



# COLEGIO DE POSTGRADUADOS

INSTITUCIÓN DE ENSEÑANZA E INVESTIGACIÓN EN CIENCIAS AGRÍCOLAS

CAMPUS MONTECILLO  
POSTGRADO DE FITOSANIDAD  
FITOPATOLOGÍA

## TOLERANCIA DE CULTIVARES DE MANGO (*Mangifera indica* L.) A LA PROLIFERACIÓN VEGETATIVA Y FLORAL (*Fusarium* spp.) EN MÉXICO

**ELVIS GARCÍA LÓPEZ**

**T E S I S**

PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL  
PARA OBTENER EL GRADO DE:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

MONTECILLO, TEXCOCO, EDO. DE MÉXICO

2012

La presente tesis titulada: **Tolerancia de cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) a la proliferación vegetativa y floral (*Fusarium* spp.) en México** realizada por el alumno **Elvis García López**, bajo la dirección del Consejo Particular indicado, ha sido aprobada por el mismo y aceptada como requisito parcial para la obtención del grado de:

**MAESTRO EN CIENCIAS**

**FITOSANIDAD**

**FITOPATOLOGÍA**

**CONSEJO PARTICULAR**

CONSEJERO:

  
\_\_\_\_\_  
**DR. JOSÉ ANTONIO MORA AGUILERA**

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
**DR. JAVIER HERNÁNDEZ MORALES**

ASESOR:

  
\_\_\_\_\_  
**DR. ANGEL VILLEGAS MONTER**

## **AGRADECIMIENTOS**

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

Al Fondo Sectorial SAGARPA-CONACYT (Proyecto 48595), por el financiamiento de esta investigación.

Al Dr. José Antonio Mora Aguilera por su apoyo, confianza, paciencia, dirección de la presente investigación desde la planeación hasta su culminación y por brindarme su amistad de manera desinteresada.

Al Dr. Daniel Téliz Ortiz por sus consejos y atinadas observaciones, tanto en la realización de mi investigación como en mi formación como estudiante.

Al Dr. Javier Hernández Morales, Dr. Ángel Villegas Monter y Dra. Guadalupe Valdovinos Ponce por su asesoría, acertadas observaciones, sugerencias y aportaciones que enriquecieron en la realización de la presente investigación.

Al Dr. Cristian Nava Díaz, M.C. Victoria Ayala Escobar y al M.C. Jorge Valdez Carrasco por el incondicional apoyo que siempre me brindaron.

Al Sr. Justino Niño e Ing. Wenceslao Maldonado Avilés por el apoyo brindado Huamuxtlán; a Elvia Rosas por su amistad y apoyo en CP.

A los profesores del Programa de Fitopatología en compartir sus conocimientos, tiempo y experiencia para mi formación académica.

A mis compañeros José G. Florencio, Juan M. Tovar, Misael Martínez, Leticia Robles, Moisés Camacho, Eréndira Ríos, Berenice Alonso por los momentos compartidos y a las demás personas que de una u otra forma hicieron agradable mi estancia en CP.

## DEDICATORIA

A lo más hermoso que me ha regalado dios: a mi **Angelito** y a mi adorable esposa **Maricela** quienes tuvieron gran paciencia y que se han sacrificado junto conmigo sin pedirlo, con gran amor para ustedes.

Con todo el cariño, respeto y admiración a

Mis padres:

**Olivia López Jiménez**

**Serafín García Aldana**

A mi hermana:

**Anadel García López**

A mis abuelos:

**Manuela Jiménez Percastegui**

**Cirilo López Hernández †**

**Miguel García Salvador †**

**GRACIAS POR SU APOYO Y COMPRENSIÓN**

## CONTENIDO

	Pág.
<b>LISTA DE CUADROS</b> .....	<b>iii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS</b> .....	<b>iv</b>
<b>RESUMEN</b> .....	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>viii</b>
<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
<b>II. REVISIÓN DE LITERATURA</b> .....	<b>6</b>
<b>2.1. Origen de mango</b> .....	<b>6</b>
<b>2.2. Producción mundial de mango</b> .....	<b>6</b>
<b>2.3. Producción de mango en México</b> .....	<b>7</b>
<b>2.4. Principales limitantes de la producción de mango</b> .....	<b>9</b>
<b>2.5. Proliferación vegetativa y floral</b> .....	<b>9</b>
<b>2.6. Etiología</b> .....	<b>10</b>
<b>2.7. Síntomas</b> .....	<b>11</b>
<i>2.7.1. Proliferación vegetativa</i> .....	<b>12</b>
<i>2.7.2. Proliferación floral</i> .....	<b>12</b>
<b>2.8. Variedades susceptibles y estimación de severidad</b> .....	<b>13</b>
<b>2.9. Estudios de patogenicidad por inoculaciones artificiales</b> .....	<b>15</b>
<b>2.10. Histopatología</b> .....	<b>16</b>
<b>III. MATERIALES Y MÉTODOS</b> .....	<b>18</b>
<b>3.1. Sitio de estudio</b> .....	<b>18</b>
<b>3.2. Material biológico, injertación y manejo de plantas</b> .....	<b>19</b>
<b>3.3. Aislamientos y preparación del inóculo</b> .....	<b>20</b>
<i>3.3.1. Testigo positivo (F. oxysporum)</i> .....	<b>20</b>

3.3.2. Cepa combinada (mezcla) de aislamientos de <i>Fusarium spp</i> .....	21
3.3.3. Preparación del inóculo.....	22
<b>3.4. Diseño y establecimiento del experimento.....</b>	<b>23</b>
<b>3.5. Inoculación de <i>Fusarium spp</i>.....</b>	<b>25</b>
<b>3.6. Variables de estudio.....</b>	<b>26</b>
3.6.1. Periodo de quiescencia y expresión de síntomas.....	26
3.6.2. Severidad.....	26
3.6.3. Caracterización cultural y morfométrica de aislamientos.....	27
3.6.4. Histopatología.....	27
3.6.5. Análisis estadístico.....	29
<b>IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN .....</b>	<b>30</b>
<b>4.1. Periodo de quiescencia.....</b>	<b>30</b>
<b>4.2. Periodo de expresión de síntomas.....</b>	<b>31</b>
4.2.1. Efectividad de la técnica de inoculación.....	32
4.2.2. Síntomas.....	35
4.2.3. Incidencia.....	38
<b>4.3 Severidad.....</b>	<b>40</b>
<b>4.4. Caracterización cultural y morfométrica de aislamientos.....</b>	<b>45</b>
<b>4.5. Histopatología.....</b>	<b>47</b>
4.5.1. Anatomía de plantas sanas (testigo negativo).....	47
4.5.2. Anatomía de plantas enfermas.....	47
<b>V. CONCLUSIONES.....</b>	<b>53</b>
<b>VI. RECOMENDACIONES.....</b>	<b>54</b>
<b>VII. REFERENCIAS .....</b>	<b>55</b>

