo (*Fusarium*, *Phytophthora*, *Rhizoctonia* y *Pythium*), y bacterias del género *Pseudomonas* y *Corynebacterium*. Por otro lado *P. brachyurus* es capaz de establecer una interacción sinérgica con la cochinilla (*Dismicocus brevipes*) para aumentar los daños que causa aisladamente (Ferreira *et al.*, 2014). *R. reniformis* se considera un factor importante en la incidencia de la marchitez causada por

*Fusarium* y *Verticillium*, ocasionando que las variedades resistentes al *Fusarium* se tornen susceptibles (Wang, 2001).

### **1.12. Pudrición del Cogollo (*Phytophthora nicotianae*)**

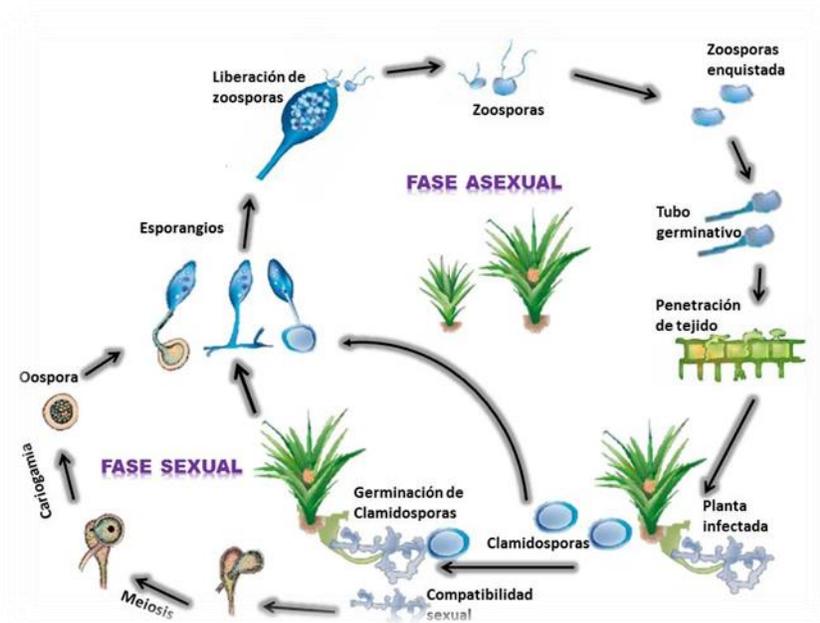
Históricamente ésta ha sido la enfermedad más importante de la piña, ampliamente diseminada y comúnmente presente en las plantaciones (Coppens *et al.* 1997). En Costa Rica y Hawaii se reporta que esta enfermedad es causada por *Phytophthora nicotianae* y *P. cinnamomi* (Rohrbach *et al.*, 2003), en Thailandia se menciona a *Pythium graminicola* como el agente causal (Pornsuriya *et al.*, 2008). En Hawaii otros investigadores encontraron a *Erwinia chrysanthemi* causando síntomas similares (Kaneshiro *et al.*, 2008). Esta enfermedad se presenta principalmente en plantaciones establecidas en terrenos o lotes con mal drenaje o en donde las plantas se encuentran infestadas por plagas del suelo (nematodos, sinfilidos, comejen, etc) o las que provocan daños o heridas a los tejidos de sus hojas (ácaros, picudo negro, etc). La severidad se incrementa a medida que el suelo es menos ácido (pH>5). Periodos muy prolongados de lluvia o riegos pesados, pueden dar origen a severas infecciones y pérdidas en campo, aun cuando el terreno tenga un drenaje aceptable. Condiciones húmedas y suelos fríos (o frescos), también incrementan la incidencia y severidad (Rebolledo *et al.*, 2011).

#### **1.12.1. Descripción de *Phytophthora nicotianae***

El hongo *P. nicotianae* presenta un crecimiento micelial hialino, tiene esporangios no caducos, esféricos a limoniforme con una papila prominente, el tamaño promedio de los esporangios es de 45 × 37 µm. Presenta clamidosporas esféricas, terminales e intercalares de 30 µm. Su micelio es de tipo aracnoideo.

### 1.12.2. Ciclo de Vida de *Phytophthora* sp.

Sobreviven como Oosporas, clamidosporas o micelio en raíces infectadas en el suelo, las Oosporas germinan por medio de zoosporas, mientras que el micelio continúa su crecimiento y produce esporangios, zoosporangios que liberan zoosporas. Las zoosporas se encuentran en suelos infectados, en raíces de plantas hospederas desarrollando micelio, durante la temporada fría y con condiciones de humedad favorable (Agrios, 2005). Este patógeno tiene la capacidad de vivir en el suelo, en ausencia del cultivo por varios años y la sobre vivencia del inoculo es vital para el inicio de la enfermedad. Se considera que las estructuras clamidosporas y las Oosporas, presentan características particulares de resistencia que las señalan como el inoculo principal, mediante el cual el hongo puede persistir en el suelo (Figura 5) (Agrios, 2005).



**Figura 5.** Ciclo de vida de *Phytophthora* spp.

### 1.12.3. Sintomatología

Los síntomas clásicos de la pudrición del cogollo, además de una pérdida de crecimiento, son: el cambio de color de las hojas del cogollo del verde claro a un verde café cobrizo; pocos días después, estas hojas se marchitan y sus puntas se enrollan (Figura 6), se secan tornándose color café y mueren. Una revisión a detalle la parte afectada del cogollo, se observa una pudrición que solo afecta el tejido blanco de las hojas, cuyas bases están destruidas formando una masa acuosa, por lo que se desprenden fácilmente despidiendo un olor fétido (Figura 6). Una característica de esta enfermedad, es que entre el tejido enfermo y sano, se presenta una banda obscura café, muy típica que ayuda a diferencial de la pudrición bacterial (Rebolledo *et al.*, 2011).



**Figura 6.** Síntomas de la pudrición del cogollo en campo.

### 1.12.4. Manejo de la Enfermedad

Para tener un control de la pudrición del cogollo se deben de tomar las siguientes recomendaciones.

- 1) El control de esta enfermedad inicia con una adecuada preparación de terreno, y construcción de drenajes eficientes que permitan la eliminación del exceso de humedad en los lotes de producción.
- 2) Se debe seleccionar semilla limpia, provenientes de lotes que no hayan presentado incidencia de esta enfermedad. Además, es importante tratar el material de siembra utilizando un fungicida específico para oomycetes (Fosetil aluminio o metalaxyl).
- 3) Es importante evitar provocar lesiones en las hojas de las plantas, ya que las heridas son el punto de ingreso de la enfermedad a la planta. Una forma de lograr esto, es prohibiendo el ingreso del personal a lotes que presenten síntomas de esta enfermedad.
- 4) El uso de inductores de resistencia como el fosfito de potasio reducen el efecto de la enfermedad sobre la planta.
- 5) La presencia de organismos que causan daños mecánicos a la planta y principalmente a la raíz debe reducirse al máximo durante todo el ciclo, controlándose oportunamente de acuerdo al resultado de los muestreos periódicos.

### **1.13. Cultivos de Cobertura como Estrategia Táctica para el Control de Plagas y Enfermedades**

La cobertura natural con vegetales tiene el propósito de mejorar la fertilidad del suelo, protegerlo contra la erosión, mejorar la estructura física y suprimir plagas, incluyendo malezas, insectos y patógenos (Sanchol y Cervantes, 1997). La práctica de diferentes técnicas de cobertura del suelo en plantaciones de piña es muy antigua. Inicialmente, se utilizó con propósitos de conservación y mejoramiento de suelos (Jourand, 2004). Otros beneficios de las plantas usadas como cobertura es la producción de compuestos tóxicos; es decir, tienen la habilidad de producir y emitir a

través de las raíces sustancias tóxicas para otros microorganismos. Asimismo, a la degradación de restos vegetales se producen sustancias tóxicas, a este fenómeno se le conoce como alelopatía (Guzmán y Alonso, 2008). La alelopatía consiste en la interacción bioquímica planta-planta o planta-microorganismo (Rice, 1984). Se conocen diversos cultivos de cobertura con capacidad para producir compuestos alelopáticos contra nematodos parásitos de plantas. Entre ellos se pueden citar, *Tagetes* sp, que producen a-tertienilo, *Crotalaria* spp., que producen monocrotalina (Gommers y Bakker, 1988) y *Brassica napus* que produce glucosinolatos con acción nematocida cuando reaccionan con la mirosinasa (Brown *et al.*, 1991). Las crucíferas (mostaza, colza, jaramagos, etc.) también han sido estudiadas por su papel en el control de ciertas plagas y enfermedades. Así, por ejemplo, se conoce que su descomposición en el suelo, tras la incorporación, da lugar a isotiocianatos, que ejercen su acción contra hongos fitopatógenos como *Helminthosporium solani* y *Verticillium dahliae*, otro ejemplo, es la supresión del hongo del algodón *Thielaviopsis basicola* debido a la alta concentración de amoníaco en el suelo que se produce cuando se está descomponiendo la veza vellosa (*Vicia villosa*) incorporada. (Guzmán y Alonso, 2008). *Crotalaria* sp., es una leguminosa tropical y subtropical con la mayor concentración de especies en el hemisferio sur, específicamente África (Guzmán-Teare, 2001). Se encuentra constituido por 550 a 600 especies a nivel mundial, de las cuales 89 están reportadas para América, varias tienen importancia económica por ser forrajeras, medicinales, ornamentales. Algunas pueden ser consideradas como abono verde (Avendaño, 2011), aun cuando el género posee alcaloides pirrolizidínicos (compuestos básicos nitrogenados de origen vegetal o animal de alta toxicidad) como las axilaridine, axillarine, desoxyaxillarine y la monocrotalina (C<sub>16</sub>H<sub>23</sub>O<sub>6</sub>N) que se encuentran en las hojas, frutos y semillas (Fletcher *et al.*, 2009). Según Jourand *et al.* (2004), la habilidad de las especies de *Crotalaria* de fijar nitrógeno

por la simbiosis con organismos como *Bradyrhizobium* sp. o *Methylobacterium* sp. , han hecho que se utilicen frecuentemente en los sistemas agrícolas y teniendo en cuenta que algunas leguminosas han mostrado alta resistencia a nematodos formadores de agallas, el uso de *Crotalaria* sp., aparece como una alternativa muy interesante para reducir las poblaciones en los suelos agrícolas. Rodríguez *et al.* (2007) evaluaron 15 especies de *Crotalaria* para el control *in vitro* de tres especies de nematodos J2 (*M.incognita*, *M. javanica* y *M. mayaguensis*). En este estudio se demostró que la acción de las especies del género *Crotalaria* varía según la especie de nematodo. De las especies evaluadas, los extractos de raíces de *Crotalaria atrorubens* y *Crotalaria lathyroides* fueron más efectivos sobre *Meloidogyne mayaguensis*; mientras que los extractos de tallos de *C. grantiana* fueron efectivos contra *Meloidogyne incognita*, *Meloidogyne arenaria* y *Meloidogyne javanica*. Wang y Schmitt (2001) evaluaron los efectos de *Crotalaria juncea*, *Brassica napus* y *Tagetes erecta* sobre la resistencia, supresión alelopática, y aumento de nematodos antagonistas contra *Rotylenchulus reniformis*, y encontraron que *C. juncea* retardó el desarrollo de las hembras al compararlas con *V. unguiculata*. Efectos alelopáticos contra *R. reniformis* fueron más acentuados dos días después de la incorporación de filtrados de hojas de *C. juncea*. Estos autores también mencionan que las emiendas con *C. juncea* mejoraron el crecimiento del frijol al compararlo con los otros tratamientos emiendas, y concluyeron que entre los cultivos evaluados, *C. juncea* es el cultivo de cobertura más promisorio para el manejo de *R. reniformis*. Wang *et al.* (2001), mencionan que un beneficio adicional del uso de *Crótalaria. juncea* como cultivo de cobertura es su asociación con *Rhizobium* en la rizosfera, permitiendo en el cultivo fijar de 150 hasta 165 kg de N ha<sup>-1</sup> si se incorpora antes de la floración. Rebolledo *et al.* (2011), recomienda establecer como abono verde o de forma asociada la especie de *Crotalaria juncea* sembrada entre las hileras de piña; el crecimiento de esta

leguminosa, mejora la disponibilidad de materia orgánica en el suelo y finalmente se usa el rastrojo como cobertura muerta. El control sobre los nematodos se debe a un compuesto tóxico que libera la planta, conocido como monocrotalina, el cual inhibe el movimiento y retasa el desarrollo de estos microorganismos (Hooks *et al.*, 2006). Sin embargo para algunas regiones de Veracruz, una limitación importante al crecimiento de la especie de *Crotalaria juncea* en algunos campos de piña, es el valor bajo del pH del suelo (3.9 a 5), siendo el óptimo para esta planta superior a 6 (Rebolledo *et al.*, 2011).

#### **1.14. Encalado del Suelo como Estrategia Táctica para el Control de Plagas y Enfermedades**

El encalado consiste en la aplicación al suelo de sales básicas que neutralizan la acidez. Los materiales que se ocupan como alcalinizantes o correctivos de acidez son principalmente carbonatos, óxidos, hidróxidos y silicatos de calcio (Ca) y/o magnesio (Mg). Debido a su naturaleza química, estos materiales presentan una variable capacidad de neutralización (Espinosa y Molina, 1999). El estado de Veracruz, específicamente en la Cuenca Baja del Papaloapan principal de región cultivada con piña en México, se caracteriza por tener suelo extremadamente ácidos con promedios de pH de 4 y poblaciones altas de nematodos, factores que condicionan el incremento de los rendimientos de la fruta de piña. La práctica del encalado al suelo permite reducir poblaciones de nematodos hasta del 50%, a lo que hay que agregar las bondades de adición de calcio, magnesio y el aumento de la fertilidad del suelo (Rebolledo *et al.*, 2002). En Hawaii durante un periodo de 10 años de encalado de un suelo, se demostró que el incremento del pH del suelo a valores de cercanos a 6, redujeron significativamente las poblaciones de nematodos *R. reniformis* (Rohrbach, 1986).

## 1.2. Literatura citada

- Agrios, G. N. 2005.** Plant pathology. 5a ed. British library cataloguing in publication data. 952 p.
- Avendaño, N. 2011.** Revisión taxonómica del género *Crotalaria* L. (Faboideae-Crotalarieae) en Venezuela. Acta Botánica Venezolana 34: 13-78.
- Barrita, R. M. y P. J. A. Pacheco. 2010.** Etanol a partir de desechos lignocelulósicos del cultivo de piña [*Ananas comosus* (L.) Merr] con dos microorganismos (*Sacharomyces cerevisiae* y *Zymomona mobilis*). Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Estado de México. México. 73 pp.
- Bartholomew, D. P., Paull, R. E., Rohrbach, K. G. 2002.** The Pineapple: botany, production and uses. University of Hawaii at Manoa. CABI Publishing. Honolulu. USA. 301 pp.
- Brown, P.D., Morra, M. J., McCaffrey, J. P., Auld, D. L., Williams III, L. 1991.** Allelochemicals produced during glucosinolate degradation in soil. Journal of Chemical Ecology 17: 2021-2034.
- Chan, Y. K., Coopens, E. G., Sanewsk, G. M. 2002.** Breeding and variety improvement. *In:* The pineapple, botany, production and uses. D P Bartholomew, R E Paull, K G Rohrbach (eds). University of Hawaii, Manoa, Honolulu, USA. pp: 36-39.
- Chao, M., Sheng, Y. X., Zhen, G. L., Wei, W., Li, J. D. 2007.** Characterization of active phenolic components in the ethanolic extract of *Ananas comosus* L. leaves using high-performance liquid chromatography with diode array detection and tandem mass spectrometry. Journal of Chromatography 1165:39-44.

- Cho, A. H.; Chase, C. A.; Treadwell, D. D.; Koenig, R. L.; Morris, J. B.; Morales-Payan, J. P. 2015.** Apical dominance and planting density effects on weed suppression by sunn hemp. *HortScience* 50: 263–267.
- Coppens, G., Leal, F., Duval, M. F. 1997.** Germplasm resources of pineapple. *Hort.Rev.*, 21:133-175.
- Colegate, S. M., D. R. Gardner, R. J. Joy, J. M. Betz, K. E. Panter. 2012.** Dehydropyrrolizidine alkaloids, including monoesters with an unusual esterifying acid, from cultivated *Crotalaria juncea* (Sunn hemp cv. ‘Tropic Sun’). *Journal Agriculture Food Chemistry* 60: 3541–3550.
- Cunha, G. A. P., Cabra, J. R. S., Souza, L. F. D. 1999.** O Abacaxizeiro: Cultivo, Agroindústria e Economía. EMBRAPA, Comunicação para la Transferencia de Tecnología. Brasil. pp: 27-29.
- Domínguez, A.J. 2001.** Nematodos fitoparasitos asociados al cultivo de piña (*Ananas comosus* L. Merr.) en la Sabana de Huimanguillo, Tabasco, México. Tesis de licenciatura. Universidad Autónoma de Chapingo. San José Puyacatengo, Teapa, Tabasco, México. 50 p.
- Espinoza, J., y E. Molina. 1999.** Acidez y encalado de los suelos. 1ra. Edición, International Plant Nutrition Institute. San Jose Costa Rica. 42 p.
- FAO (Food and Agricultural Organization of the United Nations). 2015.** <http://fao.org/home/index.html#DOWNLOAD>: Pineapple FAOSTAT.
- Faostat. 2015.** Food and Agriculture Organization. (En línea): <http://faostat.fao.org>. Consultado enero de 2015.