## LISTA DE CUADROS

	<b>Pág.</b>
<b>Cuadro 1.</b> Producción de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) en México, ciclo 2010.....	8
<b>Cuadro 2.</b> Cultivares de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) susceptibles a la proliferación vegetativa y floral ( <i>Fusarium spp.</i> ) a escala mundial.....	13
<b>Cuadro 3.</b> Brotes vegetativos y florales de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) colectados en los estados de Guerrero y Michoacán, Méx., para aislamiento de cepas combinada de aislamientos de <i>Fusarium spp.</i> (ciclo 2010).....	21
<b>Cuadro 4.</b> Diseño experimental para evaluar la tolerancia varietal en mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) establecido en Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2010.....	23
<b>Cuadro 5.</b> Periodos de quiescencia e incubación en yemas latente y “ciega” en cinco cultivares de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) inoculadas con <i>Fusarium spp.</i> , en Huamuxtitlán, Guerrero, México, en abril de 2011.....	33
<b>Cuadro 6.</b> Incidencia y severidad de proliferación vegetativa y floral en cinco cultivares de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) inoculados con <i>F. oxysporum</i> y cepa combinada de aislamientos de <i>Fusarium spp.</i> en Huamuxtitlán, Guerrero, México, (abril de 2011).....	39
<b>Cuadro 7.</b> Características morfológicas y culturales de la cepa combinada de aislamientos de <i>Fusarium spp.</i> colectados de brotes de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) con proliferación vegetativa y floral en Guerrero y Michoacán, México.....	46
<b>Cuadro 6.</b> Depósito de sustancias ergásticas de posible naturaleza fenólica en tejidos vegetativos de los cvs. Ataulfo Diamante y Haden inoculados con <i>F. oxysporum</i> y cepa combinada de aislamientos de <i>Fusarium spp.</i> en Huamuxtitlán, Gro., México, (abril 2011).....	50

## LISTA DE FIGURAS

	<b>Pág.</b>
<b>Figura 1.</b> Porcentaje de participación de los principales países productores de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) (FAO, 2012).....	7
<b>Figura 2.</b> Principales estados productores de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) en México, 2010 (SIAP, 2012).....	8
<b>Figura 3.</b> Ubicación geográfica de los viveros de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) empleados para estudio de tolerancia varietal a <i>Fusarium</i> spp. (Google Earth® versión 6.1). Vivero experimental en Huamuxtitlán, Guerrero México (A); vivero comercial “Ángel”, en El Bejuco, Acapulco, Guerrero, México (B).....	18
<b>Figura 4.</b> Injertación de varetas experimentales de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) por enchapado lateral. Asepsia de varetas de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) (A, B y C); unión lateral del patrón con la vareta y amarre del injerto con plástico (D y E); colocación de bolsa plástica y lona de polipropileno en plantas injertadas (F y G)...	20
<b>Figura 5.</b> Distribución de plantas de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) utilizadas para análisis de tolerancia varietal a <i>Fusarium</i> spp. realizado en Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2010.....	24
<b>Figura 6.</b> Tipos de yemas de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) cv. Ataulfo utilizadas en el experimento de interacción de <i>Fusarium</i> spp. con la susceptibilidad varietal. Yema latente (A), yema hinchada (B) y yema “ciega” (C).....	25
<b>Figura 7.</b> Inoculación por infiltración de esporas con aguja hipodérmica en brote experimental sano de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) cv. Ataulfo.....	26



<b>Figura 8.</b> Periodos de quiescencia y expresión de síntomas en cinco cultivares de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) inoculados con <i>Fusarium</i> spp. en Huamuxtitlán, Guerrero, México, en abril de 2011.....	34
<b>Figura 9.</b> Síntomas de proliferación vegetativa en tallos vegetativos de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) cv. Haden inoculados con cepa combinada de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp., en Huamuxtitlán Gro. Dominancia apical y ausencia de brotes laterales (A); pérdida de dominancia apical (B); proliferación severa de tallos con entrenudos cortos y aspecto arrosetado (C); proliferación de brotes (D).....	36
<b>Figura 10.</b> Tallo de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) cv. Haden inoculado con <i>F. oxysporum</i> . Proliferación vegetativa en yemas axilares intercalares (A); proliferación de brotes en yemas subapicales y en la base del brote (B y D); yemas axilares prominentes (C).....	37
<b>Figura 11.</b> Síntomas de proliferación vegetativa y floral en plantas de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) cv. Cotaxtla-1 inoculadas con cepa combinada de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp., en Huamuxtitlán, Gro. Proliferación vegetativa severa (A); inflorescencia con entrenudos cortos y necrosis de raquis secundarios con apariencia arrosetada (B y C); panícula con flores de color verde – amarillo y engrosamiento de los ejes primario y secundario (D).....	37
<b>Figura 12.</b> Escala diagramática de severidad para evaluación de la proliferación vegetativa ( <i>Fusarium</i> spp.) del mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) y su correspondencia con el desplazamiento volumétrico de agua (mL). Sano (A, B, C); tolerante (D, E, F); moderadamente susceptible (G, H, I); muy susceptible (J, K, L).....	41

<b>Figura 13.</b> Relación entre la biomasa y volumen desplazado de agua en plantas de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) con síntomas experimentales de proliferación vegetativa ( <i>Fusarium</i> spp.).....	42
<b>Figura 14.</b> Relación entre la materia seca y volumen desplazado de agua en plantas de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) con síntomas experimentales de proliferación vegetativa ( <i>Fusarium</i> spp.) en los cvs. Haden y Ataulfo Diamante.....	43
<b>Figura 15.</b> Micrografía de corte transversal de la porción basal de tallo de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) inoculado con <i>F. oxysporum</i> . Tejido epidérmico (e), cortical (c), floema (f), xilema (x), médula (m), cutícula (ct), polifenoles (pf), fibras (fi), cristales (cr), plasmólisis (pl) y micelio (mi). Testigo negativo (A, B, C, D) y positivo (E, F, G, H) del cv. Ataulfo Diamante; cv. Haden (I, J, K, L). Barra = 50 $\mu$ m.....	51
<b>Figura 16.</b> Micrografía de corte transversal de la porción apical en tallo de mango ( <i>Mangifera indica</i> L.) inoculado con la combinación de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp. Tejido meristemático (me), epidérmico (e), cortical (c), floema (f), xilema (x), médula (m), túnica (t), cuerpo (cu), primordios foliares (pfo), cutícula (ct), polifenoles (pf), desorganización celular (dc) y micelio (mi). Testigo negativo (A, B, C, D) y positivo (E, F, G, H) del cv. Ataulfo Diamante; cv. Haden (I, J, K, L). Barra = 50 $\mu$ m.....	52

**Tolerancia de cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) a la proliferación vegetativa y floral (*Fusarium* spp.) en México.**

**Elvis García López, MC**

**Colegio de Postgraduados, 2012**

La proliferación vegetativa y floral (PVF) del mango (*Mangifera indica* L.) inducida por *Fusarium* spp. es una de las principales limitantes fitosanitarias en México y el mundo. Con el propósito de identificar cultivares mono y poliembriónicos tolerantes a *Fusarium* spp. se realizó la presente investigación en un vivero experimental en Huamuxtitlán, Guerrero, México. La patogenicidad se verificó en plantas juveniles sanas de mango al infiltrar una suspensión conidial del hongo ( $2 \times 10^6$  conidios/mL) y reproducir los síntomas típicos de PVF. Una combinación de aislamientos de *Fusarium subglutinans*, *F. proliferatum* y *F. oxysporum* superó en severidad a una cepa de *F. oxysporum* en los cultivares más susceptibles (Haden y Cotaxtla-1). El tiempo de expresión de síntomas en cv. Haden fluctuó de 90 a 176 días; en Cotaxtla-1 y Ataulfo Diamante de 164 a 256 días y en las selecciones Ataulfo A-4 y A-8 de 231 a 314 días. La menor incidencia por cultivar y tratamiento se observó en la selección Ataulfo A-8 (20%; 0-40%) y la más alta en cv. Haden (70%; 40-100%). El cv. Ataulfo Diamante y las selecciones A-4 y A-8 fueron tolerantes (índice 2), mientras que los cvs. Haden y Cotaxtla-1 fueron muy susceptibles (índice 4). El contenido de polifenoles en tallos inoculados con *F. oxysporum* y combinación de especies de *Fusarium* fue superior en cv. Haden (65.7 y 74.6%) respecto a Ataulfo Diamante (27.6 y 40.5%). Los cvs. Haden y Ataulfo Diamante inoculados con la combinación de aislamientos de *F. subglutinans*, *F. proliferatum* y *F. oxysporum* mostraron crecimiento de micelio, sobre la cutícula del tallo y túnica del meristemo.

**Palabras clave:** Incidencia; Susceptibilidad; Patogenicidad; Histopatología.

**Tolerance of Mango (*Mangifera indica* L.) Cultivars to Vegetative and Floral  
Proliferation (*Fusarium* spp.) in Mexico.**

**Elvis García López, MC.**

**Colegio de Postgraduados, 2012**

Vegetative and floral proliferation (VFP) of mango (*Mangifera indica* L.) induced by *Fusarium* spp. is one of the main phytosanitary limitations in Mexico and worldwide. The present research was done in order to identify mono and polyembryonic cultivars tolerant to *Fusarium* spp. in an experimental nursery in Huamuxtitlán, Guerrero, Mexico. Pathogenicity was verified in healthy juvenile mango plants by infiltrating a conidial suspension of the fungus ( $2 \times 10^6$  conidia/mL) and reproducing the typical symptoms of VFP. A combination of isolates of *Fusarium subglutinans*, *F. proliferatum*, and *F. oxysporum* was much more severe than a strain of *F. oxysporum* alone in the more susceptible cultivars (Haden and Cotaxtla-1). The time to express symptoms in the cv. Haden fluctuated from 90 to 176 days; in the cvs. Cotaxtla-1 and Aaulfo Diamante from 164 to 256 days; and in the selections Aaulfo A-4 and A-8 from 231 to 314 days. The lowest incidence per cultivar and treatment was observed in the selection Aaulfo A-8 (20%; 0-40%), and the highest in the cv. Haden (70%; 40-100%). The cv. Aaulfo Diamante and the selections A-4 and A-8 were tolerant (index 2), while the cvs. Haden and Cotaxtla-1 were very susceptible (index 4). The polyphenol content in stems inoculated with *F. oxysporum* and combination of *Fusarium* species was greater in the cv. Haden (65.7 y 74.6%) than in the cv. Aaulfo Diamante (27.6 y 40.5%). The cvs. Haden and Aaulfo Diamante inoculated with the combination of isolates of *F. subglutinans*, *F. proliferatum*, and *F. oxysporum* showed mycelium growth on the stem cuticle and meristem tunic.

**Key words:** Incidence; Susceptibility; Pathogenicity; Histopathology.

## I. INTRODUCCIÓN

El mango (*Mangifera indica* L.) es uno de los frutales de mayor importancia económica en las regiones tropicales y subtropicales del mundo. México es el cuarto productor a escala mundial y segundo en exportación (FAO, 2012); de acuerdo a la superficie cultivada, este frutal ocupa el tercer lugar, después del café (*Coffea arabica*) y naranja (*Citrus sinensis*) (SIAP, 2012). En 2009, los cultivares de mango más producidas fueron Manila, Ataulfo, Haden y Tommy Atkins, que representaron el 23.6, 19.5, 13.5 y 12.8% de la producción de mango, respectivamente (Financiera rural, 2012). Se consume como fruta fresca o procesada en forma de conservas, salsas, encurtidos, helados, aguas, néctar, puré, fruta deshidratada y jugos (Galán, 1999).