- Ferreira, T. D. F., R. M. Souza, W. S. S. Idalino, K. D. dos Santos Ferreira, and P. S. T. Brioso. 2014.** Interaction of *Pratylenchus brachyurus* and *Helicotylenchus* sp. with mealybug wilt of pineapple in microplots. *Nematropica* 44: 181-189.
- Fletcher, M., R. McKenzie, B. Blaney and K. Reichmann. 2009.** Pyrrolizidine alkaloids in *Crotalaria* taxa from Northern Australia: Risk to Grazing Livestock. *Journal Agricultural Food Chemistry* 57: 311-319.
- Gianessi, L. P., C. S. Silvers, S. Sankula, J. E. Carpenter. 2002.** Plant Biotechnology: Current and potential impact for improving pest management in U.S. agriculture. An Analysis of 40 Case Studies. Nematode Resistant Pineapple. National Center for Food and Agricultural. Policy NW Washington, E. U. A.
- Gomez, U. V. L. 2007.** Obtención de bromelina a partir de los tallos, corazón y fruto de la piña (*Ananas comosus* L.). Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Estado de México. México. 68 pp.
- Gommers, F.J. and J. Bakker. 1988.** Physiological diseases induced by plant responses or products. En: Poinar Jr. GO, Jansson H-B (eds.) Diseases of nematodes Vol. I CRC Press, Inc., Boca Raton. 3-22.
- Goytia, J. M. A., R. B. Mora, B. R. Mozqueda, A. D. Uriza, M. L. Rebolledo. 2005.** Extracción de fibra textil a partir de la hoja de piña. Universidad Autónoma Chapingo. 19 pp.
- Guzmán, C. G. I., y M. A. M. Alonso. 2008.** Buenas prácticas en producción ecológica, Uso de abonos verdes. 28 p.

- Guzmán-Teare, M. 2001.** *Crotalaria* L. In: Stevens, W., C. Ulloa, A. Pool and O. Montiel (eds). Flora de Nicaragua. Tomo II: Fabaceae–Oxalidaceae, pp. 1-3, 979-983. Missouri Botanical Garden, St. Louis.
- Hernández, M. A. A., B. M. Lina, C. A. Rosón y C. G. Cazola. 2011.** Hongos y oomycetes fitopatógenos en viveros de piña *Ananas comosus* (L.) Merril en Ciego de Ávila, Cuba Fitosanidad 15: 137-142.
- Hernández, O. M. 2008.** Elaboración y caracterización de papel artesanal de la corona del fruto de dos variedades de piña *Ananas comosus* (L.) Merr. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. División de Ciencias Forestales. México. 25-30 pp.
- Hooks, C. R. R., K. H. Wang and D. Fallon. 2006.** An ally in the war against nematode pests: using sunn hemp as a cover crop to suppress root-knot nematodes. PD-32. University of Hawaii at Manoa. College of Tropical Agriculture and Human Resources. Honolulu, HI, USA. 3 p.
- Jiménez, N., R. Crozzoli, P. Petit y N. Greco. 2001.** Nematodos fitoparasíticos asociados con el cultivo de la piña, *Ananas comosus*, en los estados Lara y Trujillo, Venezuela. Nematologia Mediterranea 29:13-17.
- Jiménez, D. J. A. 1996.** El Cultivo de la piña de exportación. Instituto del trópico húmedo de Tabasco, Villahermosa, Tabasco, México. pp: 53-55.
- Jourand, P., S. Rapior, M. Fargette and T. Mateille. 2004.** Nematostatic activity of aqueous extracts of West African *Crotalaria* species. Nematology 6: 765-771.
- Kaneshiro, W.S., M. Burger, B. G. Vine, A. S. De Silva and A. M. Álvarez. 2008.** Characterization of *Erwinia chrysanthemi* from a bacterial heart rot of pineapple outbreak in Hawaii. Plant Disease 92: 1444-1450.

- Lacerda, J. T., R. A. Carvalho and E. F. Oliveira. 2009.** Cochonilha *Dysmicoccus brevipes*: a praga cosmopolita da abacaxicultura. *Tecnologia e Ciências Agropecuárias* 3: 15-21.
- Leal, F. y M. L. García. 1993.** Recursos genéticos y mejoramiento de la piña. *In: Memorias primer congreso Latinoamericano de Piñicultura.* Universidad de Colombia. Cali, Colombia. pp: 1-12.
- Luc, M., R. Sikora and J. Bridge. 2005.** Plant parasitic nematodes in subtropical and tropical agriculture. *Nematode Parasites of Pineapple.* CAB International. Massachusetts .2nd Edition. U.S.A.
- Luther, H. E. 2004.** An alphabetical list of bromeliad binomials. 9th ed. The Bromeliad Society International. Inc. Orlando. FL. USA.
- Malezieux, E. 2000.** Global network for pineapple research *Acta Horticulturae* 529: 35-47.
- McSorley, R., D. R. Seal, W. Klassen, K. H. Wang and C. R. Hooks. 2009.** Non-target effects of sunn hemp and marigold cover crops on the soil invertebrate community. *Nematropica* 39: 235–245.
- Morgan, T. and T. Thompson. 2000.** Del Monte mixes and matches Costa Rican products. *Americafruit* 3: 45-47.
- Oka, Y., K. Hinanit, B. E. Meira, M. Mishael, E. Sharon, C. Ilan and Y. Spiegel. 2000.** New strategies for the control of plant-parasitic nematodes. *Pest Management Science* 56: 983-988.
- Pornsuriya, C., H. K. Wang, F. C. Lin and K. Soyong. 2008.** First report of pineapple root rot caused by *Pythium graminicola*. *Journal of Agricultural Technology* 4:139-150.

- Rebolledo, M. 1992.** Análisis del crecimiento y nutrición de la Piña en su fase vegetativa en el Bajo Papaloapan. Tesis de Maestría en Ciencias. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Mexico. 119 p.
- Rebolledo, M. A., P. A. L Del Ángel, M. L. Rebolledo y A. D. Uriza. 2006.** Rendimiento y calidad de cultivares de piña en densidades de plantación. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29: 55-62.
- Rebolledo, M. A., A. D. E. Uriza, A. A Pérez, L. M. Rebolledo y L. R. Zetina. 2011.** La piña y su cultivo en México: Cayena Lisa y MD2. Campo Experimental Cotaxtla, Veracruz, México. Libro Técnico No. 27. 306 p.
- Rebolledo, M. L., Rebolledo, M.A., Uriza, A.D.E., Rodríguez, E. J.G. 2002a.** Diagnóstico y Control Integrado de nematodos fitoparásitos de la piña en México. Informe Técnico Final del Proyecto: INIFAP-SIGOLFO-CONACYT. INIFAP. CIRGOC. Campo Experimental Cotaxtla. Medellín, Ver., México. 90p.
- Rebolledo, M.L., Uriza, D.E., Rodríguez, E.J.G., Rebolledo, M.A. 2002b.** Efecto del pH edáfico sobre poblaciones de nematodos en suelo acrisoles y cambisoles de la región piñera en la Cuenca del Papaloapan. (Memoria en CD-ROM). *In: Memoria de la XV Reunión Científica-Tecnológica, Forestal y Agropecuaria del Estado de Veracruz, Veracruz, México.*
- Rice, E.L. 1984.** Allelopathy, Academic Press, Inc, Orlando.
- Rico, R. D. R. 2009.** Etanol a partir de jugo de desecho de piña *Ananas comosus* (L.) Merr por medio de dos microorganismos. Tesis profesional. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Ingeniería Agroindustrial. Estado de México. México. 59 pp.

- Rodríguez, G.M., Gómez, L., Peteira Belkis. 2007.** *Meloidogyne mayaguensis* Rammah y Hirschmann, Plaga emergente para la agricultura tropical y subtropical. *Protección Vegetal* 22: 183-198.
- Rohrbach, K. G., Leal, F., Coppens, D.G. 2003.** History, distribution and World production. *In: D.P. Bartholomew., R.E. Paull, y K.G. Rohrbach (eds). The Pineapple: Botany, production and uses. pp. 1-12.*
- Rohrbach, K., Apt, W. 1986.** Nematode and disease problems of pineapple. *Plant disease* 70: 81-87.
- Sansom, J. A. 1991.** *Fruticultura Tropical*. Limusa. Primera edición. México. 396 pp.
- Sanchol, F., y C. Cervantes. 1997.** El uso de plantas de cobertura en sistemas de producción de cultivos perennes y anuales en Costa Rica. *Agronomía Costarricense* 2: 111-120.
- Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera (SIAP), 2015.** Disponible en: <http://www.siap.sagarpa.gob.mx>. Consultado en enero de 2015.
- Uriza, D. 2011.** Programa Estratégico para el Desarrollo Rural Sustentable de la Región Sureste de México. Trópico Humedo 2011. Paquete Tecnológico Piña MD2 (*Ananas comosus var. comosus*). Centro de Investigación Regional Golfo Centro, Campo Experimental Cotaxtla / Papaloapan, Isla, Veracruz. Consultado Enero 2014. [www.inifap.gob.mx](http://www.inifap.gob.mx).
- Vaillant F. D. I. y G. Gómez I. 2009.** Incidencia de *Phytophthora nicotianae* y *Phytophthora infestans* en Cuba. *Agricultura Técnica en México* 35: 219-223.
- Wang, K. H., B. S. Sipes y D. P. Schmitt. 2001.** Supresión de *Rotylenchulus reniformis* por medio de *Crotalaria juncea*, *Brassica napus*, y *Tagetes erecta*. *Nematropica* 31: 237-251.

**Wijeratnam, S. W. 2016.** Pineapple. Industrial Technology Institute, Colombo, Sri Lanka.  
Elsevier Ltd.

**Zahid MI, Gurr GM, Nikandrow A, Hodda M, Fulkerson WJ, Nicol HI. 2002.** Effects of root- and stolon-infecting fungi on root-colonizing nematodes of white clover. *Plant Pathol* 51:242–250.

## CAPITULO II. ETIOLOGÍA Y CONTROL *IN VITRO* DE LA PUDRICIÓN DEL COGOLLO DE LA PIÑA

Luis Alfonso Aguilar-Pérez<sup>1</sup>, Daniel Nieto-Angel<sup>1\*</sup>, Daniel Leobardo Ochoa-Martinez<sup>1</sup>, David Espinosa-Victoria<sup>2</sup>, Andrés Rebolledo-Martinez<sup>3</sup>, Abel Rebouças-São José<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Fitopatología, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. C.P. 56230;

<sup>2</sup>Edafología, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. C.P. 56230;

<sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Cotaxtla, Medellín de Bravo, Veracruz, México, C.P. 94270;

<sup>4</sup>UESB/DFZ, Est. do Bem Querer Km 4, CEP 45.083-900, Vit. da Conquista-BA.

\* Autor de correspondencia: Daniel Nieto Angel. E-mail: [dnieto@colpos.mx](mailto:dnieto@colpos.mx)

### 2.1. RESUMEN

La pudrición del cogollo de la piña, es una enfermedad de importancia económica. En los últimos años, en México esta enfermedad ha causado pérdidas significativas en producción y a la fecha se desconoce al agente causal. Por ello, los objetivos de la presente investigación fueron: identificar al agente causal de la pudrición del cogollo de la piña, desarrollar un método de inoculación eficiente del patógeno y evaluar diferentes productos para su control *in vitro*. Durante junio a octubre de 2012 y 2013, se recolectaron plantas de piña con síntomas de pudrición de cogollo en tres localidades: Juan Rodríguez Clara, Veracruz; Ciudad Isla, Veracruz y Loma Bonita, Oaxaca. Se aisló y purificó a un oomycete, el cual se identificó mediante morfología y análisis de secuencias ITS del ADNr. Asimismo, se determinó el mejor sitio de inoculación (base o cogollo) con tres concentraciones de inóculo ( $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$ ) en plantas de piña cv. “MD-2”. Los tratamientos se generaron con un factorial

2<sup>3</sup> distribuidos completamente al azar con cuatro repeticiones. Adicionalmente, se evaluaron siete fungicidas *in vitro* para el control del oomycete. La forma de inoculación más eficiente fue cuando se aplicó el inóculo en el cogollo a concentraciones de 1x10<sup>5</sup> y 1x10<sup>6</sup> zoosporas mL<sup>-1</sup>. De acuerdo con la identificación morfológica, molecular y pruebas de patogenicidad, se concluyó que *Phytophthora nicotianae* fue el oomycete causante de la pudrición de cogollo de la piña en tres localidades de México. Finalmente, el fungicida TCMTB (CE<sub>50</sub> = 0.003 µg mL<sup>-1</sup>) mostró mayor inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *P. nicotianae*.

**Palabras clave:** *Phytophthora nicotinae*, MD-2, fungicida.

## 2.2. ABSTRACT

The heart rot of pineapple is an economically important disease. In recent years, in Mexico this disease has caused significant production losses and to date the causal agent is unknown. Therefore, the objectives of this study were to identify the causal agent of the heart rot of pineapple, develop an efficient method of inoculation of the pathogen and evaluate different products for *in vitro* control. During June to October of 2012 and 2013, pineapple plants were collected with symptoms of heart rot in three locations: Juan Rodríguez Clara, Veracruz; Ciudad Isla, Veracruz y Loma Bonita, Oaxaca. It was isolated and purified to a oomycete, which was identified by morphology and analysis of rDNA ITS sequences. Also, was determined the best inoculation site (base or heart) with three concentrations of inoculum (1x10<sup>4</sup>, 1x10<sup>5</sup> and 1x10<sup>6</sup> zoospores mL<sup>-1</sup>) in pineapple plants cv. "MD-2". Treatments were generated with a factorial 2<sup>3</sup> distributed in a completely randomized design with four replications. Additionally, seven fungicides were evaluated for *in vitro* control oomycete. The most efficient form of inoculation the inoculum was applied at the heart at concentrations of 1x10<sup>5</sup> and 1x10<sup>6</sup> zoospores mL<sup>-1</sup>.

According to the morphological identification, molecular and pathogenicity tests it was concluded that *Phytophthora nicotianae* was the cause of the heart rot of pineapple in three locations in Mexico. Finally, the fungicide TCMTB ( $EC_{50} = 0.003 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) showed greater inhibition of mycelial growth of *P. nicotianae* *in vitro*.

**Keywords:** *Phytophthora nicotinae*, MD-2, fungicide.

### 2.3. INTRODUCCION

La piña (*Ananas comosus* L.) Merr. Pertenece a la familia de las bromeliáceas y su fruto está clasificado como no climatérico por las pequeñas cantidades de etileno que produce en la etapa de madurez fisiológica (PEGG, 2003). Es un cultivo importante en México y el mundo (Caamal y Tun, 2003), y ocupa el tercer lugar en la producción mundial de frutos tropicales superado por el banano y los cítricos (Rohrbach *et al.*, 2003). México ocupa el noveno lugar en la producción mundial con 701.746 toneladas (FAOSTAT, 2013) siendo los principales estados productores Veracruz, Oaxaca, Tabasco y Nayarit, con una aportación del 95% de la producción nacional, de la cual el 75% procede de los dos primeros. Los cultivares con mayor superficie (mayor al 80%) que se producen en México son “Cayena lisa” y “MD-2” (Rebolledo *et al.*, 2006). Las condiciones ambientales de las zonas donde se cultiva esta especie favorecen la presencia de plagas y enfermedades que disminuyen el rendimiento y calidad de la fruta (Anderson *et al.*, 2011). Dentro de las enfermedades más importantes destaca “la pudrición del cogollo” ocasionada por un oomycete del género *Phytophthora*, siendo el cultivar “MD-2” el más susceptible (Chan *et al.*, 2003). Esta enfermedad se presenta en la base de las hojas centrales de la roseta comúnmente llamado cogollo. Inicialmente las hojas se tornan con una coloración parda, presentan mal olor y se desprenden con gran facilidad (Hernández-Mancilla *et al.*, 2005). En Costa Rica y Hawaii (EE.UU.) se reporta que el agente causal de esta enfermedad es

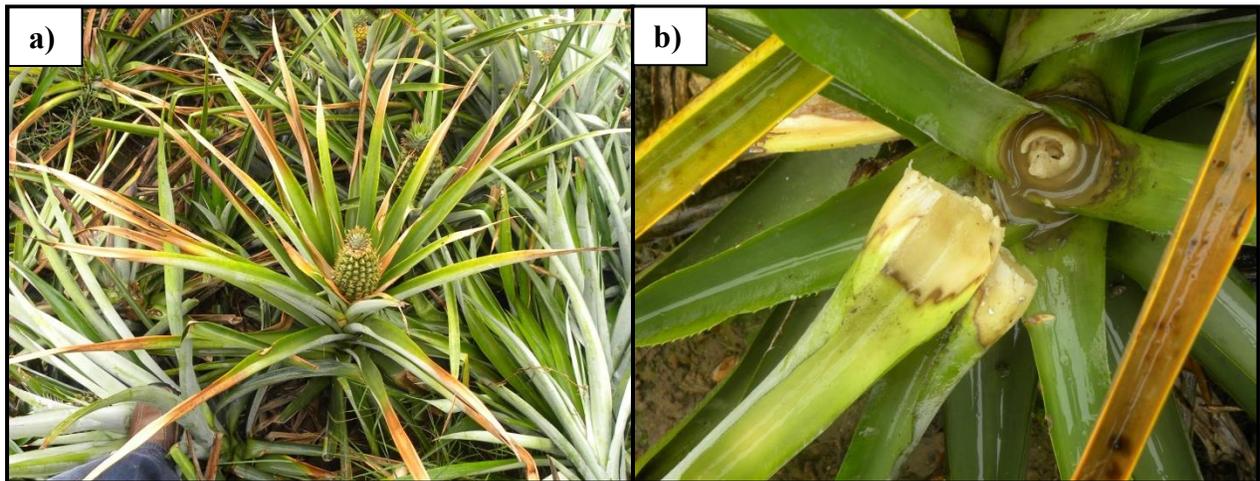
*Phytophthora parasitica* y *P. cinamomi* (Rohrbach *et al.*, 2003), mientras que en Thailandia se reporta a *Pythium graminicola* (Pornsuriya *et al.*, 2008). Kaneshiro *et al.* (2008) mencionaron que *Erwinia chrysanthemi* ocasiona síntomas muy similares a las enfermedades antes mencionadas. En México ésta enfermedad, empezó a extenderse posterior a la introducción del híbrido MD2, ya que es más susceptible, de acuerdo a estimaciones de los productores, la enfermedad puede causar pérdidas de hasta un 40%. Se encuentra distribuida en todas las áreas productoras. La incidencia e intensidad de la enfermedad, está en función de las condiciones de topografía del suelo, mal drenaje, y la presencia de lluvias excesivas. Dichas condiciones prevalecen en las zonas productoras de México. Adicionalmente se desconoce el agente causal, lo cual ha llevado al uso indiscriminado de fungicidas para su control sin tener una eficacia aceptable. En este contexto, los objetivos del trabajo fueron identificar al agente causal de la pudrición del cogollo de la piña, desarrollar un método de inoculación eficiente del patógeno y evaluar diferentes productos para su control *in vitro*.

## 2.4. MATERIALES Y MÉTODOS

### **Recolección de material vegetal y aislamiento de microorganismos**

De junio a octubre de 2012 y 2013 se recolectaron plantas de piña con síntomas de clorosis, amarillamiento y necrosis apical de hojas (Figura 1a) que al jalarlas se desprendían con facilidad; en la base del cogollo se observó un halo necrótico de 2 a 5 cm de longitud (Figura 1b), que desprendía un fuerte olor fétido. Adicionalmente, se recolectaron 10 plantas asintomáticas como testigo. Las colectas se realizaron en los municipios de Juan Rodríguez Clara y Ciudad Isla (Veracruz), así como en Loma Bonita (Oaxaca), México. Se obtuvieron 30 fragmentos de tejido por planta con síntomas de la zona de avance de la enfermedad (cogollo) y de una región similar

se cortó tejido de plantas sanas. En todos los casos los tejidos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% durante 3 min, se enjuagaron tres veces con agua destilada estéril y se secaron con papel absorbente. Los tejidos tratados se sembraron en cajas Petri con cuatro diferentes medios de cultivo: PARPH (pimaricina, ampicilina, rifampicina, PCNB e himexazol), PDA (papa, dextrosa, agar), V8-agar (jugo de verduras V8) y agar nutritivo. Las cajas se mantuvieron a temperatura ambiente y se realizaron observaciones cada 24 h después de la siembra para registrar el crecimiento de microorganismos, los cuales se purificaron por puntas de hifa (en el caso de hongos y oomycetes) o por estriado (bacterias).



**Figura 1. a) Planta de piña con síntomas de clorosis, amarillamiento y necrosis apical de hojas; b) Síntomas de pudrición en la base de las hojas y desprendimiento con facilidad.**

### **Identificación morfológica**

En el caso de hongos y oomycetes se utilizaron las claves de Erwin y Ribeiro (1996) y de Gallegly y Hong (2008). En medio V8-agar se tuvo el crecimiento de un oomycete del cual se midieron 100 esporangióforos, esporangios y clamidosporas. Por su parte, las bacterias aisladas

se infiltraron en rodajas de papa de acuerdo con el protocolo de Rodríguez (2006) y posteriormente se inocularon en hojas de tabaco para observar si había reacción de hipersensibilidad siguiendo la metodología de Moya-Hernández *et al.* (2015).

### **Identificación molecular**

Considerando que el oomycete fue el más abundantemente aislado, después de su purificación por punta de hifa se procedió a la extracción de DNA total de 3 colonias por el método de CTAB (Doyle y Doyle, 1990) a partir del cual se amplificó el espacio transcrito interno ribosomal con los iniciadores ITS6 (5'- GGAAGTAAAAGTCGTAACAAGG-3') e ITS4 (5'- TCCTCCGCTTATTGATATGC-3') (White *et al.*, 1990). Los productos de PCR obtenidos se secuenciaron y se compararon con las secuencias depositadas en la base de datos del GenBank.

### **Pruebas de patogenicidad**

Para conocer si el oomycete obtenido era patogénico, se sembraron hijuelos sanos de piña de tipo gallo, provenientes de una huerta comercial de la zona de estudio en macetas de 10 L con suelo estéril y se mantuvieron en crecimiento durante 2 meses en un vivero cubierto con malla sombra. Antes de la siembra, los hijuelos se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 3% por 4 min, se enjuagaron 4 veces con agua destilada estéril y se dejaron secar. A los dos meses posteriores a la siembra, las plantas se inocularon con tres concentraciones de zoosporas del oomycete aislado ( $1 \times 10^4$ ,  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$ ). Para ello se agregaron 10 mL del inóculo en la base de la planta y en el cogollo (Cuadro 1). Los tratamientos se generaron mediante un factorial  $2^3$ , donde el factor es el sitio de inoculación con tres niveles de concentración del inóculo. Los tratamientos más dos testigos (consistentes en la aplicación de agua destilada estéril en la base y cogollo de

las plantas) se distribuyeron en un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones. Se evaluaron las dos variables siguientes: a) incidencia de la enfermedad (número de plantas inoculadas con síntomas) y b) período de incubación (número de días desde la inoculación hasta la aparición de síntomas). De las plantas inoculadas que mostraron síntomas se aisló al oomicete en medio de cultivo V8 agar y se comparó con los aislamientos iniciales para cumplir los postulados de Koch (Agrios, 2005).

**Cuadro 1. Tratamientos para evaluar la patogenicidad del oomicete aislado de plantas de piña con pudrición del cogollo.**

Tratamiento	Descripción
TB	Testigo con aplicación de agua destilada estéril en la base de la planta
TC	Testigo con aplicación de agua destilada estéril en el cogollo
IBC1	Inoculación en la base de la planta con $1 \times 10^4$ zoosporas $\text{mL}^{-1}$
IBC2	Inoculación en la base de la planta con $1 \times 10^5$ zoosporas $\text{mL}^{-1}$
IBC3	Inoculación en la base de la planta con $1 \times 10^6$ zoosporas $\text{mL}^{-1}$
ICC1	Inoculación en el cogollo de la planta con $1 \times 10^4$ zoosporas $\text{mL}^{-1}$
ICC2	Inoculación en el cogollo de la planta con $1 \times 10^5$ zoosporas $\text{mL}^{-1}$
ICC3	Inoculación en el cogollo de la planta con $1 \times 10^6$ zoosporas $\text{mL}^{-1}$

**Control *in vitro***

Se evaluaron seis fungicidas con diferentes modos de acción y una formulaciones de *Bacillus subtilis* para conocer su efecto en el oomiceto aislado de plantas de piña con pudrición del cogollo (Cuadro 2).

**Cuadro 2. Características generales de los productos evaluados *in vitro* como posible control del oomycete en estudio.**

Ingrediente activo (i.a.)	i.a. %	Grupo químico	Modo de acción	Formulación
Trifoxistrobin	43.70 %	Oximino acetatos	Sistémico	Suspensión concentrada
Clorotalonil	54.00 %	Cloronitrilo	Contacto	Suspensión acuosa
Sulfato de cobre pentahidratado	21.36 %	Inorgánico	Contacto	Solución acuosa
TCMTB	30.00%	Benzotiazol	Contacto	Suspensión acuosa
Propamocarb	64.00 %	Carbamato	Sistémico	Solución acuosa
<i>Bacillus subtilis</i> QST 713	1.368% p/v	Biológico	Contacto	Suspensión acuosa
Metalaxil	42.28 %	Acilalanina	Sistémico	Concentrado soluble

A partir de colonias del oomycete en medio V8 agar de 8 días se tomaron discos miceliales de 5 mm de diámetro y se colocaron en cajas Petri con medio PDA adicionado con los productos indicados en el Cuadro 2 a concentraciones de: 0.001, 0.01, 0.1, 1, 5, 10, 50, 100, 300 y 500  $\mu\text{g mL}^{-1}$  y un testigo sin producto. Las cajas se incubaron a  $25 \pm 2^\circ\text{C}$  en oscuridad y se distribuyeron en un diseño experimental completamente al azar con tres repeticiones, considerando una caja como unidad experimental. Con un vernier digital se midió diariamente el crecimiento micelial hasta observar al testigo cubierto en su totalidad por el oomycete. En cada concentración se calculó la inhibición del crecimiento micelial en porcentaje respecto al tratamiento testigo. Los porcentajes se convirtieron a valores Probit y se graficaron contra valores de  $\log_{10}$  de la

concentración del producto. Posteriormente, con un análisis de regresión Probit se calculó la concentración efectiva del producto que inhibe el 50% del crecimiento micelial ( $CE_{50}$ ) y con estos valores se realizó un análisis de varianza (ANOVA) con el Modelo Lineal General (GLM) y separación de medias con la prueba de Tukey ( $\alpha= 0.05$ ) con el programa estadístico SAS (Statistical Analysis System) (SAS Institute, 2003).

## 2.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

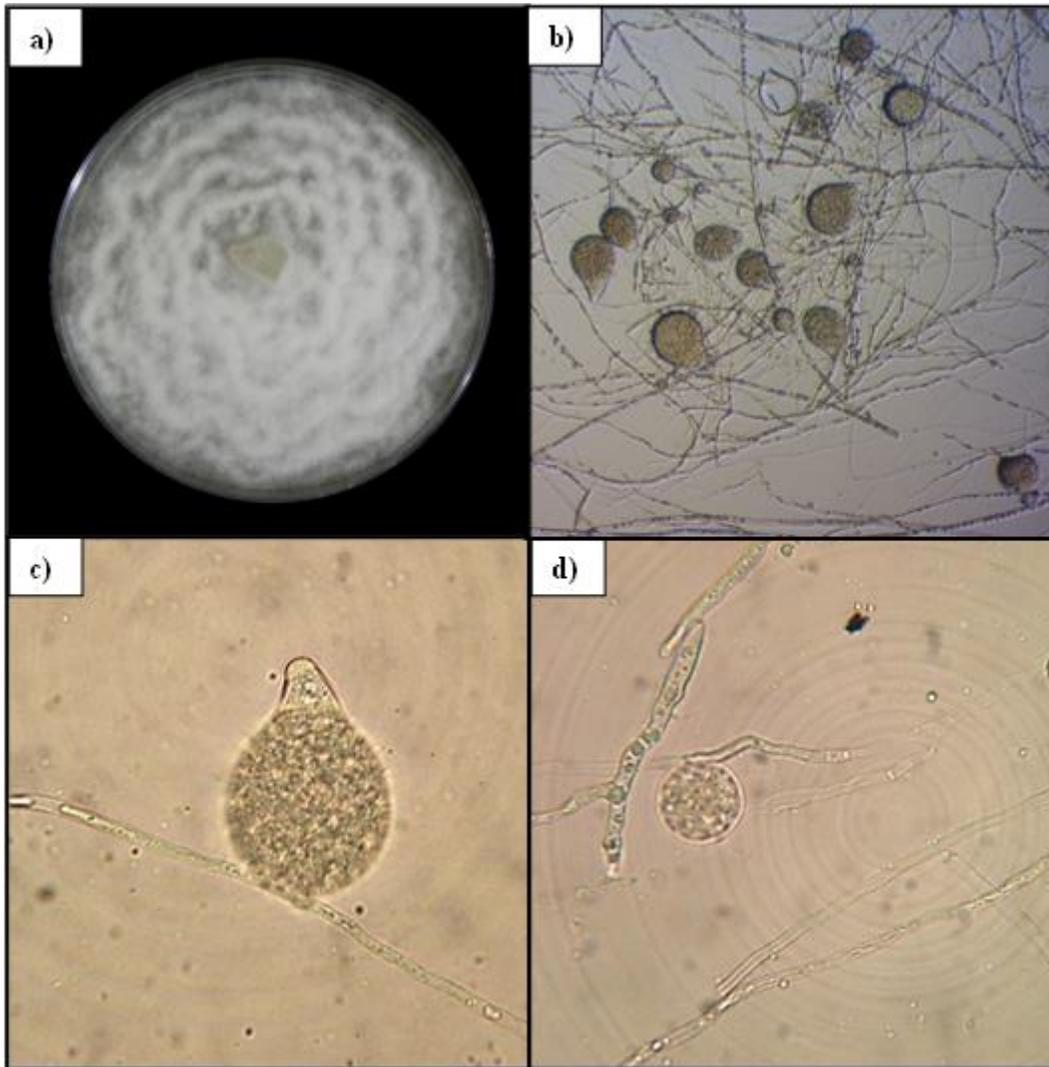
### Aislamiento de microorganismos

De las siembras realizadas de tejido de plantas de piña con síntomas de pudrición del cogollo se desarrollaron hongos, bacterias y oomycetes. En medio de cultivo PARPH, *Phytophthora* sp., creció en prácticamente la totalidad de la caja Petri (94.6%). En medio V8, *Phytophthora* sp., cubrió el 54.6% de las cajas Petri, mientras que en los medios PDA y agar nutritivo crecieron tres bacterias morfológicamente diferentes. De acuerdo con Rodríguez *et al.* (2002), en Cuba y Guatemala la pudrición del cogollo de la piña es causada por *Phytophthora parasitica*, la cual ocasiona pudrición en raíces y tallos, desprendimiento de hojas y olor putrefacto. Por otra parte, las tres bacterias encontradas no causaron respuesta de hipersensibilidad en hojas de tabaco ni maceración de tejido en rodajas de papa. Por lo cual se descartan como fitopatógenas (Moya-Hernández *et al.*, 2015; Rodríguez, 2006).

### Caracterización morfológica

En medio de cultivo V8 el oomycete desarrolló colonias esponjosas, de crecimiento algodonoso en forma de roseta (Figura 2a), micelio cenocítico, en su mayoría de crecimiento aracnoide (Figura 2b) el esporangio predominantemente presentó una forma oval con papila pronunciada

de 44  $\mu\text{m}$  de largo x 35  $\mu\text{m}$  de ancho (Figura 2c). Las clamidosporas fueron estructuras intercalares y terminales (28  $\mu\text{m}$  de diámetro en promedio) (Figura 2d). Según Gallegly y Hong (2008) las características encontradas en el estudio coinciden con la especie *Phytophthora nicotianae* (= *P. parasitica*).



**Figura 2. a) Colonia de *Phytophthora nicotianae*, creciendo en medio de cultivo V8-agar; b) esporangios y micelio con crecimiento aracnoide; c) Esporangio con papila y d) Clamidospora intercalar.**

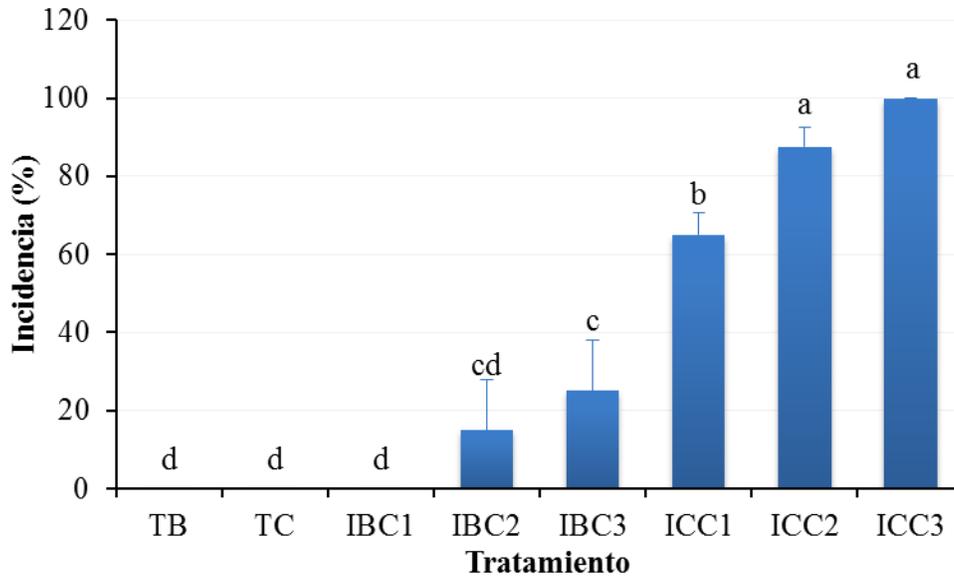
### **Identificación molecular**

Se tuvo un producto amplificado por PCR de 850 pb con los iniciadores ITS4 e ITS6 a partir del DNA del oomycete aislado de plantas de piña con marchitez del cogollo. Al comparar las secuencias de estos productos con la base de datos del Banco de Genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2015) se tuvo 100% de similitud con *Phytophthora nicotianae*, la cual fue registrada con el número KJ562359. La especie encontrada en piña de las localidades de México coincide con la reportada por Rodríguez (2002).