En la mayoría de las zonas productoras de mango en México y el mundo se presenta una de las enfermedades más destructivas denominada malformación del mango (mango malformation), bunchy top, “escoba de bruja” o proliferación vegetativa y floral (PVF), que afecta brotes vegetativos y florales. Se registró por primera vez en la India en 1981 y en México se detectó en 1958 en los estados de Morelos, Guerrero y Veracruz (Morales y Rodríguez, 1961). En general, los síntomas típicos son pérdida de la dominancia apical, proliferación de hojas, tallos vegetativos y flores, acortamiento de entrenudos de tallos y del eje primario y secundario de la panícula, las cuales presentan flores estériles (Kumar *et al.*, 1993). La enfermedad ataca plantas de mango de cualquier edad en huertos comerciales o vivero, su etiología y manejo son complejos.

El hongo comúnmente reportado como agente causal de la PVF es *Fusarium mangiferae* (sinónimo: *F. subglutinans* (Wollenweb & Reinking) P.E Nelson, T.A

Toussoun, & Marasas comb. nov.; basiónimo: *F. moniliforme* J. Sheld. var. *subglutinans*) (Kumar *et al.*, 1993, Freeman *et al.* 1999, Noriega *et al.*, 1999, Britz *et al.* 2002; Iqbal *et al.*, 2006); pero también es causada por un complejo de hongos del género *Fusarium*. Otras especies confirmadas que pueden provocar la enfermedad en mango son: *Fusarium oxysporum* (Díaz, 1979; Covarrubias, 1989; Kumar *et al.*, 1993; Noriega *et al.*, 1999), *Fusarium decemcellulare* Brix. (Castellano y Guanipa, 2004); *Fusarium sterilihyphosum* (Britz *et al.*, 2002) y *Fusarium proliferatum* (Zheng y Ploetz; 2002 Zhan *et al.*, 2010). En México, los patógenos que ocasionan PVF son *F. subglutinans* y *F. oxysporum* en Michoacán, Guerrero y Morelos (Díaz, 1979; Covarrubias, 1989; Noriega *et al.*, 1999). Recientemente se identificó a *Fusarium mexicanum* (Otero *et al.*, 2010) como patógeno adicional de la PFV; sin embargo, se requiere más investigación para determinar su importancia en relación con la distribución, frecuencia y patogenicidad.

Las técnicas experimentales que se han aplicado para verificar la patogenicidad de *Fusarium* spp. han sido infestación del suelo (Haggag *et al.*, 2010), deposición de micelio sobre heridas causadas mecánicamente, aspersión de conidios, posibles vectores (*Aceria mangiferae*) e infiltración de esporas (Chakrabarti, 2011). La eficiencia de inoculación varía en cada técnica; no obstante, la inoculación por infiltración con aguja hipodérmica ha sido un procedimiento experimental consistente para el estudio de la interacción Mango–*Fusarium* spp. (Noriega, 1996; Freeman *et al.*, 1999; Mora, 2000; Joseph, 2002; Lima *et al.*, 2009; Iqbal *et al.*, 2010; y Zhan *et al.*, 2010).

Para la estimación de severidad en plantas juveniles inoculadas con *Fusarium* spp., se han propuesto distintos métodos con base en criterios cualitativos. Por ejemplo, Castellano y Guanipa (2004) desarrollaron una escala de cuatro grados, de acuerdo a la frecuencia y longitud de lesiones; de manera similar, Iqbal *et al.* (2006) propusieron una escala de cinco

niveles con base en síntomas de proliferación. En contraste con métodos cualitativos, Joseph (2002) mencionó que la biomasa (peso fresco) de ramas y el volumen desplazado de agua pueden usarse indistintamente como variables para estudio de severidad de la PVF. Sin embargo, para lograr mayor precisión en la evaluación es deseable complementar los métodos cualitativos o de apreciación visual con la incorporación de elementos cuantitativos.

Una enfermedad puede ser causada por un complejo de organismos y ésta combinación puede favorecer a que algunas enfermedades sean más severas en contraposición al efecto que puede causar uno de manera individual, como lo explicó Morales y Rodríguez (2006), quienes identificaron a *Colletotrichum* sp., asociado con *Fusarium* sp. y *Alternaria* sp., en frutos de mango con antracnosis en diferentes edades de desarrollo. Asimismo, Andrades *et al.* (2009) y Villanueva *et al.* (2006), mencionaron que daños en frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) y Chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) fueron más severos al encontrarse una combinación de patógenos, entre ellos *Colletotrichum acutatum*, *C. gloeosporioides* y *C. fragariae*.

Los escasos estudios histopatológicos relacionados con la PVF existentes reportan la distribución de hifas en el parénquima cortical y tejido vascular. Díaz (1979) observó que *F. oxysporum* se encontró principalmente en tejido cortical de inflorescencias; otros autores observaron micelio de *F. subglutinans* y *F. oxysporum* sobre cutícula, depósito de fenoles en epidermis, corteza de tallo y panículas (Noriega, 1996; Mora, 2000; Joseph, 2002), así como hipertrofia e hiperplasia (Noriega, 1996; Mora, 2000) y desorganización con muerte celular (Noriega, 1996).

La literatura internacional consigna la susceptibilidad diferencial en cultivares de mango a *Fusarium* spp. En India, Rymbai y Rajes (2011) clasificaron cultivares

comerciales monoembriónicos (Dashaheri, Langra, Chausa, Malda y Safeda) y poliembriónicos (Carabao o manila, Peach, Cecil y Turpentine) como susceptibles. Kumar *et al.* (1993) mencionaron que en base a una escala de nueve grados los cvs. Langra, Dashehri, Chausa, y los híbridos Mallika y Amrapali fueron susceptibles; mientras que en Egipto, la enfermedad fue más severa en los cvs. Gylore, Mabrouka y Tamour, pero Zebda y Anshas Hindi rara vez son afectados. En Venezuela, los cvs. Palmer y Kent resultaron moderadamente resistentes, en contraste con Haden y Batista (Castellano y Guanipa, 2004).

En México los daños en los cultivares mejorados, monoembriónicos (Haden, Tommy Atkins, Kent, entre otros) y los tipo criollo son mayores en la cuenca del pacífico y en el trópico seco de México, donde reduce los rendimientos de 30 al 50% (Noriega *et al.*, 1999; Vega y Miranda, 1993); sin embargo, este comportamiento diferencial de incidencia y severidad es debido a factores agroecológicos, técnicos o genéticos.