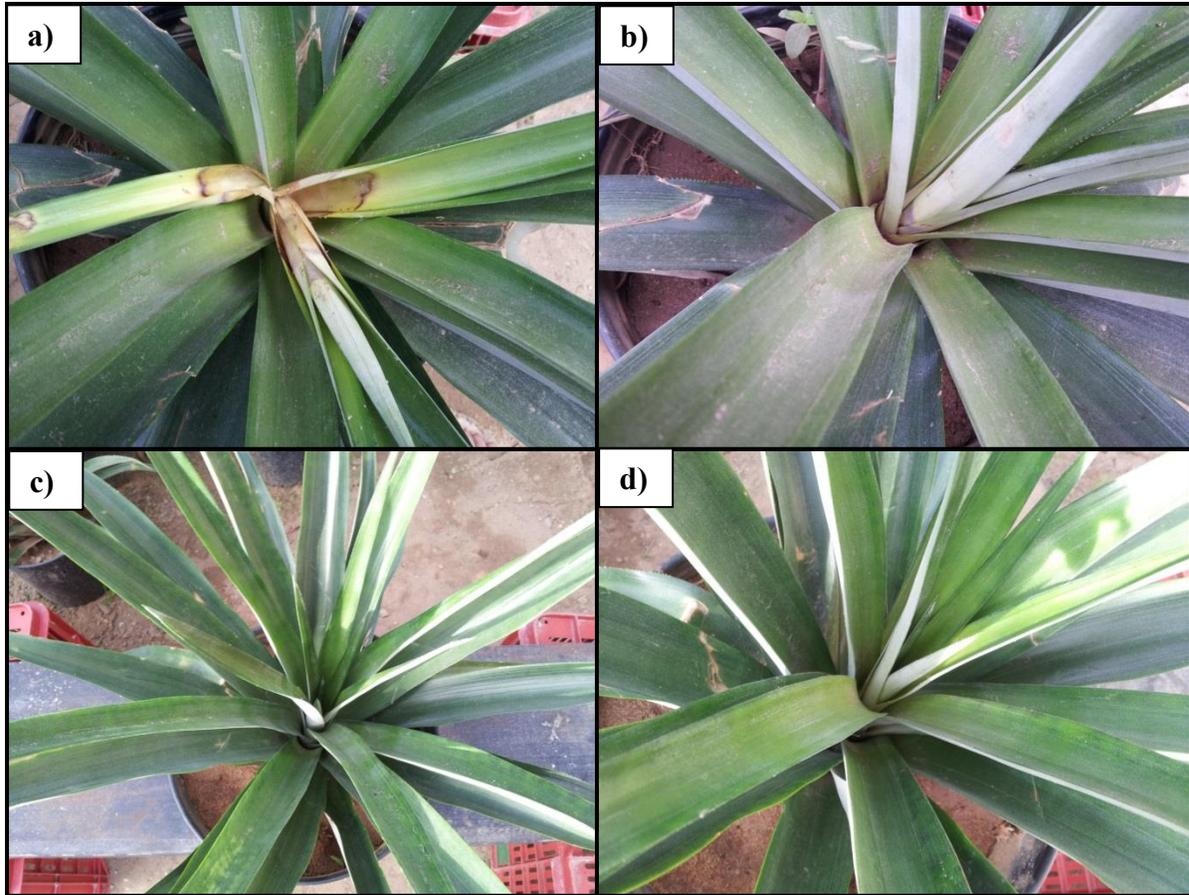
### **Pruebas de patogenicidad**

El síntoma de la enfermedad en plantas de piña se apareció a los 10 días posteriores a la aplicación de  $1 \times 10^6$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$  (ICC3) en cogollo (Figura 4). Los tratamientos ICC2 ( $1 \times 10^5$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$ ) e ICC1 ( $1 \times 10^4$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$ ) mostraron síntomas de pudrición a los 20 y 27 días después de la inoculación, respectivamente (Figura 3). La inoculación al cogollo fue la más eficiente para inducir la enfermedad (Figuras 3a y 3b). Se observaron diferencias estadísticas significativas en el porcentaje de incidencia (Tukey,  $\alpha=0.05$ ), según el sitio de inoculación y la concentración de inóculo. Concentraciones de  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$  (tratamientos ICC2 y ICC3) aplicadas al cogollo presentaron los mayores porcentajes de incidencia (87.5 y 100%, respectivamente) (Figura 3). Las hojas de piña están en forma de espiral, formando una roseta compacta en su base (Bartholomew *et al.*, 2003). Esta característica morfológica permite la acumulación de agua en el cogollo por periodos prolongados, favoreciendo las condiciones necesarias para el desarrollo de patógenos. *Phytophthora* es un oomycete que requiere condiciones de alta humedad (periodos prolongados de lluvia) para la producción de esporangios

e iniciar nuevas infecciones, ocasionando un mayor daño al cultivo (Ariza *et al.*, 2008). Lo anterior, explica la alta incidencia de *Phytophthora nicotianae* en el cogollo de piña.



**Figura 3. Porcentaje de incidencia de plantas de piña con pudrición del cogollo inoculadas con *Phytophthora nicotianae* en dos sitios y tres concentraciones de zoosporas mL<sup>-1</sup>. TB: testigo con aplicación de agua destilada estéril en la base de la planta; TC: testigo con aplicación de agua destilada estéril en el cogollo; IBC1: inoculación en la base de la planta con 1x10<sup>4</sup> zoosporas mL<sup>-1</sup>; IBC2: inoculación en la base de la planta con 1x10<sup>5</sup> zoosporas mL<sup>-1</sup>; IBC3: inoculación en la base de la planta con 1x10<sup>6</sup> zoosporas mL<sup>-1</sup>; ICC1: inoculación en el cogollo de la planta con 1x10<sup>4</sup> zoosporas mL<sup>-1</sup>; ICC2: inoculación en el cogollo de la planta con 1x10<sup>5</sup> zoosporas mL<sup>-1</sup>; ICC3: inoculación en el cogollo de la planta con 1x10<sup>6</sup> zoosporas mL<sup>-1</sup>. <sup>1</sup>Barras con diferente literal son estadísticamente diferentes Tukey ( $\alpha= 0.05$ ).**



**Figura 4. a) Planta de piña inoculada en el centro del cogollo; b) planta de piña inoculada en la base; c) planta testigo con agua estéril en la base de la planta y d) planta testigo con agua esteril en el cogollo.**

#### **Control *in vitro***

De acuerdo con los resultados de  $CE_{50}$  de los productos evaluados para el control *in vitro* de *P. nicotianae*, se tuvo que el ingrediente activo TCMTB disminuyó significativamente el crecimiento micelial de *P. nicotianae* ( $CE_{50} = 0.003 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) (Cuadro 3). Estudios realizados por Pérez-Moreno *et al.* (2003) indicaron mayor inhibición de *Phytophthora capsici* con TCMTB, debido al efecto directo del fungicida sobre la fisiología del oomycete. Asimismo, se ha

encontrado que TCMTB también puede controlar daños de *Rhizoctonia solani* en brotes de papa (Pérez *et al.*, 2001), una enfermedad muy similar a la ocasionada por *Phytophthora nicotianae*. Al parecer TCMTB controla a más de una especie de hongo, por ejemplo, Pérez *et al.* (2008) reportaron que este fungicida inhibió el crecimiento micelial y reproducción de *Sclerotium rolfsii*. Por otra parte, el segundo mejor tratamiento para inhibir a *P. nicotianae* fue metalaxil ( $CE_{50} = 0.005 \mu\text{g mL}^{-1}$ ); según Fernández-Herrera *et al.* (2007) este fungicida puede controlar *Phytophthora capsici* en tomate. Aunque se conoce que metalaxil es el fungicida sistémico más efectivo para controlar el complejo de hongos de la pudrición de raíz (Xiao *et al.*, 2001), para el control *in vitro* de *P. nicotianae* se tiene mejor resultado con TCMTB. Los fungicidas clorotalonil ( $CE_{50} = 0.011 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) y trifloxistrobin ( $CE_{50} = 0.055 \mu\text{g mL}^{-1}$ ), también mostraron buen efecto inhibitorio del hongo. Estos resultados demuestran que existen varias herramientas de control químico de la enfermedad con fungicidas de diferentes modos de acción, lo cual es útil para el manejo de la resistencia del oomycete a los fungicidas (Brent y Derek, 2007).

**Cuadro 3. Valores de concentración efectiva que inhibe el 50% del crecimiento micelial ( $CE_{50}$ ) calculados para fungicidas y *Bacillus subtilis* en el control *in vitro* de *P. nicotianae*.**

Producto	$CE_{50}$ ( $\mu\text{g mL}^{-1}$ )
Trifloxistrobin	$0.055 \pm 0.019$ B
Clorotalonil	$0.011 \pm 0.001$ B
Sulfato de cobre pentahidratado	$1.498 \pm 0.030$ B
TCMTB	$0.003 \pm 0.001$ B
Propamocarb	$10.906 \pm 2.584$ A
<i>Bacillus subtilis</i> QST 713	$1.163 \pm 0.101$ B
Metalaxil	$0.005 \pm 0.002$ B

## 2.6. CONCLUSIONES

1. El agente causal de la pudrición del cogollo de la piña en las localidades de México es *Phytophthora nicotianae*.
2. Con el fungicida TCMTB ( $CE_{50} = 0.003 \mu\text{g mL}^{-1}$ ) se tuvo mayor inhibición del crecimiento micelial *in vitro* de *P. nicotianae*.
3. El mejor método de inoculación se basó en la colocación del inóculo en el cogollo de la planta a concentraciones de  $1 \times 10^5$  y  $1 \times 10^6$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$ .

## 2.7. BIBLIOGRAFIA

- Agrios, G. N. 2005.** Plant Pathology. Elsevier Academic Press. New York. 922 p.
- Anderson, J.M., Pegg, K.G., Scott, C., Drenth, A., 2011.** Phosphonate applied as a pre-plant dip controls *Phytophthora cinnamomi* root and heart rot in susceptible pineapple hybrids. Australasian Plant Pathology 41: 59–68.
- Ariza, J.G., Sarria, G.A., Torres, G.A., Varón, F. y Martínez, G. 2008.** Relación entre los síntomas externos y el avance interno de la lesión causada por la Pudrición del cogollo (PC) en palmas de vivero en Tumaco. Fitopatología Colombiana 32: 35-38.
- Bartholomew, D.P., Paull, R.E., Rohrbach, K.G. 2003.** The pineapple: botany, production and uses. Bartholomew, D.P., Paull, R.E., Rohrbach, K.G. (eds). CABI Publishing, Wallingford, UK. pp 1-301.
- Brent, K.J. and Derek, W. H. 2007.** Fungicide resistance in crop pathogens: How can it be managed. FRAC Monograph No. 3. Technical Sub-Group of Croplife International. <http://www.frac.info/publications/downloads>. (consultada, 13 de noviembre 2015).

- Caamal CI, Tun-Ku JP. 2003.** Distribución, comportamiento y rentabilidad del cultivo de la piña en México. Pronisea-Dicea-Uach, Chapingo, México. 112 p.
- Chan YK, Coppens d'Eeckenbrugge G, Sanewski GM. 2003.** Breeding and variety improvement. *In:* Bartholomew DP, Paull RE, Rohrbach KG (eds) The pineapple, botany, production and uses. CABI Publishing, New York, pp 33–55.
- Doyle, J. J. and J. L. Doyle. 1990.** A rapid total DNA preparation procedure for fresh plant tissue. *Focus* 12:13-15.
- FAOSTAT. 2013.** Food and Agriculture Organization. (En línea): <http://faostat.fao.org>. (Consultado 09, octubre de 2013).
- Fernández-Herrera, E., M. Acosta-Ramos, F. Ponce-González y V. Manuel-Pinto. 2007.** Manejo Biológico de *Phytophthora capsici* Leo., *Fusarium oxysporum* Schlechtend.:Fr. y *Rhizoctonia solani* Kühn en Jitomate (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Revista Mexicana de Fitopatología* 25: 35-42.
- Gallegly, M. E., C. X. Hong. 2008.** *Phytophthora*: Identifying Species with Morphology and DNA Fingerprints. APS Press. ST. Paul, MN USA. 158 p.
- Hernández-Mansilla, A. A., A. Sierra-Peña, N. Pérez-Valdés, O. Concepción-Laffitte, D. Escalante and C. Rosón Alvares. 2005.** Incidence, estimate of losses and management in the control of fungi pathogens in systems of propagation of pineapple crops (*Ananas escamosus* L.) *in vitro*. *Acta Horticulturae* 666: 117-125.
- Kaneshiro, W. S., Burger, M., Vine, B. G., De Silva, A. S., and Álvarez, A. M. 2008.** Characterization of *Erwinia chrysanthemi* from a bacterial heart rot of pineapple outbreak in Hawaii. *Plant Disease* 92:1444-1450.

- Moya-Hernández, S. L., Ma. De L. Rodríguez-Mejía y M. Espinosa-Mendoza. 2015.**  
*Xanthomonas campestris* pv. *campestris* causante de manchas foliares del filodendro (*Philodendron scadens* subsp. *oxycardium*) en Cuautla, Morelos, México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas 6: 391-397.
- NCBI, National Center for Biotechnology Information. 2012.** Gen Bank.  
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/>. (consultada, 10 de noviembre 2015).
- Pegg GK. 2003.** Disease: Fungi. In: Bartholomew DP, Paull RE, Rohrbach KG (Eds). The Pineapple: Botany, production and uses. 11-14 pp.
- Pérez-Moreno, L., L. J. Durán-Ortiz, R. Ramírez-Malagón, J. R. Sánchez-Pale. 2003.**  
Compatibilidad fisiológica y sensibilidad a fungicidas de aislamientos de *Phytophthora capsici* Leo. Revista Mexicana de Fitopatología 21: 19-25.
- Pérez-Moreno, L., J. J. Villalpando-Mendiola, C. Castañeda-Cabrera y R. Ramírez-Malagón. 2008.** Sensibilidad *in vitro* de *Sclerotium rolfsii* Saccardo, a Los Fungicidas Comúnmente Usados Para su Combate. Revista Mexicana de Fitopatología 27: 11-17.
- Pérez, M. Luis. J. O. Castillo y F. J. Cantú. 2001.** Efectividad biológica de TCMTB para el control de la Costra Negra *Rhizoctonia solani* Kühn de la papa *Solanum Tuberosum* L., en la región de León, Guanajuato, México. Acta Universitaria 11: 16-21.
- Pornsuriya, C.; Wang, H.K.; Lin, F.C.; Soyong, K. 2008.** First report of pineapple root rot caused by *Pythium graminicola*. Journal of Agricultural Technology 4:139-150.
- Rebolledo, M. A., Del Ángel P. A. L., Rebolledo, M. L., Becerril, R. A. E., Uriza, A. D. 2006.**  
Rendimiento y calidad de fruto de cultivares de piña en densidades de plantación. Revista Fitotecnia Mexicana 29: 55-62.

- Rodríguez Y. M. Mosqueda, B. Companioni, M. Arzola, O. Borrás, M. C. Pérez, J. C. Lorenzo and R. Santos. 2002.** Bioassay for *in vitro* differentiation of pineapple cultivar resistance levels to heart rot disease. *In Vitro Cell. Development Biology Plant* 38:613–616.
- Rodríguez, M. M. 2006.** Manual para la identificación de bacterias fitopatógenas. Universidad Autónoma Chapingo. Departamento de Parasitología Agrícola. Texcoco, Estado de México. 146 p.
- Rohrbach KG, Leal F, Coppens DG. 2003.** History, distribution and World production. *In:* Bartholomew DP, Paull RE, Rohrbach KG (Eds.). *The Pineapple: Botany, production and uses.* pp. 1-12.
- SAS Institute. 2003.** SAS/STAT User's Guide. Version 9.1. Volumes 1-7. SAS Institute Inc., Cary, N. C., USA.
- White, T. J., Lee, B. S. and Taylor, J. 1990.** Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. p. 315 – 322. *In:* Innis, M. A., Gelfand, D. A., Sninsky, J. J., White, T. J. (eds.). *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications,* Academic Press, CA, U.S.A.
- Xiao, K., L. L. Kinkel and D. A. Samac. 2001.** Biological control of *Phytophthora* root rots on alfalfa and soybean with *Streptomyces*. *Biological control* 23: 285-295.

### CAPITULO III. MANEJO INTEGRADO DE LA PIÑA PARA EL CONTROL DE LA PUDRICIÓN DEL COGOLLO, NEMATODOS Y MICOFLORA

Luis Alfonso Aguilar-Pérez<sup>1</sup>, Daniel Nieto-Angel<sup>1</sup>, Daniel Leobardo Ochoa-Martinez<sup>1</sup>, David Espinosa-Victoria<sup>2</sup>, Andrés Rebolledo-Martinez<sup>3</sup>, Abel Rebouças-São José<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Fitopatología, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. C.P. 56230;

<sup>2</sup>Edafología, Colegio de Postgraduados, Montecillo, Texcoco, México. C.P. 56230; <sup>3</sup>Instituto Nacional de Investigaciones Forestales, Agrícolas y Pecuarias, Campo Cotaxtla, Medellín de Bravo, Veracruz, México, C.P. 94270; <sup>4</sup>UESB/DFZ, Est. do Bem Querer Km 4, CEP 45.083-900, Vit. da Conquista-BA.

#### 3.1. RESUMEN

En las regiones donde se cultiva la piña, se caracteriza por tener suelos ácidos, son condiciones ideales para el desarrollo y sobrevivencia de algunos patógenos del suelo que disminuyen la calidad y rendimiento. Con el objetivo de conocer el manejo integrado de la piña y su efecto en el crecimiento de la planta, las poblaciones de nematodos y de hongos, se desarrolló un experimento en la localidad de Juan Rodríguez Clara, Veracruz. Los tratamientos fueron con y sin cal dolomítica, acolchado plástico e incorporación de *Crotalaria*. Se utilizó un diseño de experimental completamente al azar con un arreglo de parcelas subdivididas. Se evaluó la altura de planta, peso de frutos y rendimiento por hectárea, porcentaje de incidencia de la pudrición de cogollo, identificación y conteo de poblaciones de nematodos fitoparásitos y de hongos. El acolchado plástico y la *Crotalaria* incrementaron la altura de planta, peso de frutos y el rendimiento por hectárea. Con la cal dolomítica incrementó el porcentaje de incidencia (17.84%) de *Phytophthora nicotianae*, mientras que la *Crotalaria* mostró la menor incidencia (9.84%). Los géneros de nematodos encontrados fueron: *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Mesocriconema*; en

hongos: *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Cladosporium* y poblaciones de oomycetes. La *Crotalaria* disminuyó las poblaciones de patógenos del suelo (*Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Mesocriconema* y oomycetes), y a la vez favoreció al desarrollo de hongos benéficos (*Trichoderma* y *Aspergillus*). La cal dolomítica benefició únicamente a las poblaciones de *Aspergillus* y mantuvo controlado a los patógenos de la clase oomycetes.

**Palabras clave:** *Ananas comosus.*, cal dolomítica, acolchado plástico, *Crotalaria*, hongos del suelo, *Phytophthora nicotianae*.

### 3.2. ABSTRACT

In regions where pineapple is cultivated, it is characterized to have acid soils are ideal conditions for the development and survival of some soil pathogens that decrease the quality and yield. With the objective to know the integrated management of the pineapple and its effect on plant growth, the populations of nematodes and fungi, an experiment was conducted in the locality of Juan Rodríguez Clara, Veracruz. The treatments with and without dolomitic, plastic mulch and incorporation of *Crotalaria*. Experimental design was completely randomized with an arrangement of subdivided parcels. Was evaluated plant height, percentage of incidence of heart rot of pineapple, Fruit weight and yield per hectare, identification and counting of populations of plant parasitic nematodes and fungi. The *Crotalaria* and plastic mulch plant height increases, fruit weight and yield per hectare. With dolomitic increases the incidence rate (17.84%) of *Phytophthora nicotianae* while the *Crotalaria* showed the lowest incidence (9.84%). The nematode genera found were *Meloidogyne*, *Pratylenchus* and *Mesocriconema*; in fungi: *Trichoderma*, *Aspergillus*, *Cladosporium* and oomycetes populations. The *Crotalaria* reduce pathogen populations soil (*Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Mesocriconema* and oomycetes), and

also increased the development of beneficial fungi (*Trichoderma* and *Aspergillus*). Dolomitic only increased populations of *Aspergillus* and controlled pathogens of class oomycetes.

**Keywords:** *Ananas comosus*, dolomitic, plastic mulch, *Crotalaria*, soil fungi, *Phytophthora nicotianae*.

### 3.3. INTRODUCCIÓN

En México el cultivo de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.), en los últimos años ha experimentado un aumento significativo; es fuente importante de empleos y de divisas. En el 2014, México cosechó más de 817 462 t de fruta fresca en 18 960 ha, con un rendimiento promedio de 43 t ha<sup>-1</sup> (SAGARPA, 2016). El cultivar más sembrado es ‘Cayena Lisa’, con casi el 80 % de la plantaciones; sin embargo, se producen también los cultivares ‘Champaka’ y el híbrido MD-2 (Rebolledo *et al.*, 2006). Esta última es más atractiva para el consumidor por sus propiedades organolépticas, color, firmeza y apariencia de la pulpa; no obstante, el MD-2 es el más susceptible a pudrición de cogollo, además de bacteriosis y nematodos (Chan *et al.*, 2003). Las condiciones climáticas necesarias para cultivar piña favorecen la presencia de plagas y enfermedades que reducen el rendimiento y calidad de la fruta (Anderson *et al.*, 2011). Los hongos fitopatógenos ocupan un lugar importante por los daños que causan a las plantas de piña en las diferentes fases del cultivo, tanto plantas en desarrollo como en fructificación y cosecha (Hernández *et al.*, 2011). Al mismo tiempo, se tienen reportes que en el cultivo de piña en México están asociados diferentes géneros de nematodos fitófagos como: *Helicotylenchus*, *Pratylenchus*, *Rotylenchus*, *Hoplolaimus*, *Criconemoides*, *Tylenchus*, *Ditylenchus* y *Meloidogyne* (García *et al.*, 2005). Para el control de estos microorganismos se han incurrido al uso irracional de pesticidas sintéticos que han degradado y empobrecido la flora y fauna microbiana. Para encontrar el mejor método de control que ayude a reducir los daños que ocasionan las

enfermedades se tiene que recurrir al manejo integrado, por ejemplo: cultivos más resistentes (Smith *et al.*, 2006), aplicación racional de pesticidas químicos (Nel *et al.*, 2007), control biológico utilizando microorganismos antagónicos (Wang *et al.*, 2013) y rotación de cultivos (Zhang *et al.*, 2013). Diferentes sistemas de rotación de cultivos tienen efectos de supresión para enfermedades, también algunos son alelopáticos y por el incremento de la masa microbiana en el suelo aparecen microorganismos antagónicos (Larkin y Halloran, 2014; Winter *et al.*, 2014). Por ello, el objetivo de este trabajo es evaluar el manejo integrado de la piña con la aplicación de cal dolomítica, uso del acolchado plástico y la siembra e incorporación de la *Crotalaria* sp., sobre las poblaciones de nematodos y hongos de la rizosfera.

### **3.4. MATERIALES Y MÉTODOS**

#### **Sitio Experimental**

La investigación se desarrolló en la localidad de Juan Rodríguez Clara, Veracruz, ubicado a los 18° 1' 11.62" N y 95° 24' 4.31" O, a una altitud de 124 m. El suelo es de textura franco arenoso con 0.68% de materia orgánica (pobre), bajo y muy bajo en contenido de P, K, Ca y Mg (4.98, 49.20, 124.00 y 19.70 ppm, respectivamente), de los micronutrientes el Fe se encuentra en mayor cantidad con 29.4 ppm. El pH es fuertemente ácido (4.92) y una conductividad eléctrica muy baja (0.16 dS m<sup>-1</sup>).

#### **Material Vegetal y Establecimiento del Experimento**

El estudio se desarrolló en cultivo de piña, utilizando material vegetativo de tipo "gallo" de la variedad "MD2". Los hijuelos se seleccionaron con un peso promedio de 820 g y trasplantados el 21 de mayo de 2014.

## **Tratamientos y Diseño Experimental**

Se utilizó un diseño experimental completamente al azar con un arreglo de parcelas subdivididas. El encalado se consideró como la parcela grande, mientras que el acolchado y la incorporación de la *Crotalaria* sp. como parcelas mediana y chica, respectivamente. Antes de la siembra se aplicó cal dolomita [CaMg (CO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] de forma manual a una dosis de 2 t ha<sup>-1</sup>, ésta se consideró como la parcela grande. En la parcela mediana se colocó acolchado plástico calibre 90 de color negro y en la parcela chica la siembra e incorporación de *Crotalaria*. Previamente esta especie vegetal se sembró en hileras a una distancia de 0.80 m, colocando las semillas en banda utilizando 20 kg ha<sup>-1</sup>; pasados 138 días (etapa de floración) se chapeó e incorporó todo el abono verde con dos pases de rastra. Por otra parte, la piña se plantó en camas de siembra separadas a una distancia de 1.25 m de centro a centro con doble hilera espaciadas a 0.45 m.

## **Manejo del Cultivo**

La fertilización se realizó con base a una densidad de 45 000 plantas ha<sup>-1</sup> y de acuerdo con la dosis recomendada para el cultivo en la región (Rebolledo *et al.*, 1998). Se aplicaron 14-8-14-4 g planta<sup>-1</sup> de Nitrógeno, Fósforo, Potasio y Magnesio, divididas en cuatro aplicaciones, según la etapa fenológica del cultivo. Para cubrir la demanda nutrimental de microelementos se aplicaron 46, 35, 20, 40 y 8 g de Zn, B, Mn, Cu y S, respectivamente (Rebolledo *et al.*, 2006). Adicionalmente, se efectuaron tres aplicaciones de carburo de calcio para la inducción floral a intervalos de tres días a una dosis de 2 Kg en 180 L de agua por ha<sup>-1</sup>, aplicando 60 mL por planta directamente al cogollo. Asimismo, el control de plagas y de malezas se realizó de acuerdo con lo establecido por las recomendaciones técnicas en la región (Rebolledo *et al.*, 1998).

## **Variables de Estudio en el Cultivo**

### **Altura de Planta**

Un mes después del trasplante se llevaron a cabo mediciones cada tres meses de la altura de planta con una cinta métrica, midiendo desde la base de la planta hasta la punta de la hoja D (hoja más alta), en donde se efectuaron un total de 6 mediciones. Para el registro, se tomaron diez plantas por unidad experimental, es decir, 40 plantas por tratamiento.

### **Peso de Fruto por Planta y Rendimiento por Hectárea**

El peso promedio de fruto por planta se obtuvo al dividir el peso total entre el número total de frutos cosechados por unidad experimental y el rendimiento se determinó mediante la multiplicación del peso promedio de fruto por la densidad de plantación (45 000 plantas ha<sup>-1</sup>).

### **Incidencia de la Pudrición del Cogollo**

Se llevaron a cabo 15 evaluaciones mensuales después del trasplante para el porcentaje de incidencia de la pudrición del cogollo. Dentro de la parcela útil de cada unidad experimental se tomaron 30 plantas y se observaron el número de plantas con síntomas de la enfermedad, con los datos recolectados se determinó el porcentaje de incidencia.

### **Población de Nematodos**

En cada unidad experimental se colectó una muestra compuesta de diez submuestras con 100 g de suelo cada una a intervalos de tres meses. De la muestra compuesta se tomaron 300 g de suelo para la extracción de nematodos por el método de tamizado-centrifugado (s'Jacob y van Bezooijen, 1984).

### **Cuantificación de Micoflora en el Rizoplano**

De cada muestra compuesta de suelo se pesaron 10 g y se agregaron en 90 mL de agua destilada estéril en un matraz de 125 mL, se realizaron diluciones hasta 10<sup>-3</sup>. Se utilizó el medio de cultivo

Papa Dextrosa Agar, Penetrex<sup>®</sup> (nonilfenol polioxietilenado, alcohol tridecílico polioxietilenado), Estreptomicina (PDA-PS) con 0.5 mL del surfactante comercial Penetrex<sup>®</sup>, 0.01 g de Estreptomicina y 0.0075 g de clorhidrato de tetraciclina, se agitó el medio suavemente para no formar burbujas. De la dilución  $10^{-3}$  se colectaron 10 muestras de 0.1 mL y se agregaron al medio PDA-PS. El material se incubó durante siete días a temperatura ambiente de 22 a 24°C. Se contabilizaron las Unidades Formadoras de Colonias (UFC), de cada organismo fungoso desarrollado.

### **Análisis Estadístico**

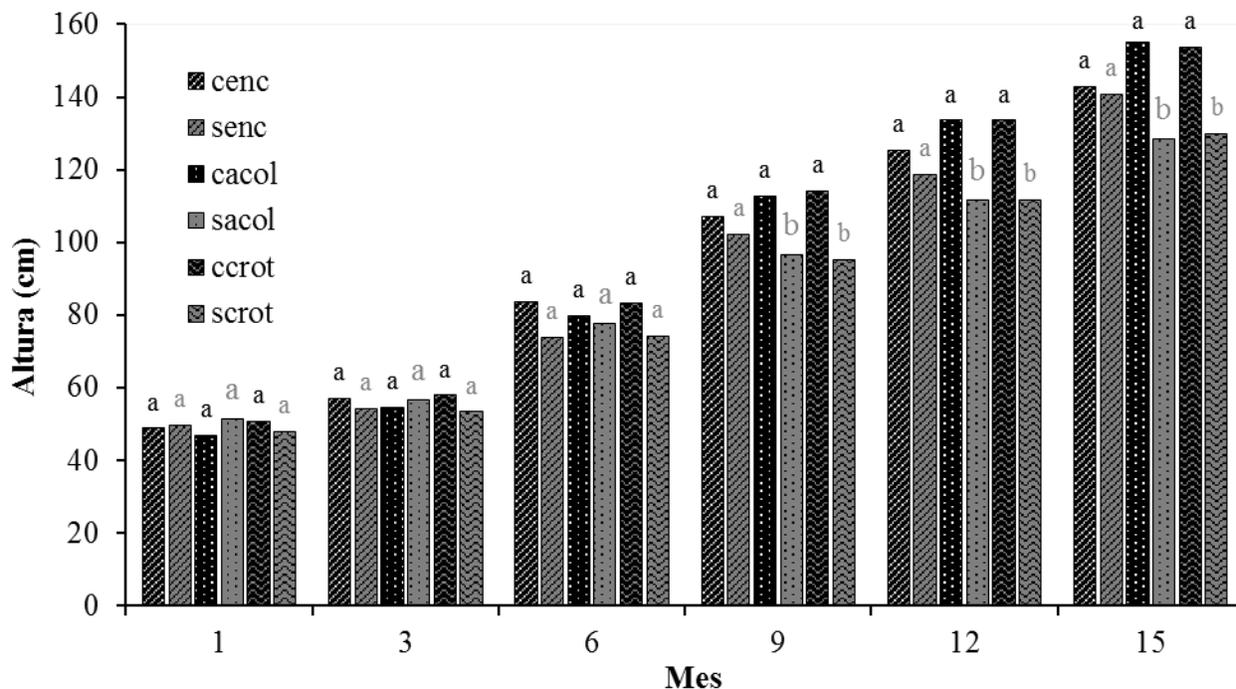
Los datos obtenidos se les realizó un análisis de varianza y prueba de comparación de medias de Tukey ( $p \leq 0.05$ ) con el programa estadístico, Statistical Analysis System (SAS Institute, 2002).

## **3.5. RESULTADOS Y DISCUSIÓN**

### **Altura de Planta**

En el primer, tercer y sexto mes después del trasplante no se tuvo diferencias estadísticas significativas en la altura de planta por efecto del encalado, acolchado e incorporación de la *Crotalaria* sp. (Figura 1). A partir del noveno mes con el uso del acolchado plástico (cacol) y la incorporación de *Crotalaria* (ccrot) comenzaron a favorecer el crecimiento de la piña en la variable altura de planta. Los resultados de esta investigación concuerdan con los estudios de Rebolledo-Martínez *et al.* (2005) en donde obtuvieron mayor tasa de crecimiento relativo de la piña con cubierta plástica. Se ha observado que el uso del acolchado plástico mejora la capacidad de retención de humedad, evita la compactación de suelos y el crecimiento de malezas, además de mantener la temperatura del suelo en valores adecuados para el crecimiento y desarrollo de raíces, favoreciendo a un incremento en el rendimiento de los cultivos (Chen *et al.*, 2015). La *Crotalaria* sp. como la mayoría de las leguminosas se caracterizan por fijar nitrógeno en suelo y

es usado como abono verde, además es supresor de nematodos (Wang *et al.*, 2002); ésta característica favoreció a un mejor crecimiento en altura de planta con el tratamiento donde se incorporó *Crotalaria* sp. (ccrot) a partir del noveno mes. Otros beneficios de realizar incorporación de *Crotalaria* sp. en los sitios agrícolas es el incremento de la materia orgánica y de la capacidad de retención de humedad de los suelos (Ramos *et al.*, 2010).

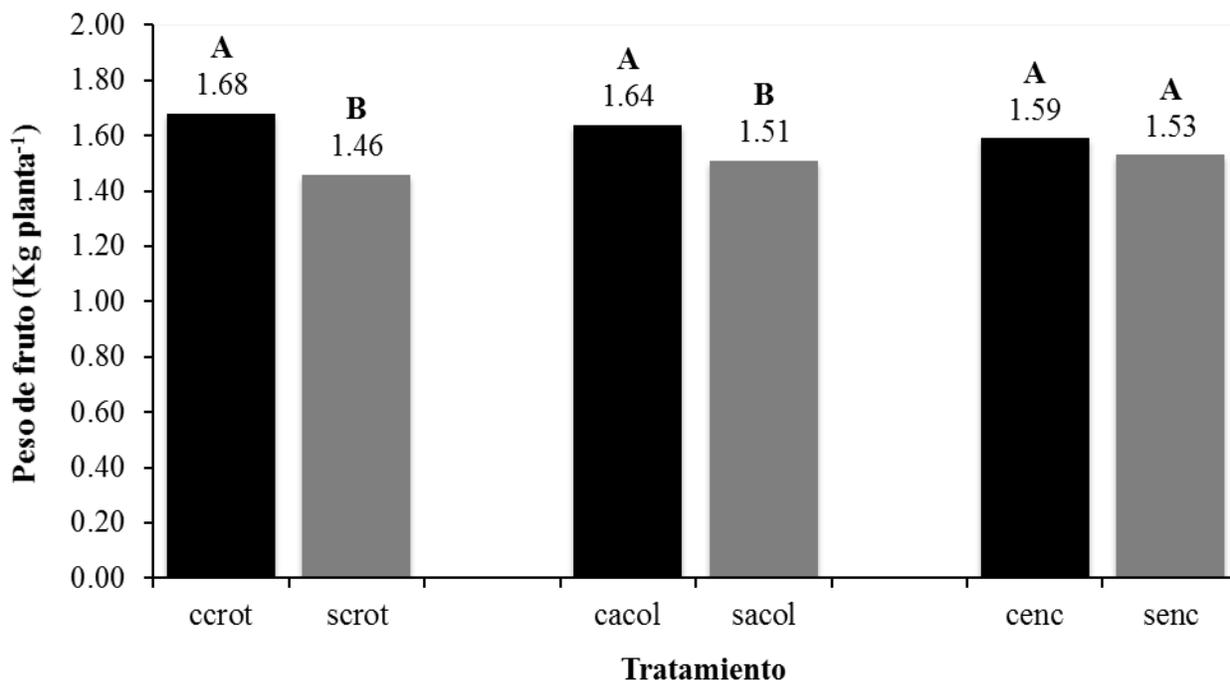


**Figura 1. Altura de planta de piña en cada tratamiento.** Letras distintas en cada par de barras de izquierda a derecha, indican diferencia estadística significativa (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

### Peso de Fruto por Planta

Con la siembra e incorporación de la *Crotalaria* y el uso del acolchado plástico se obtuvieron mayor peso de frutos por planta (Figura 2). La *Crotalaria* es fuente importante de materia orgánica al suelo, a su incorporación se traduce en una mejora de la estructura física, la fertilidad y la conservación de la humedad del suelo (Raphael *et al.*, 2016). Además, la *Crotalaria* por ser una leguminosa se asocia con bacterias fijadoras de nitrógeno, lo que aumenta el nitrógeno del suelo (Eo *et al.*, 2015). Estudios realizados por Pérez *et al.* (2005), sobre el acolchado plástico

encontraron mayor peso de frutos de piña del cultivar “Smooth Cayenne” con el uso del plástico. Se sabe que el acolchado plástico estabiliza la temperatura, la humedad del suelo y controla el crecimiento de las malezas (Wan y El-Swaify, 1999). Lo anterior, se explican mayores pesos de frutos con la *Crotalaria* y el acolchado plástico.