En México se desconocen antecedentes experimentales respecto a la resistencia genética a la PVF de cultivares comerciales como Aaulfo, Manila, Haden, Tommy Atkins, Kent, entre otros; por lo que es importante estudiar la resistencia de cultivares comerciales. Con esta base se planteó lo siguiente:

### **1.1. Hipótesis**

- En cultivares de mango mono y poliembriónicos existe tolerancia diferencial respecto a la proliferación vegetativa y floral (*Fusarium* spp.).
- La combinación de especies de *Fusarium* es más consistente en reproducir síntomas y promueve mayor severidad en cultivares de mango mono y poliembriónicos.



## 1.2. Objetivos

- Evaluar la tolerancia de cinco materiales de mango a la proliferación vegetativa y floral: cvs. manila Cotaxtla-1, Haden, Ataulfo Diamante y selecciones experimentales Ataulfo A-4 y A-8.
- Estimar la eficiencia comparativa de *Fusarium oxysporum* y una combinación de *Fusarium* spp. en el desarrollo de la proliferación vegetativa y floral en los cultivares de mango Ataulfo, Haden y Manila.

## II. REVISIÓN DE LITERATURA

### 2.1. Origen de mango

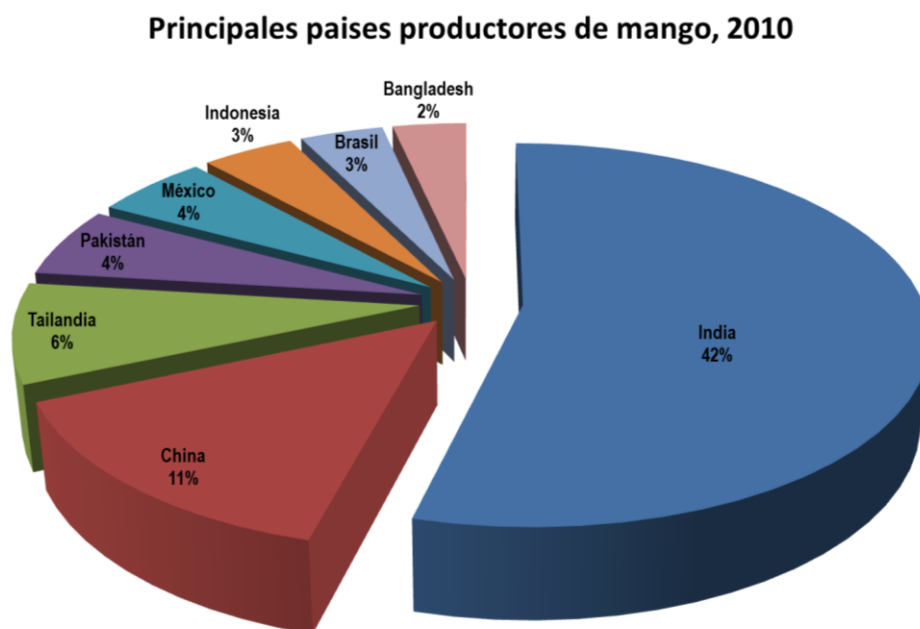
El mango (*Mangifera indica* L.) es una especie cultivada por el hombre desde hace más de 6,000 años y es un producto que juega un importante papel económico y social para diversos países (Galán, 1999). En México, los españoles introdujeron mango “Manila” en el siglo XVII, por medio de la ruta Nao de China desde Manila (Islas Filipinas) al Puerto de Acapulco (Guerrero, México); sin embargo, como cultivo se estableció y dispersó en la Costa del Golfo de México, Veracruz. En el siglo XIX, mangos de tipo criollo se trajeron de las Antillas a la Costa del Golfo de México y se extendió rápidamente a todas las regiones tropicales del país. Pero fue hasta el año de 1950, en la Costa de Guerrero, viveristas particulares plantaron las primeras huertas comerciales con variedades procedentes de Florida, USA, sobresaliendo la plantación de 130 has del rancho denominado “La Petaca” con 12,000 árboles, establecida por Santiago Ontañón en 1951 y 1954 en Cuajinicuilapa, Guerrero. El germoplasma estuvo constituido por Haden, Kent, Keitt, Tommy Atkins, Irwin (Mosqueda *et al.*, 1996).

### 2.2. Producción mundial de mango

En la Figura 1, se observan los principales países productores en 2010 con una superficie mundial de 5, 245, 484 ha., siendo India con 49% de la área cosechada (2 millones de ha/año) el principal país productor en el mundo. China y Tailandia poseen 8.8% y el 5.9% respectivamente, mientras que México participa con el 3.3% de la superficie mundial (FAO, 2012).

El principal exportador a escala mundial es India con 24% (286, 775 t), mientras que México ocupa el segundo lugar con el 19.6% (232, 643 t) (FAO, 2012). Considerando

las estadísticas de 2009, México exportó principalmente a Estados Unidos de América, Canadá y Japón (FAO, 2012).



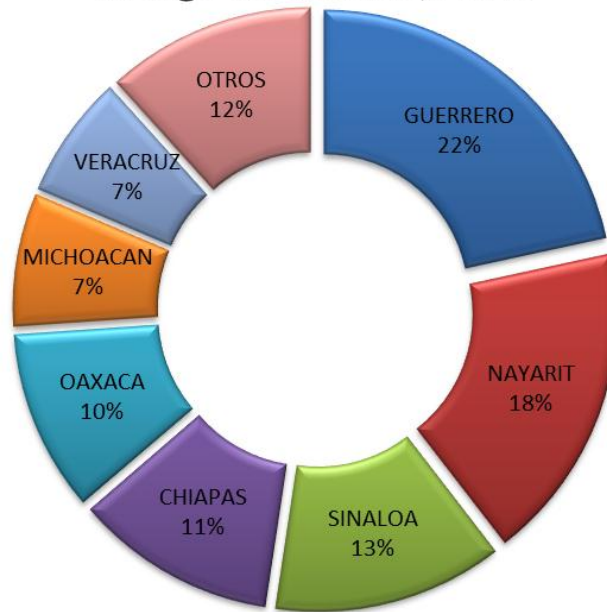
**Figura 1.** Porcentaje de participación de los principales países productores de mango (*Mangifera indica* L.) (FAO, 2012).