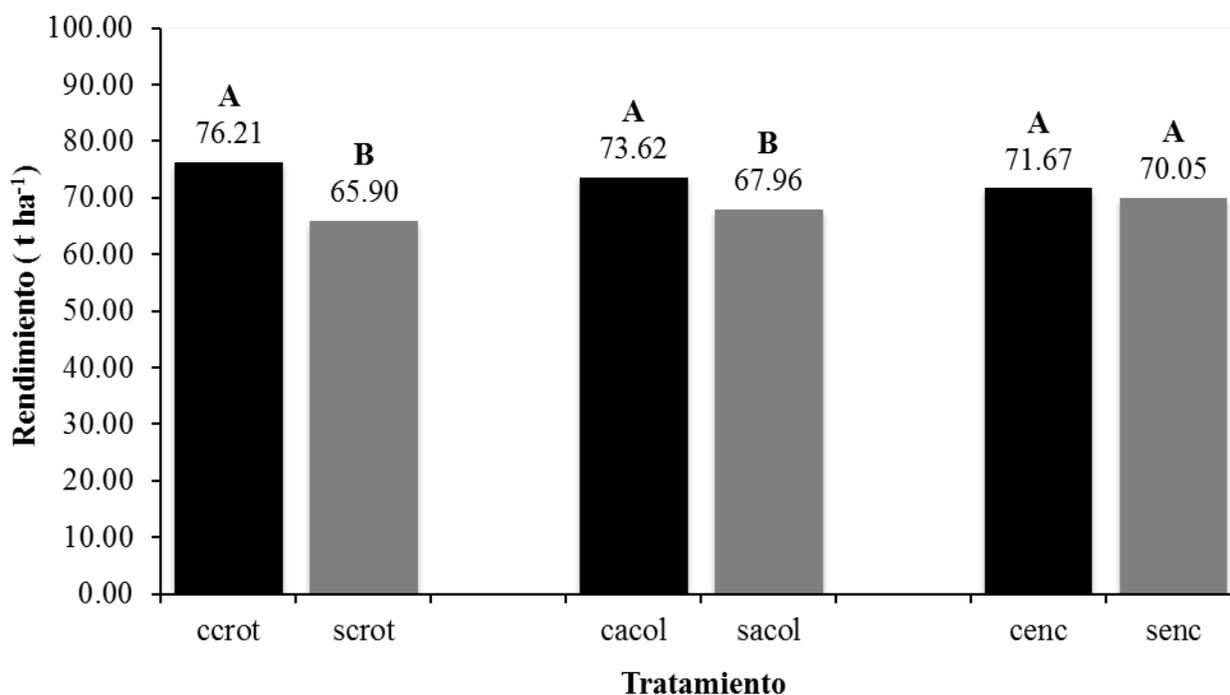


**Figura 2.** Peso de fruto promedio por planta de acuerdo a cada tratamiento. Letras distintas en cada par de barras de izquierda a derecha, indican diferencia estadística significativa (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

### Rendimiento por Hectárea

Con la *Crotalaria* y la utilización del acolchado plástico incrementaron los rendimientos de la piña, no así con el encalado (Figura 3). Los beneficios ya conocidos de la *Crotalaria* se constata con el rendimiento que se obtuvo en este estudio, de 76.21 t ha<sup>-1</sup>. También, se encontró que el acolchado plástico mejora el rendimiento del cultivo incrementado hasta 73.62 t ha<sup>-1</sup> comparada sin el uso del plástico. De acuerdo con la SAGARPA, el estado de Veracruz se llegan tener

rendimientos promedio de 43.58 t ha<sup>-1</sup>; así la *Crotalaria* y el acolchado plástico resultan ser opciones rentables para el cultivo de la piña.

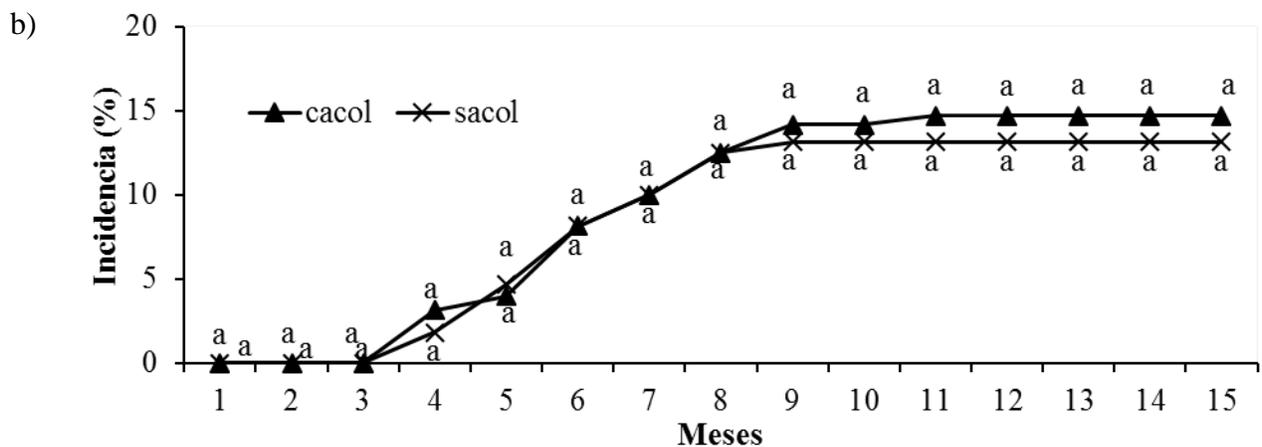
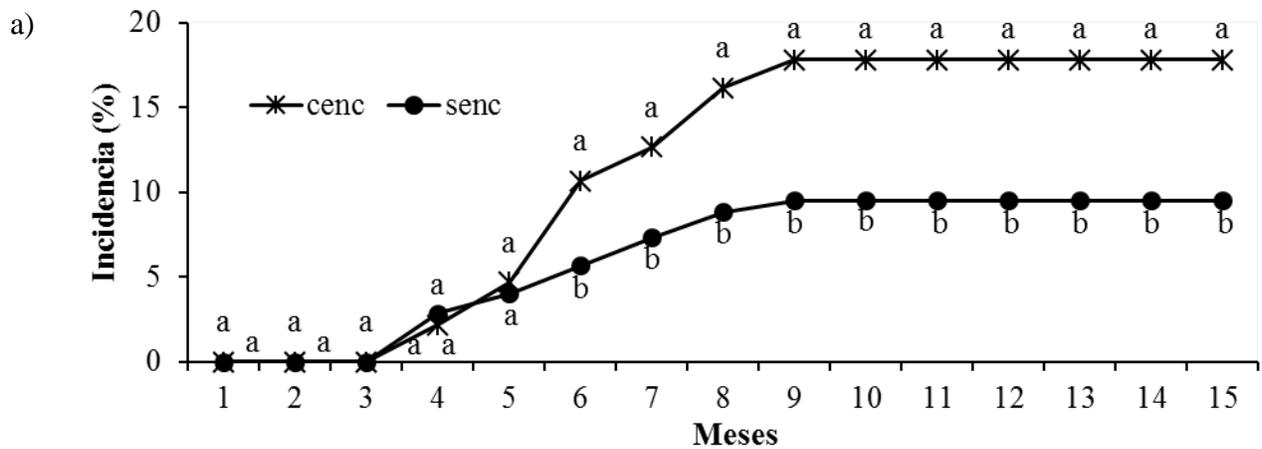


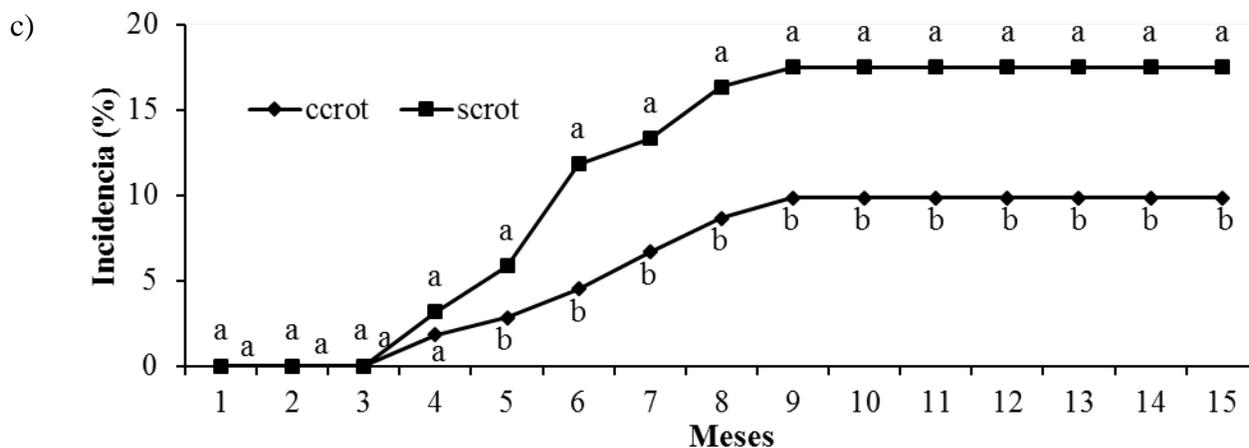
**Figura 3.** Rendimiento por hectárea de piña de acuerdo a cada tratamiento. Letras distintas en cada par de barras de izquierda a derecha, indican diferencia estadística significativa (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

### **Incidencia de la Pudrición del Cogollo**

El aumento de pH del suelo con cal dolomítica incrementó hasta en 17.84% de incidencia de plantas con síntomas de la pudrición del cogollo (Figura 4a). De acuerdo con Rebolledo *et al.* (1998), suelos con pH mayores a 5.5 favorecen a una alta incidencia de pudrición del cogollo por hongos del género *Phytophthora* spp., en especial con el cultivar MD2. Además, Hernández *et al.* (2011) mencionan que suelos ferralíticos (suelos ácidos) como el caso de la parcela experimental benefician la infestación de *Phytophthora nicotianae*. Por otra parte, el acolchado plástico no alteró el porcentaje de incidencia de la pudrición del cogollo (Figura 4b). La rotación de cultivos tienen variedad de efectos en supresión de diferentes enfermedades, por ejemplo

interrumpir el ciclo biológico de patógenos, la producción de aleloquímicos, inducir la presencia de microorganismo antagonicos, incrementar la biomasa microbiana del suelo o incrementar el carbono en el suelo por exudado o residuos de las raíces (Larkin y Halloran, 2014). Uno de los abonos verdes o especies usadas para rotación de cultivos es la *Crotalaria* sp., es una leguminosa usada para aumentar la biomasa vegetal, fijar nitrógeno en el suelo por la asociación simbiótica de bacterias y es conocida por su actividad alelopática (Ohdan, 1995). La *Crotalaria* se conoce por su capacidad de suprimir y de reducir daños ocasionados nematodos y oomycetes (Germani y Plenchette, 2005). De esta manera, el porcentaje de incidencia de la pudrición del cogollo en piña fue menor con la siembra e incorporación de *Crotalaria* sp. (Figura 4c).



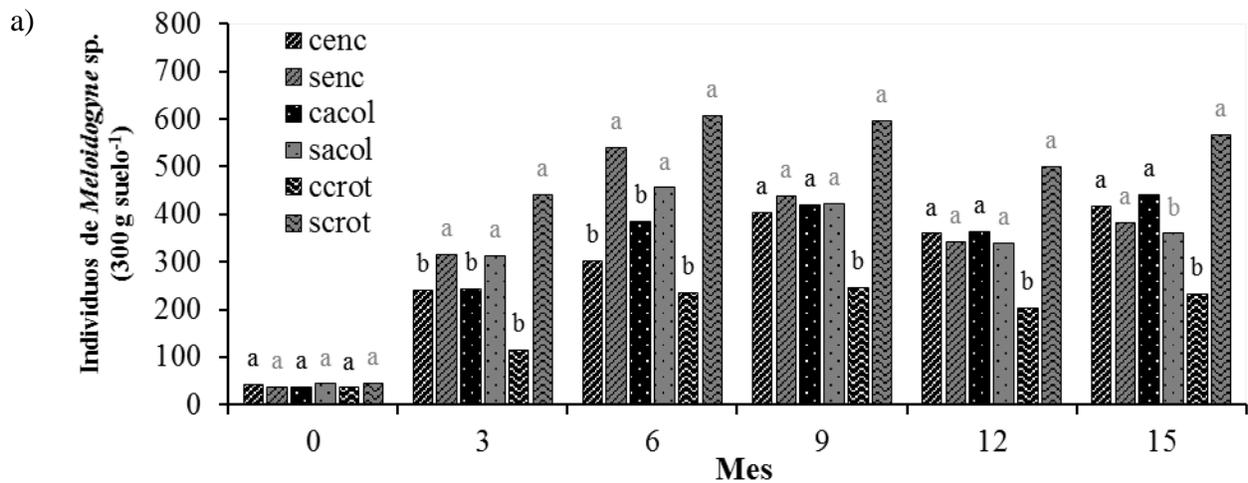


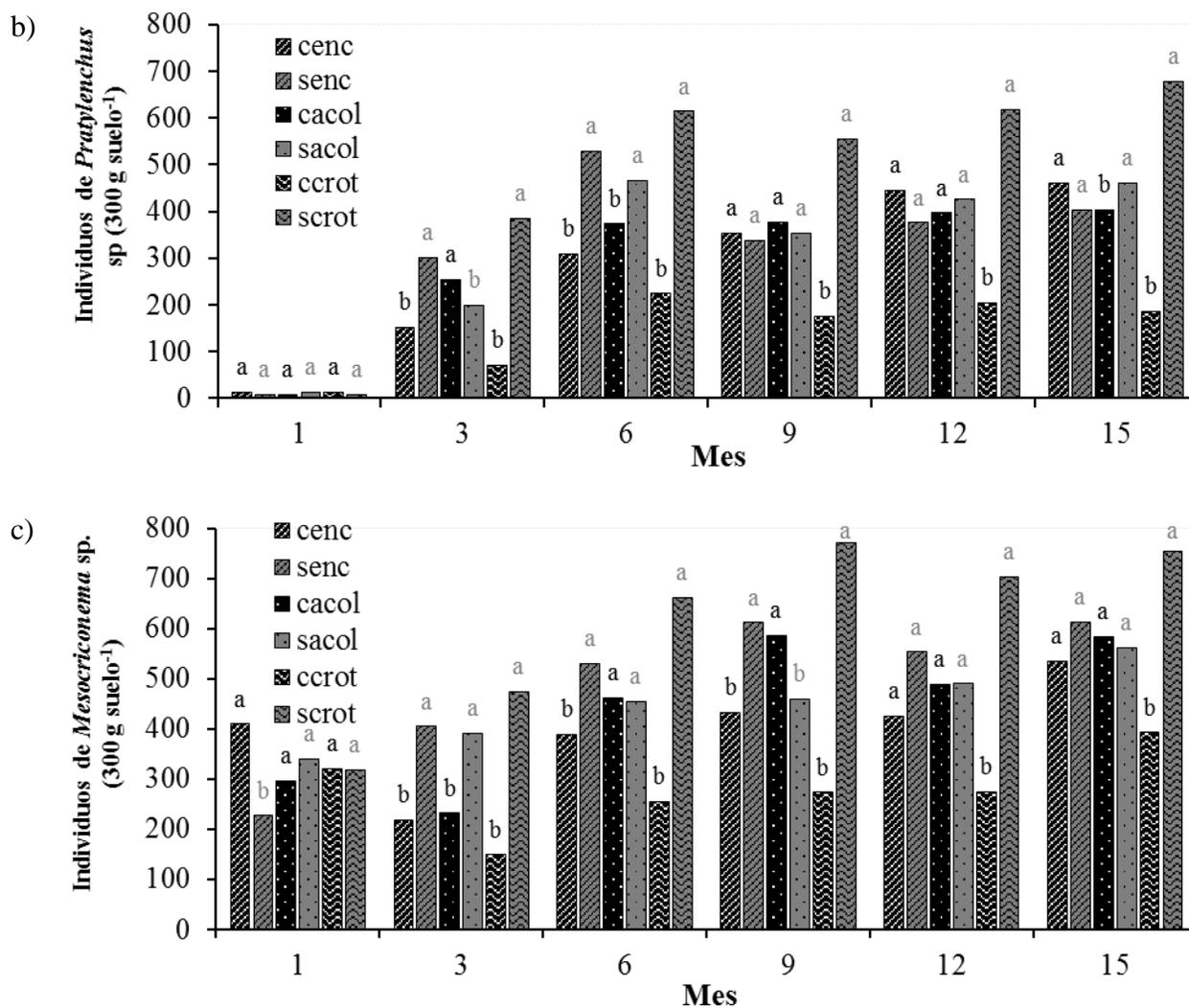
**Figura 4. Porcentaje de incidencia mensual de la pudrición del cogollo en piña.** a) Con o sin tratamiento de encalado, b) con o sin acolchado y c) con o sin *Crotalaria* sp.

#### Población de Nematodos

De la fracción de suelo muestreada se logró determinar tres especies de nematodos fitoparásitos en piña (*Meloidogyne* sp, *Pratylenchus* sp y *Mesocriconema* sp). De acuerdo con Martínez *et al.* (2015), los nematodos fitoparásitos tienen mejor desarrollo en suelos de textura franco arenosos como el tipo de suelo donde se llevó a cabo el experimento. Por otra parte, con o sin aplicación de cal dolomita y acolchado plástico se tuvo una ligera variación en la población de nematodos en algunas evaluaciones, pero no hubo una tendencia clara (Figura 5a). El uso de la cal dolomítica es para incrementar el pH del suelo y para aportar calcio y magnesio, minerales importantes para las plantas, pero de acuerdo con Guzmán *et al.* (2008), la variación de pH de los suelos no tiene efecto sobre las poblaciones de nematodos fitoparásitos. Por el contrario, con la incorporación en el suelo de la *Crotalaria* sp. (ccrot) mantuvo una menor población de nematodos a partir del tercer mes (Figura 5a). La diferencia de población de *Meloidogyne* sp entre con y sin incorporación de *Crotalaria* es de: 326, 373, 350, 298 y 335 individuos por 300 g suelo<sup>-1</sup> en el tercer, sexto, noveno, doceavo y quinceavo mes, respectivamente (Figura 5a). Los

contrastes son más evidentes en las otras dos especies de nematodos, por ejemplo para *Pratylenchus* sp se tiene una diferencia de: 314, 390, 379, 414 y 491 individuos por 300 g suelo<sup>-1</sup> en las mismas evaluaciones; muy parecido con *Mesocriconema* sp con 325, 408, 498, 430 y 363 individuos por 300 g suelo<sup>-1</sup> (Figura 5b y 5c). Uno de los beneficios de incorporar *Crotalaria* es mejorar la materia orgánica en el suelo y según estudios de Guzmán *et al.* (2008), mencionan que suelos con buen contenido de materia orgánica, el ciclo de vida de los nematodos fitoparásitos es afectado debido al desarrollo de organismos antagónicos, como bacterias y hongos nematófagos y quitiniformes, así como la competencia por espacio y alimento de los nematodos de vida libre. Además, la raíz y el exudado de la hoja de *Crotalaria* contienen alcaloides alelopáticos como la monocrotalina y la pirrolizidina, sustancias tóxicas para diversos nematodos (Wang *et al.*, 2002).