### 2.3. Producción de mango en México

En 2010, los principales estados productores de mango en el país fueron: Guerrero, Nayarit, Sinaloa, Nayarit, Chiapas, Oaxaca, Michoacán y Veracruz. En conjunto produjeron el 88% del mango nacional (1.4 millones de t). Es importante resaltar que el liderazgo del estado de Guerrero se debió tanto a la extensa superficie sembrada como al buen rendimiento del cultivo (Figura 2) (SIAP, 2012).

La producción de mango en México en 2010 fue de 1, 632, 649 t. Entre las variedades más producidas en el país se encuentran: Ataulfo, Manila, Tommy Atkins y Haden. Entre estas cuatro variedades se concentró el 71% de la superficie cosechada y el volumen de producción de esta fruta, como se observa en Cuadro 1 (SIAP, 2012).

## Principales estados productores de mango en México, 2010



**Figura 2.** Principales estados productores de mango (*Mangifera indica* L.) en México, 2010 (SIAP, 2012).

**Cuadro 1.** Producción de mango (*Mangifera indica* L.) en México, ciclo 2010.

Variedad	Superficie sembrada (has)	Superficie cosechada		Producción	
		(has)	(%)	(t)	(%)
<b>Ataulfo</b>	44,557.40	42,543.23	24.3	430,262.98	26.4
<b>Manila</b>	39,103.83	38,881.58	22.2	322,492.28	19.8
<b>Haden</b>	25,218.91	22,673.02	13.0	188,401.41	11.5
<b>Tommy Atkins</b>	21,508.06	20,079.65	11.5	215,449.96	13.2
<b>Kent</b>	17,492.75	16,555.49	9.5	185,075.60	11.3
<b>Criollos</b>	12,950.66	12,564.76	7.2	114,046.59	7.0
<b>Keitt</b>	8,553.88	8,378.99	4.8	73,728.35	4.5
<b>Manililla</b>	4,860.60	4,527.60	2.6	31,644.97	1.9
<b>Oro</b>	4,252.00	4,252.00	2.4	42,520.00	2.6
<b>Sin clasificar</b>	2,593.78	2,578.03	1.5	18,400.82	1.1
<b>Paraíso (petacón)</b>	1,117.50	1,036.50	0.6	5,770.42	0.4
<b>Obo</b>	899	899	0.5	4,855.96	0.3
<b>Total</b>	<b>183,108.37</b>	<b>174,969.85</b>	<b>100</b>	<b>1,632,649.34</b>	<b>100</b>

## **2.4. Principales limitantes de la producción de mango**

Las principales partes de la planta (tronco, rama, hoja, peciolo, flor y frutos) son atacados por factores, particularmente hongos, que afectan el rendimiento del cultivo, como antracnosis causado por *Colletotrichum gloeosporioides*; cenicilla, su agente causal es *Oidium mangiferae*; muerte descendente (*Lasiodiplodia theobromae*); canchales de tronco y ramas (*L. theobromae*, *Phytophthora cinnamomi*); fumagina (*Meliola mangiferum*, *Capnodium mangiferae* y *Fumago sp.*); proliferación vegetativa y floral (Kumar *et al.*, 1993; Mora, 2000).

## **2.5. Proliferación vegetativa y floral**

En la mayoría de las zonas productoras de mango en México y el mundo se presenta una de las enfermedades más destructivas denominada malformación del mango (mango malformation), bunchy top, “escoba de bruja” o proliferación vegetativa y floral (PVF), que afecta brotes vegetativos y florales; destacando su severidad, control ineficiente y se presenta en la mayoría de las variedades cultivadas.

La enfermedad se registro por primera vez en India en 1981 (Krishnan *et al.*, 2009); y actualmente se encuentra distribuida en Pakistán, India, Bangladesh, Burma, Indonesia, Malasia, Estados Unidos, Australia, Egipto, Sudan, Cuba, Centroamerica, Brasil, México, Israel, Filipinas, Tailandia (Kumar, *et al.*, 1993; Iqbal *et al.*, 2004). En México fue detectada en los Estados de Morelos, Veracruz y Guerrero en 1958 (Morales y Rodríguez, 1961); a la fecha se ha extendido ampliamente en todos los estados productores de mango.

La enfermedad toma el nombre en inglés como “malformation”, cuando se presenta en inflorescencias se denomina “inflorescence malformation”, mientras que en brotes vegetativos es “bunchy top”. En Venezuela se conoce como “agalla” o “escoba de bruja”

(Catellano y Guanipa, 2004). En México, a ambos problemas se le asigna el nombre de “escoba de bruja” o proliferación vegetativa y/o floral (Mora *et al.*, 2003; López, 2008).

Los daños en los cultivares mejorados del tipo "petacón" y tipos criollos son mayores en la cuenca del pacífico y en el trópico seco de México, donde reduce los rendimientos hasta en 50% (Vega y Miranda, 1993; Noriega *et al.*, 1999).

## 2.6. Etiología

El agente causante de este comportamiento anormal en los brotes vegetativos e inflorescencias, ha sido motivo de preocupación desde sus inicios y lo han asociado con hongos, ácaros, virus, desbalances fisiológicos (metabólico, hormonal y otros factores), estrés ambiente, suelo y desbalance nutrimental (Chakrabarti, 2011). Sin embargo, se confirma que estas alteraciones son inducidas principalmente por un hongo; el cual, coinciden con *Fusarium mangifera* (Ploetz *et al.*, 2002; Britz *et al.*, 2002). Además, tres taxones fueron reportados como responsables de la proliferación en mango: *F. sterilihyphosum* en Brasil y sur de África (Britz *et al.*, 2002); *F. proliferatum* (*Gibberella intermedia*) en Malasia (Zheng y Ploetz, 2002), sin realizar los postulados de Koch, pero confirmado en china (Zhan *et al.*, 2010) y *F. mexicanum* en México (Otero *et al.*, 2010).

Hasta 1999, el patógeno causante de la proliferación en mango, reportado diversamente como *F. moniliforme* y *F. subglutinans*, fue reconocido. Sin embargo, Britz *et al.* (2002), mediante análisis filogenéticos moleculares de datos de secuencias de ADN multilocus, redescubren el patógeno como *F. mangiferae*.

Britz *et al.* (2002), también describieron una segunda especie (*F. sterilihyphosum*) que fue mencionada por Steenkamp *et al.* (2000), éste fue encontrado más tarde en Brasil, por Lima *et al.* (2009), y también causa la enfermedad. Castellano y Guanipa (2004),

mencionan a *F. decemcellulare* Brix., como agente causal de la “agalla” o “escoba de bruja” en Venezuela, al evaluar 10 cultivares de mango.

Zhan *et al.*, (2010) completaron los postulados de Koch's, por primera vez y con ayuda de estudios morfológicos y moleculares, apoyan la conclusión de que *F. proliferatum*, es el agente causal de la enfermedad en el Sur de China.

En México, se confirmó la patogenicidad de *F. oxysporum* y *F. subglutinans* como agentes etiológicos de la escoba de bruja y se determinó mayor abundancia de *F. subglutinans* en Michoacán y de *F. oxysporum* en Guerrero (Noriega *et al.*, 1999, Mora *et al.*, 2003). Recientemente se identificó a *F. mexicanum* (Otero *et al.*, 2010) como patógeno adicional de la PFV.

El ácaro de las yemas del mango (*Aceria mangiferae*) se ha encontrado correlacionado con la enfermedad (López, 2008; Kumar *et al.*, 1993). Los ácaros no causan la enfermedad, pero es posible que jueguen un papel importante, como transmisores, en el desarrollo de la enfermedad debido a las heridas que causan en los meristemos (López, 2008) o por ser posible vector (Pinkas y Gazit, 1992).

## **2.7. Síntomas**

La enfermedad presenta variación de síntomas y probablemente se relacionan con diferentes fases de la patogénesis, especie del hongo, cultivar, factores ambientales y la edad del hospedante o tejido al momento de la infección (Chakrabarti, 2011). Lo más común que se reconocen son dos tipos de síntomas: Proliferación vegetativa y proliferación floral (Mora *et al.*, 2003).

### *2.7.1. Proliferación vegetativa*

Los brotes vegetativos sanos se caracterizan por presentar dominancia apical (crecimiento normal) y ausencia de brotación lateral; mientras que los síntomas de proliferación causan pérdida de dominancia apical y se observan brotes laterales que salen de un mismo sitio (proliferación) y desarrollo de entrenudos cortos que causan achaparramiento de los tallos y les dan aspecto arrosado (Mora, 2000); las yemas axilares desarrollan multitud de brotes hasta formar una masa compacta (Ram, 1991; Noriega *et al.*, 1999). Los brotes formados son más gruesos y las hojas son pequeñas (Marasas *et al.*, 2006). Los daños se encuentran en plántulas y plantas juveniles en los viveros y en huertos recién establecidos.

### *2.7.2. Proliferación floral*

Las inflorescencias sanas presentan un raquis central con entrenudos largos y ramificaciones secundarias con abundantes flores individuales que les confieren una estructura piramidal y un color amarillo dorado (Mora, 2000). Las panículas infectadas presentan engrosamiento del eje primario y raquis secundario, acortamiento de entrenudos y necrosis del raquis, presentando apariencia arrosada y compacta. Las flores presentan ovario de color verde y caen sin llegar a ser polinizadas. Las flores hermafroditas cambian a flores estaminadas, estériles y abortivas. Las panículas enfermas se marchitan hasta el final de la estación de fructificación y persisten como masas carbonosas sobre los árboles hasta el ciclo siguiente (Covarrubias, 1978; Olivas, 1979; Ram, 1991). Algunas panículas en estados tempranos de desarrollo pueden presentar apariencia estructural piramidal similar a las sanas, pero se distinguen de éstas por desarrollar coloración verde-amarillenta (Marasas



*et al.*, 2006). La proliferación floral puede coexistir en un mismo árbol junto con la proliferación vegetativa.

## 2.8. Variedades susceptibles y estimación de severidad

La susceptibilidad de las variedades a la proliferación vegetativa y floral en mango es variable; los factores que la regulan son temperatura, edad del árbol, fertilización. En general, las variedades de floración tardía son menos susceptibles que los de floración temprana (Krishnan *et al.*, 2009).

Rymbai y Rajes (2011) realizaron una revisión de la malformación de mango e indican que ningún cultivar es completamente resistente a la malformación Cuadro 2; sin embargo, el cv. Bhadauran se considera libre a la malformación.

**Cuadro 2.** Cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) susceptibles a la proliferación vegetativa y floral (*Fusarium spp.*) a escala mundial.

	<b>Cultivares y severidad de incidencia de enfermedad</b>	<b>Referencia</b>
<b>1</b>	Collector, Langra and Neelum (2-8%), Anwar Ratau (45-50%), Alphanso (70-95%), Dusehri (15-69%), Maida (50-90%), Samar Bahisht (20- 98%).	Khan y Khan (1960)
<b>2</b>	Bombay Green, Dashehari, Lucknow safeda y Chousa mostraron (10.8-24.2%) y Baramasi (0.32-1.92%)	Ram <i>et. al.</i> (1990)
<b>3</b>	Kensington (19.2 %), Mallika (12.3%) y Dashehari (4.6%)	Yadav y Singh (1995)
<b>4</b>	Amrapali (57.12%), Bombay Green (56.25%), Mallika (55.0%), Langra (9.37%), Totapuri (16.53%) y Alphonso (17.25%)	Badliya y Lakhanpal (1990)
<b>5</b>	Tomy Atkin (54 - 17%)	Sao-Jose <i>et al.</i> (2000)
<b>6</b>	Sindhri (36.24%), Anwar rataul (31.02 %) y Dusehri (26.83% )	Iqbal <i>et. al.</i> (2004)

Kumar *et al.* (1993) mencionan que a nivel mundial se han realizado estudios en relación a la resistencia varietal. En base a una escala de 9 grados (1 = resistente, 3 = moderadamente resistente, 5 = tolerante, 7 = moderadamente susceptible; 9 = susceptible). En India, los cvs. Langra, Dashehri, Chausa, y los híbridos Mallika y Amrapali fueron susceptibles (9 = >20% índice de enfermedad). En Egipto, la enfermedad fue más severa en los cvs. Gylore, Mabrouka y Tamour, mientras que Zebda y Anshas Hindi rara vez son afectados.

Joseph (2002) observó síntomas típicos de PVF en cv. Haden; además mencionó que la biomasa (peso fresco) de ramas y el volumen desplazado de agua estuvieron relacionados entre sí ( $r^2 = 0.86$ ) y pueden usarse indistintamente como variables para estudio de severidad de la PVF.