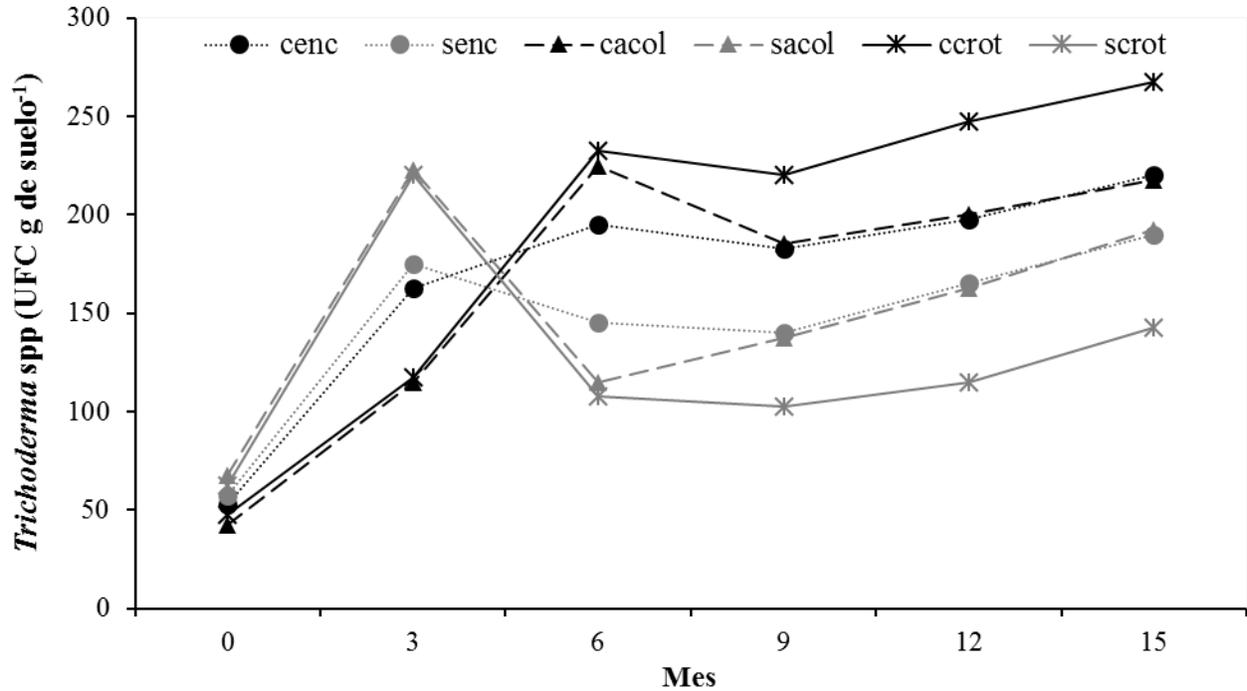
**Figura 5. Población de nematodos en 300 g de suelo. a) *Meloidogyne* sp., b) *Pratylenchus* sp., c) *Mesocriconema* sp.** Letras distintas en cada par de barras de izquierda a derecha, indican diferencia estadística significativa (Tukey,  $P \leq 0.05$ ).

### Cuantificación de Micoflora en el Rizoplano

El análisis de micoflora en el suelo mostraron la presencia de *Trichoderma* spp., *Aspergillus* spp., *Cladosporium* spp y Oomicetos, de estos últimos se engloban géneros *Phytophthora* y *Pythium*; se mencionan a nivel de clase, debido a la dificultad de la separación de géneros a este nivel de estudio.

### **Población de *Trichoderma* spp**

Los estudios muestran que el encalado, acolchado y la siembra e incorporación de *Crotalaria* sp., favorecieron las poblaciones de *Trichoderma* spp., en el suelo conforme el avance de los meses (Figura 6). El incremento del pH del suelo con cal dolomítica favoreció ligeramente las poblaciones de *Trichoderma* spp., aunque en general los hongos proliferan mejor en suelos ácidos (Alexander, 1994). De todos los tratamientos, la incorporación de *Crotalaria* incrementó considerablemente la poblacional del hongo pasando de 47.5 a 267.5 UFC g suelo<sup>-1</sup>, del muestreo previo, hasta el último muestreo. Este incremento se debió a que la *Crotalaria* es fuente importante de nitrógeno y de materia orgánica, condiciones favorables para el incremento poblacional de microorganismos (Nesci *et al.*, 2006). El uso de *Trichoderma* es frecuente como controlador antagónico de organismos fitopatógenos (Borrero *et al.*, 2012). Estudios de Harman *et al.* (2004) revelan que *Trichoderma* spp., controlan eficientemente fitopatógenos como: *Rizoctonia solani*, *Phythium ultimum* y *Sclerotium rolfsii*. Aunque se ha encontrado que hongos nativos (*Trichoderma viride*, *Trichoderma atroviride* y *Trichoderma aeuroviride*) tienen mejor inhibición de *Phytophthora nicotianae* en piña las cepas comerciales de *Trichoderma harzianum* (Hernández *et al.*, 2006).



**Figura 6.** Unidades formuladoras de colonia de *Trichoderma* sp por g de suelo.

### **Población de *Aspergillus* spp**

Khan *et al.* (2009) mencionan que *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp y *Trichoderma* sp., son un complejo de hongos que pueden controlar patógenos del suelo como: *Fusarium oxysporum*, *Macrophomina phaseolina*, *Pythium aphanidermatum*, *Rhizoctonia solani*, *Sclerotinia sclerotiorum*, *Phytophthora* spp., y *Meloidogyne incognita*. Además, suelen ser más resistentes a herbicidas, fungicidas, pesticidas y de metales tóxicos (Baytak *et al.*, 2005; Yuh-Shan, 2005; Ahmad *et al.*, 2006; Braud *et al.*, 2006). En el presente estudio se encontró que las UFC de *Aspergillus* spp., se incrementaron a través del tiempo con la aplicación de cal, el acolchado plástico y la incorporación de *Crotalaria* sp., a pesar de una menor población al inicio del muestreo comparado con los demás tratamientos (Figura 7). Con el incremento ligero del pH del suelo con cal dolomítica así como el aumento de temperatura, conservación de la humedad y la formación de nitrógeno mineralizado (Curtin *et al.*, 2011), beneficios del acolchado plástico favorecieron el aumento poblacional de *Aspergillus* spp. Asimismo, *Crotalaria* sp., ayudó a un

mejor crecimiento poblacional del *Aspergillus* spp., que confirma no solo albergar bacterias sino también flora mycobiota.

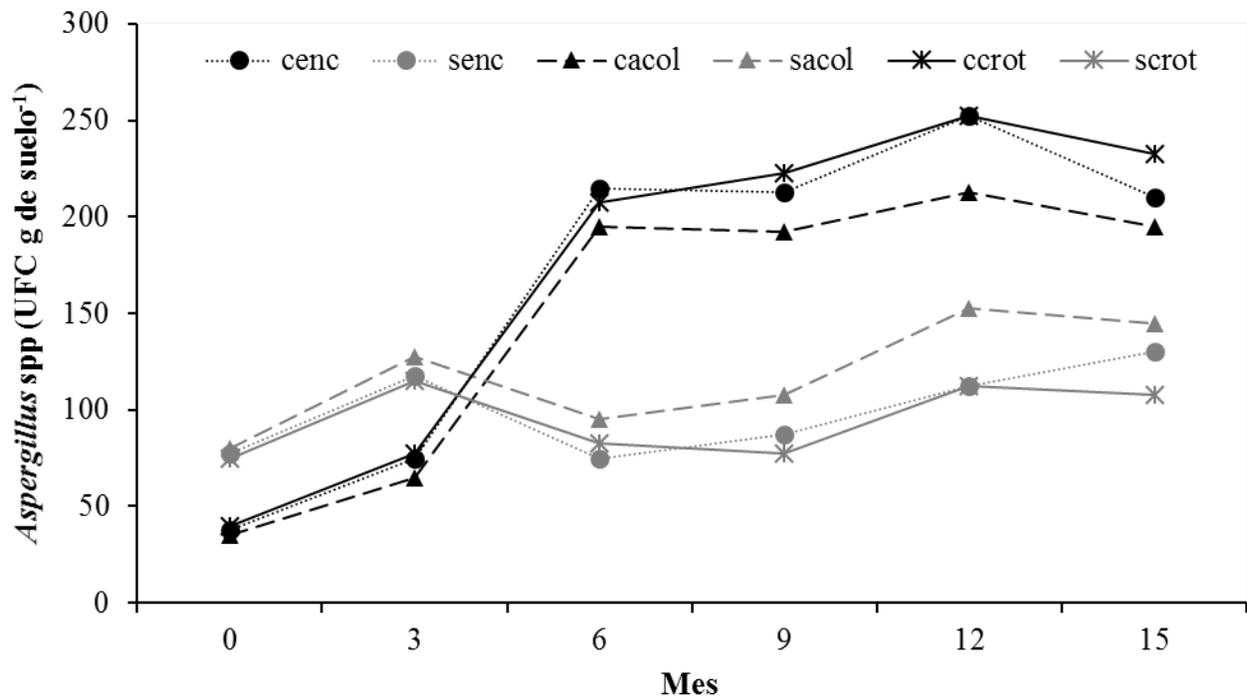
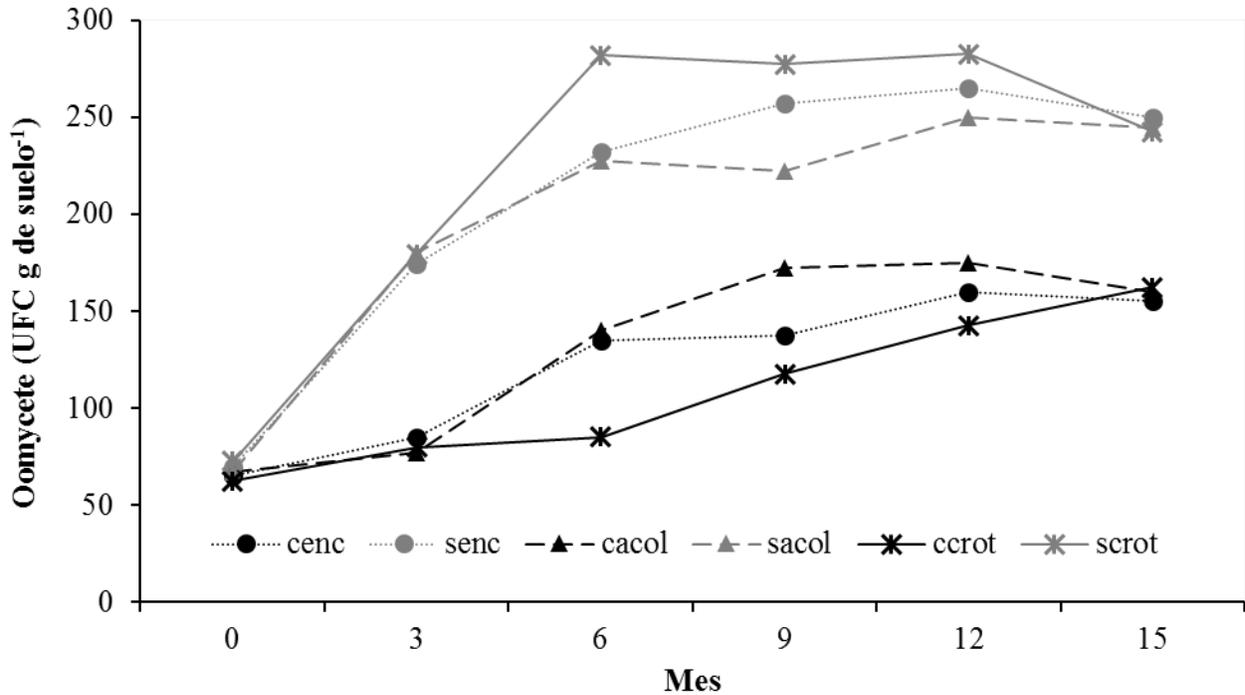


Figura 7. Unidades formadoras de colonia de *Aspergillus* spp., por g de suelo.

### Población de Oomycete

El encalado, acolchado e incorporación de *Crotalaria* sp. mantuvieron menor UFC de oomycetes y fue debido a la abundancia de hongos antagónicos como *Trichoderma* spp., y *Aspergillus* spp., (Figura 8). De acuerdo con Summers *et al.* (2014) el tipo de planta, suelo y la práctica cultural afecta toda la estructura de la comunidad microbiana en el ecosistema del suelo. En general, los cultivos de cobertura aumentan la población microbiana y en algunos casos como la *Crotalaria* sp., tienen un efecto de supresión, es decir, tienen la capacidad de reducir los daños ocasionados por hongos, oomycetes y nematodos (Schutter y Dick, 2002). Dentro de los oomycetes del suelo más devastadores en muchos cultivos destacan *Phytophthora*, *Pythium* y *Rizoctonia*, etc. No obstante, hongos del género *Phytophthora* por ser pobres competidores saprófitos son vulnerables a prácticas culturales en donde se incorpora materia orgánica en el suelo (Vawdrey *et*

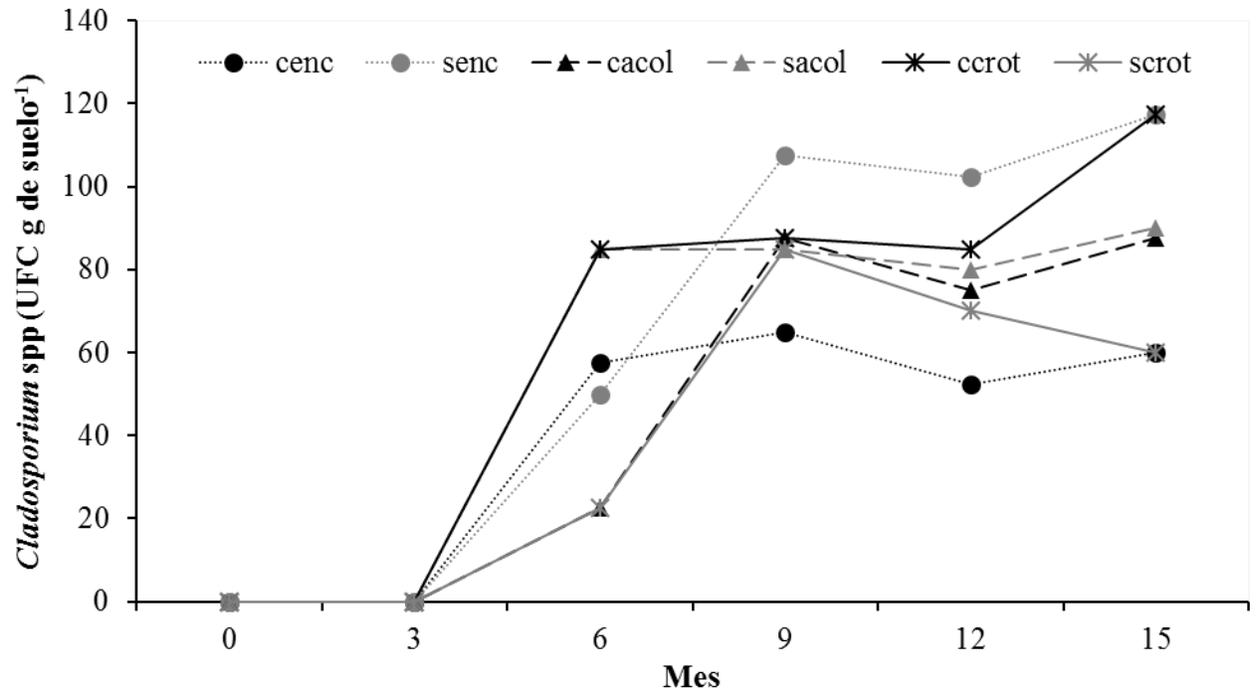
al., 2002) como el caso del tratamiento con *Crotalaria* sp. De acuerdo con Rohrbach y Schmitt (1998) *Phytophthora* spp., en el cultivo de piña prefiere suelos ácidos de ahí las mayores UFC con el tratamiento sin encalado.



**Figura 8.** Unidades formuladoras de colonia de Oomycete por g de suelo.

### Poblaciones de *Cladosporium* spp

A partir del sexto mes, se observó la presencia del hongo *Cladosporium* spp., donde el tratamiento con *Crotalaria* sp., presentó 85 UFC g suelo<sup>-1</sup> (Figura 9). Pero, en el noveno mes hubo mayor UFC con el tratamiento sin encalar siendo iguales en el último muestreo con 117.5 UFC g suelo<sup>-1</sup>. Estudios de Yakimenko y Grodnitskaya (2000) encontraron que *Trichoderma viride* reduce las poblaciones de hongos, principalmente del género *Cladosporium*. Puede ser que las poblaciones de *Trichoderma* en el presente estudio ejercieron un control antagónico de *Cladosporium*, por eso las poblaciones de hongos más bajas se encontraron con este género.



**Figura 9.** Unidades formuladoras de colonia de *Cladosporium* spp., por g de suelo.

### 3.6. CONCLUSIONES

El estudio microbiológico del suelo en el cultivo de piña se encontró poblaciones de nematodos de los géneros *Meloidogyne*, *Pratylenchus* y *Mesocriconema*. Asimismo, hongos de los géneros *Trichoderma* y *Aspergillus*, también poblaciones de oomycetes y de *Cladosporium*. El acolchado plástico y la incorporación de *Crotalaria* sp., favorecieron a un mejor crecimiento de la planta. El encalado con cal dolomítica incrementó el porcentaje de incidencia de la pudrición del cogollo en piña, mientras que la *Crotalaria* mostró ser la mejor alternativa para mantener controlado el hongo causante de la enfermedad y disminuir la población de nematodos. Además, *Crotalaria* sp., permitió el desarrollo de hongos benéficos como *Trichoderma* y *Aspergillus* que bajaron las poblaciones de oomycetes y un control antagónico de *Cladosporium*.

### 3.7. LITERATURA CITADA

- Alexander M. 1994.** Introducción a la Microbiología de Suelos. Editor S. A. México.
- Anderson, J. M., K.G. Pegg, C. Scott, A. Drenth. 2011.** Phosphonate applied as a pre-plant dip controls *Phytophthora cinnamomi* root and heart rot in susceptible pineapple hybrids. Australasian Plant Pathology 41: 59–68.
- Ahmad, I., M. I. Ansari and F. Aqil. 2006.** Biosorption of Ni, Cr and Cd by metal tolerant *Aspergillus niger* and *Penicillium* sp. using single and multi-metal solution. Indian Journal Experimental Biological 44: 73–76.
- Baytak, S., A. R. Turker and B. S. Cevrimli. 2005.** Application of silica gel 60 loaded with *Aspergillus niger* as a solid phase extractor for the separation/preconcentration of chromium(III), copper(II), zinc(II), and cadmium(II). Journal of Separation Science 28: 2482–2488.

- Braud, A., J. E. Karine, E. Vieille, A. Triller and T. Lebeau. 2006.** Changes in extractability of Cr and Pb in a polycontaminated soil after bioaugmentation with microbial producers of biosurfactants, organic acids and siderophores. *Water Air Soil Pollution Focus* 6: 261–279.
- Borrero C, M. I. Trillas, A. Delgado, M. Avilés. .2012.** Effect of ammonium/nitrate ratio in nutrient solution on control of Fusarium wilt of tomato by *Trichoderma asperellum* T34. *Plant Pathology* 61:132–139
- Chan, Y. K., C. d'Eeckenbrugge G., and G. M. Sanewski. 2003.** Breeding and variety improvement. *In:* Bartholomew D. P, Paull R. E, Rohrbach K. G (eds) *The pineapple, botany, production and uses.* CABI Publishing, New York, pp 33–55.
- Chen, Y., T. Liu, X. Tian, X. Wang, M. Li, S. Wang, Z. Wang. 2015.** Effects of plastic film combined with Straw mulch on grain yield and water use efficiency of winter wheat in Loess Plateau. *Field Crops Research* 172: 53–58.
- Curtin D., M. H. Beare, M. H. Chantigny, L. G. Greenfield. 2011.** Controls on the extractability of soil organic matter in water over the 20 to 80°C temperature range. *Soil Science Society American Journal* 75:1423–1430.
- Eo, J., K. Ch. Park and M. H. Kim. 2015.** Plant-specific effects of sunn hemp (*Crotalaria juncea*) and sudex (*Sorghum bicolor* × *Sorghum bicolor* var. sudanense) on the abundance and composition of soil microbial community. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 213: 86-93.
- García de la Cruz, R., D. Palma-López, R. García-Espinoza, M. Rodríguez and H. González-Hernández. 2005.** Effect of legumes rotation on pineapple root diseases in Huimanguillo, Tabasco, Mexico. *Acta Horticulturae* 666: 247-256.

- Germani, G. and C. Plenchette. 2005.** Potential of *Crotalaria* species as green manure crops for the management of pathogenic nematodes and beneficial mycorrhizal fungi. *Plant and Soil* 266: 333–342.
- Guzmán, P. R. A., F. Hernández B., F. Franco, N. y M. Cadena H. 2008.** Nematodos agalladores en la Vega de Mezquitlán, Hidalgo, México: identificación, distribución espacial y relación con factores edáficos. *Nematropica* 38:47-61.
- Harman, G. E., C. R. Howell, A. Viterbo, I. Chet and M. Lorito. 2004.** *Trichoderma* species opportunistic, avirulent plant symbionts. *Nature Review* 2: 43–56.
- Hernández M. A. A., B. Lina M., C. Rosón Á. y C. Cazola G. 2011.** Hongos y oomicetes fitopatógenos en viveros de piña *Ananas comosus* (L.) Merrill en Ciego de Ávila, Cuba. *Fitosanidad* 15: 137-142.
- Hernández, M. A. A., A. Sierra P., A. Carr P. 2006.** Evaluación *in vitro* del antagonismo de especies de *trichoderma* sobre hongos fitopatógenos que afectan las vitroplantas de piña (*Ananas comosus* (L.) Merr.). *Fitosanidad* 10: 105-108.
- Khan, M. R., S. Altaf, F. A. Mohidin, U. Khan and A. Anwer. 2009.** Biological control of plant nematodes with phosphate solubilizing microorganisms. In *Phosphate solubilizing microbes for crop improvement*, eds. M. S. Khan and A. Zaidi, pp. 395–426. New York, USA: Nova Science Publisher Inc.
- Larkin, R. P. and J. M. Halloran. 2014.** Management effects of disease-suppressive rotation crops on potato yield and soilborne disease and their economic implications in potato production. *American Journal of Potato Research* 1-11.

- Martínez G. J. Á., T. Díaz V., L. Partida R., R. Allende M., J. B. Valdez T. y J. A. Carrillo F. 2015.** Nematodos fitoparásitos y su relación con factores edáficos de papaya en Colima, México. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 6: 251-257.
- Nel, B., C. Steinberg, N. Labuschagne, A. Viljoen. 2007.** Evaluation of fungicides and sterilants for potential application in the management of Fusarium wilt of banana. *Crop Protection* 26: 697-705.
- Nesci, A., G. Barros, C. Castillo y M. Etcheverry. 2006.** Soil fungal population in preharvest maize ecosystem in different tillage practices in Argentina. *Soil and Tillage Research* 91: 143–149.
- Ohdan, H., H. Daimon and H. Mimoto. 1995.** Evaluation of allelopathy in *Crotalaria* by using a seed pack growth pouch. *Japanese Journal of Crop Science* 64: 644–649.
- Pérez, G. P., M. García P. G., L. Rebolledo M., D. Uriza A., A. Tinoco A. C. and A. Rebolledo M. 2005.** Planting Densities and Plastic Mulching for “Smooth Cayenne” Pineapple Grown in an AW2 Climate and Fluvisol Soil in Veracruz, Mexico. *Acta Horticulturae* 666: 271-275.
- Raphael, J. P. A., J. C. Calonego, D. M. B. P. Milori and C. A. Rosolem. .2016.** Soil organic matter in crop rotations under no-till. *Soil and Tillage Research* 155: 45-53.
- Ramos, M. E., E. Benítez, P.A. García and A. B. Robles. 2010.** Cover crops under different managements vs. frequent tillage in almond orchards in semiarid conditions: effects on soil quality. *Applied Soil Ecology* 44: 6.14.
- Rebolledo-Martínez, A., A. L. Del Ángel-Pérez, A. E. Becerril-Román and L. Rebolledo-Martínez. 2005.** Growth analysis for three pineapple cultivars grown on plastic mulch and bare soil. *Interciencia* 30: 758-763.

- Rebolledo Martínez, A., A. L. Del Ángel P., L. Rebolledo M., A. E. Becerril R. y D. Uriza Á. 2006.** Rendimiento y calidad de fruto de cultivares de piña en densidades de plantación. *Revista Fitotecnia Mexicana* 29: 55-62.
- Rebolledo M. A., D. E. Uriza A., L. Rebolledo M. 1998.** Tecnología para la producción de piña en México. INIFAP-CIRGOC. Campo Experimental Papaloapan. Folleto Técnico Num. 20. Veracruz, México. 159 p.
- Rohrbach, K. G. and D. P. Schmitt. 1998.** Pineapple diseases caused by fungi. Pp. 47–50. *in* Compendium of tropical fruit diseases. R. C. Ploetz, G. A. Zentmyer, W. T. Nishijima, K. G. Rohrbach, and H. D. Ohr, eds. St. Paul, MN: APS Press.
- Rohrbach, K. G. and D. P. Schmitt. 1994.** Pineapple, *Compendium of Tropical Fruits Diseases*, Part IV. The American Phytopathological Society, EE. UU.
- SAGARPA (Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación). 2016.** Sistema de Información Agrícola y Pecuaria (SIAP). Cierre de la producción agrícola por cultivo (En línea). Disponible en: <http://www.siap.gob.mx/cierre-de-la-produccion-agricola-por-cultivo/> (revisado el 15 de enero de 2016).
- SAS Institute. 2002.** SAS/STAT User's Guide. Version 9.1. Volumes 1-7. SAS Institute, Cary, NC, USA.
- Summers, F. C., S. Park, A. R. Dunn, X. Rong, K. L. Everts, M. D. Kleinhenz, B. M. Gardener and C. D. Smart. 2014.** Fungal and oomycete pathogen detection in the rhizosphere of organic tomatoes grown in cover crop-treated soils. *Applied Soil Ecology* 80: 44–50.

- Smith, M., S. Hamill, P. Langdon, J. Giles, V. Doogan, and K. Pegg. 2006.** Towards the development of a Cavendish banana resistant to race 4 of *Fusarium* wilt: gamma irradiation of micropropagated Dwarf Parfitt (*Musa* spp., AAA group, Cavendish subgroup). *Animal Production Science* 46: 107-113.
- Schutter, M. E. and R. P. Dick. 2002.** Microbial community profiles and activities among aggregates of winter fallow and cover-cropped soil. *Soil Science Society American Journal* 66,142–153.
- s'Jacob JJ and van Bezooijen J. 1984.** A manual for practical work in nematology. Wageningen University, Wageningen, The Netherlands. 79 p.
- Vawdrey L. L., T. M. Martín and J. De Faveri. 2002.** The potential of organic and inorganic soil amendments, and a biological control agent (*Trichoderma* sp.) for the management of *Phytophthora* root rot of papaw in far northern Queensland. *Australasian Plant Pathology* 31: 391–399.
- Wan, Y. and S. A. El-Swaify. 1999.** Runoff and soil erosion as affected by plastic mulch in a Hawaiian pineapple field. *Soil and Tillage Research* 52: 29-35.
- Wang, K. H., B. S. Sipes and D. P. Schmitt. 2002.** *Crotalaria* as a cover crop for nematode management: a review. *Nematropica* 32: 35–57.
- Wang, B. B., J. Yuan, J. Zhang, Z. Z. Shen, M. X. Zhang, R. Li, Y. Z. Ruan and Q. R. Shen. 2013.** Effects of novel bioorganic fertilizer produced by *Bacillus amyloliquefaciens* W19 on antagonism of *Fusarium* wilt of banana. *Biology and Fertility of Soils* 49: 435-446.

- Winter, M., F. de Mol and A. von Tiedemann. 2014.** Cropping systems with maize and oilseed rape for energy production may reduce the risk of stem base diseases in wheat. *Field Crops Research* 156: 249-257.
- Yakimenko, E. E., and I. D. Grodnitskaya. 2000.** Effect of *Trichoderma* fungi on soil micromycetes that cause infectious conifer seedling lodging in Siberian tree nurseries. *Microbiology* 69: 726–729.
- Yuh-Shan, H. 2005.** Comment on ‘Biosorption of cadmium using the fungus *Aspergillus niger*’ by Barros, L. M., Macedo, G. R., Duarte, M. M. L., Silva, E. P., and Lobato, A. K. C. L. *Brazilian Journal Chemistry Engineering* 22: 319–322.
- Zhang, H., A. Mallik, R. S. Zeng. 2013.** Control of Panama disease of banana by rotating and intercropping with Chinese chive (*Allium tuberosum* Rottler): role of plant volatiles. *Journal of Chemical Ecology* 39: 243-252.

#### 4. DISCUSIÓN GENERAL

El objetivo de la tesis fue identificar el agente causal de la pudrición del cogollo en piña y determinar la respuesta del encalado, acolchado plástico e incorporación de la *Crotalaria* en el crecimiento y rendimiento del cultivo. Asimismo, se evaluaron las variaciones poblacionales de nematodos, hongos fitófagos y benéficos en la localidad de Juan Rodríguez Clara, Veracruz.

Los resultados del análisis de secuencias ITS del ADNr indican que el agente causal de la pudrición del cogollo en piña en las localidades de: Juan Rodríguez Clara, Veracruz; Ciudad Isla, Veracruz y Loma Bonita, Oaxaca es *Phytophthora nicotianae*. Esta misma especie fue encontrada en plantaciones de piña en Cuba (Rodríguez *et al.*, 2002). Este patógeno no solamente se ha encontrado en el continente americano, sino también, se tiene reportes en Asia, específicamente en el norte de Vietnam (Nguyen *et al.*, 2015).

Parte del estudio fue conocer el mejor método y dosis de inóculo de la pudrición hacia el cultivo. Se encontró que la aplicación en cogollo resultó ser la mejor forma para que el patógeno inicie más temprano a infectar y a dañar el cultivo de piña comparado a la aplicación a la base. Asimismo, con la dosis de  $1 \times 10^6$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$  mostró el mayor porcentaje de incidencia de la enfermedad y los síntomas aparecieron a tan solo 10 días después de la aplicación. Por la forma de las hojas de la piña ayudan a mantener el agua de la lluvia en la corona. De acuerdo a la literatura, *P. nicotianae* se desarrolla en sitios de alta humedad y temperatura (Antonopoulos *et al.*, 2010), en donde el cogollo resulta ser el sitio ideal para alojar la enfermedad. Entonces, el hongo al estar en contacto directo con la hoja y corona en pocas horas comienza su proceso de infección (Green y Nelson, 2015).

De los diferentes fungicidas para el control *in vitro* de la pudrición, se encontró que TCMTB y Metalaxil fueron los que mostraron mayor inhibición micelial de *P. nicotianae*. Los resultados hallados son similares a los encontrados por Elliott *et al.* (2015), en donde Metalaxil resultó ser el mejor fungicida para el control *in vitro* de *Phytophthora ramorum*. Sin embargo, el fungicida con mayor eficacia para el control de zoosporas de *P. nicotianae* es TCMTB.

El encalado con cal agrícola o cal dolomítica es una práctica que se realiza en suelos ácidos para mantener a pH óptimos de acuerdo al cultivo. Por ejemplo, para la piña va de 4.5 a 5.5 y el encalado además de incrementar el pH ayuda a controlar algunos patógenos del suelo. Pero, con la aplicación de la cal dolomítica no favoreció en la altura de planta, peso de frutos y rendimiento por hectárea; no así con la utilización de la *Crotalaria* y el acolchado plástico. Estudios similares fueron encontrados por Rebolledo-Martínez *et al.* (2005), en donde el acolchado plástico ayudó en el crecimiento de la piña.

Siempre la materia orgánica favorece la fertilidad y la población microbiológica de los suelos agrícolas, por ejemplo, el caso del sitio experimental con muy baja cantidad (0.68%). La *Crotalaria* es una leguminosa que aporta considerables cantidades de nitrógeno para el crecimiento y desarrollo de muchos cultivos (Marshall, 2002). La capacidad simbiótica de la *Crotalaria* con bacterias fijadoras de nitrógeno ayudó al cultivo de piña en altura de planta, peso de frutos y por supuesto en el rendimiento.

Otros beneficios de la *Crotalaria* es suprimir a los nematodos y patógenos presentes en piña. En este estudio se observó que la incorporación de esta leguminosa mantuvo a poblaciones bajas de estos parásitos (*Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Mesocriconema* y oomycetes), a la vez, mantuvo la presencia de *Trichoderma* y *Aspergillus*, hongos que ayudaron a mantener el daño de nematodos

y oomycetes en la piña (Wang *et al.*, 2004). El encalado y la *Crotalaria* fueron los únicos tratamientos que mantuvieron menos del 10% la incidencia de *P. nicotianae* en el cultivo. Con estos resultados, se demuestra que aumentar el pH de suelos con problemas de acidez y utilizar la *Crotalaria* como fuente de materia orgánica es una estrategia para aumentar los rendimientos y controlar patógenos del suelo.

## 5. CONCLUSIONES GENERALES

En esta investigación se identificó el agente causal de la pudrición del cogollo en piña en tres localidades y se determinó los efectos del encalado, acolchado plástico y *Crotalaria* en el crecimiento y rendimiento del cultivo. Además, se evaluaron las variaciones poblacionales de nematodos, hongos fitófagos y benéficos en la localidad de Juan Rodríguez Clara, Veracruz. Del trabajo de investigación se llegaron a las siguientes conclusiones:

1. El agente causal de la pudrición del cogollo en piña identificada en las localidades de: Juan Rodríguez Clara, Veracruz; Ciudad Isla, Veracruz y Loma Bonita, Oaxaca es *Phytophthora nicotianae*.
2. La aplicación de  $1 \times 10^6$  zoosporas  $\text{mL}^{-1}$  de *Phytophthora nicotianae* en el cogollo de la piña fue la mejor forma y dosis de tratamiento para que la enfermedad comience a infectar rápidamente el cultivo.
3. Los fungicidas TCMTB y Metalaxil a las dosis aplicadas mostraron mayor inhibición del crecimiento micelial del hongo *P. nicotianae*.
4. La *Crotalaria* y el acolchado plástico favorecieron el crecimiento en altura de planta y se obtuvieron mayores pesos de frutos, y por supuesto, en rendimiento.
5. Los microorganismos identificados en la parcela experimental fueron: *Meloidogyne*, *Pratylenchus*, *Mesocriconema*, oomycetes, *Cladosporium*, *Trichoderma* y *Aspergillus*.
6. La *Crotalaria* reguló la población de nematodos fitófagos y, de hongos patógenos y benéficos en el suelo.
7. El encalado y la incorporación de la *Crotalaria* redujeron a menos de 10% la incidencia de *P. nicotianae* en piña.

## 6. LITERATURA CITADA

- Antonopoulos, D. F., Melton, T., Mila, A. L., 2010.** Effects of chemical control, cultivar resistance, and structure of cultivar root system on black shank incidence of tobacco. *Plant Disease* 94: 613-620.
- Elliott, M., S. F. Shamoun, and G. Sumampong. 2015.** Effects of systemic and contact fungicides on life stages and symptom expression of *Phytophthora ramorum* *in vitro* and in planta. *Crop Protection* 67: 136-144.
- Green, J. and S. Nelson. 2015.** Heart and root rots of pineapple. College of Tropical Agriculture and Human Resources. pp 7.
- Marshall, A. J. 2002.** Sunn hemp (*Crotalaria juncea*) as an organic amendment in crop production. M.S. Thesis, University of Florida, Gainesville, FL, 155 pp.
- Nguyen, T. D., T. Burgess, V. T. Dau, V. Q. Le, T. L. Trinh, T. L. Pham and L. W. Burgess. 2015.** *Phytophthora* stem rot of purple passionfruit in Vietnam. *Australasian Plant Disease Notes* 10: 35.
- Rebolledo-Martínez, A., A. L. Del Ángel-Pérez, A. E. Becerril- Román, L. Rebolledo-Martínez. 2005.** Growth analysis for three pineapple cultivars grown on plastic mulch and bare soil. *Interciencia* 30: 758-763.
- Rodríguez, Y., M. Mosqueda, B. Companioni, M. Arzola, O. Borrás, M. C. Pérez, J. C. Lorenzo, and R. Santos. 2002.** Bioassay for *in vitro* differentiation of pineapple cultivar resistance levels to heart rot disease. *In vitro cell. dev. biol. plant* 38: 613-616.
- Wang, K. H., R. McSorley, A. J. Marshall and R.N. Gallaher. 2004.** Nematode community changes associated with decomposition of *Crotalaria juncea* amendment in litterbags. *Applied Soil Ecology* 27: 31–45.