En Venezuela Castellano y Guanipa (2004), encontraron a los 45 días la formación de agallas al inocular *Fusarium decemcellulare*. Desarrollaron una escala de cuatro grados, de acuerdo a la frecuencia y longitud de lesiones. La escala fue la siguiente: 0-0.45 = moderadamente resistente; 0.46-0.8 = moderadamente susceptible; 0.81-0.98 = susceptible; >0.98 = altamente susceptible. Al evaluar el comportamiento de los cultivares los cvs. Palmer y Kent resultaron moderadamente resistentes y los más susceptibles Haden y Batista.

Iqbal *et al.* (2006) propusieron una escala de cinco niveles con base en síntomas de malformación (proliferación): 1=yemas hinchadas; 2=erupción de yemas múltiples (vegetativa) o raquis engrosado (floral); 3=grupo de entrenudos cortos (vegetativo) o panícula engrosada (floral); 4=hojas escamosa (vegetativo) o aumento de flores (floral); 5=ápice compacto (vegetativo) o panícula compacta deformada (floral). La variedad Desi tuvo nivel 5; mientras que Sindhri, Chaunsan y Fajri no se infectaron.

En otro estudio realizado en Brasil, mediante el análisis de la prueba de medias de Z de los promedios de las plantas enfermas, los cultivares Bhadauran, Palmer, Parvin, Sensation, Sorpresa, Van Dyke y Zill presentaron menor incidencia, en comparación con Bourbon IAC-100, Coracao de Boi, Keitt, Parvin, Primor de Amoreira, Smith y Tommy Atkins, los cuales fueron susceptibles (Posella *et al.*, 2007).

## **2.9. Estudios de patogenicidad por inoculaciones artificiales**

Las técnicas experimentales utilizadas para verificar la patogenicidad se han basado en métodos de infestación del suelo (Haggag *et al.*, 2010), deposición de micelio sobre heridas causadas mecánicamente, aspersión de conidios, posibles vectores (*Aceria mangiferae*) e infiltración de esporas (Chakrabarti, 2011).

Ploetz y Gregory (1993), reprodujeron satisfactoriamente los síntomas de malformación al insertar una porción (rodaja) de micelio de hongo; Iqbal *et al.* (2010), asperjaron esporas y frotaron con carborundum pero no se manifestaron los síntomas de proliferación; mientras que Haggag *et al.* (2010) reprodujeron la enfermedad 120 días después de inocular suelo con una suspensión de esporas en plantas de mango cv. Sadekia.

López (2008) menciona que el acaro *Aceria mangiferae* se desempeña como medio de transporte y facilita la infección de la planta, por lo que la asociación de del ácaro-hongo promueve e intensifica los síntomas de proliferación.

El método de infiltración de esporas con aguja hipodérmica se ha utilizado en estudios los siguientes estudios:

Noriega (1996) al inocular *F. subglutinans* y *F. oxysporum* en plantas de mango del cv. Haden y criollos, con una eficiencia del 75 al 100%. Freeman *et al.* (1999) transformaron un aislamiento de *F. subglutinans* con GUS (b-glucuronidase), inocularon en yemas

vegetativas y florales de mango (cv. Kent) y entre los 42-56 días observaron síntomas de PVF con una eficiencia del 100%. Mora (2000) inoculó plantas de mango de tipo criollo con *F. subglutinans* y presentó una eficiencia de inoculación del 100%. Joseph (2002) infiltró esporas de *F. subglutinans* en yemas apicales de plantas de mango del cv. Haden, bajo condiciones de invernadero, teniendo una eficiencia del 50 al 100%. Lima *et al.* (2009) completaron satisfactoriamente los postulados de Koch's de los aislamientos de la nueva especie de *Fusarium*, presentando una eficiencia del 20 al 60%; mientras que con *F. sterilihyposum* fue del 20 al 40%; en contraste, con *F. semitectum* no se observó proliferación. Iqbal *et al.* (2010) documentaron que los aislamientos de *F. manguiiferae* indujeron los síntomas de proliferación nueve meses post-inoculación, con rango de severidad de 4 y 5, en base a su escala propuesta. La eficiencia fue de 67 al 83%. Zhan *et al.* (2010) mencionaron que cinco aislamientos (MG1, *F. proliferatum*, MG5, MG6 y MG7) reprodujeron los síntomas típicos de proliferación, con una eficiencia del 10 a 70%.

## **2.10. Histopatología**

Los escasos estudios histopatológicos existentes reportan la distribución ocasional de hifas en el parénquima y tejidos vasculares. Díaz (1979), utilizó las técnicas de APS y Azul negro de Naftol, encontrando al patógeno principalmente en el tejido parenquimatoso cortical de las inflorescencias. Noriega (1996), observó en meristemos apicales y axilares de brotes vegetativos con infección natural micelio, micro y macroconidios de *F. oxysporum*; aunque, en yemas vegetativas y tallos inoculados se presentó de manera superficial micelio y microconidios en la cutícula del tejido epidérmico; además, tanto en yemas vegetativas como florales, tallos inoculados y con infección natural, se observó hiperplasia, hipertrofia, depósito de fenoles, desorganización y muerte celular.

Kumar *et al.* (1993), mencionan que los brotes vegetativos y reproductivos de plantas enfermas, se observa hiperplasia e hipertrofia. En flores hermafroditas los óvulos no llegan a diferenciarse y no hay desarrollo de embriones; además, revelan distribución inter e intracelular de la hifa del hongo en corteza, floema y células parenquimatosas. El micelio del hongo se ha detectado en la punta del brote e inflorescencia, yemas axilares, ejes de pétalos, sépalos con enfermedad.

Mora (2000) describió el proceso de patogénesis en yemas vegetativas de plantas de mango de tipo criollo, las cuales fueron inoculadas y desarrolladas bajo invernadero, encontrando, que el tejido epidérmico del hospedante fue superficialmente colonizado por el hongo, el cual formó estructuras similares a apresorios y probablemente facilitaron la colonización externa de tricomas. No observó penetración directa, ni actividad enzimática sobre o dentro del tejido epidérmico del hospedante. Así mismo, se observaron alteraciones histológicas como acumulación de polifenoles, hiperplasia del tejido meristemático y vascular (floema) e hipertrofia del parénquima cortical.

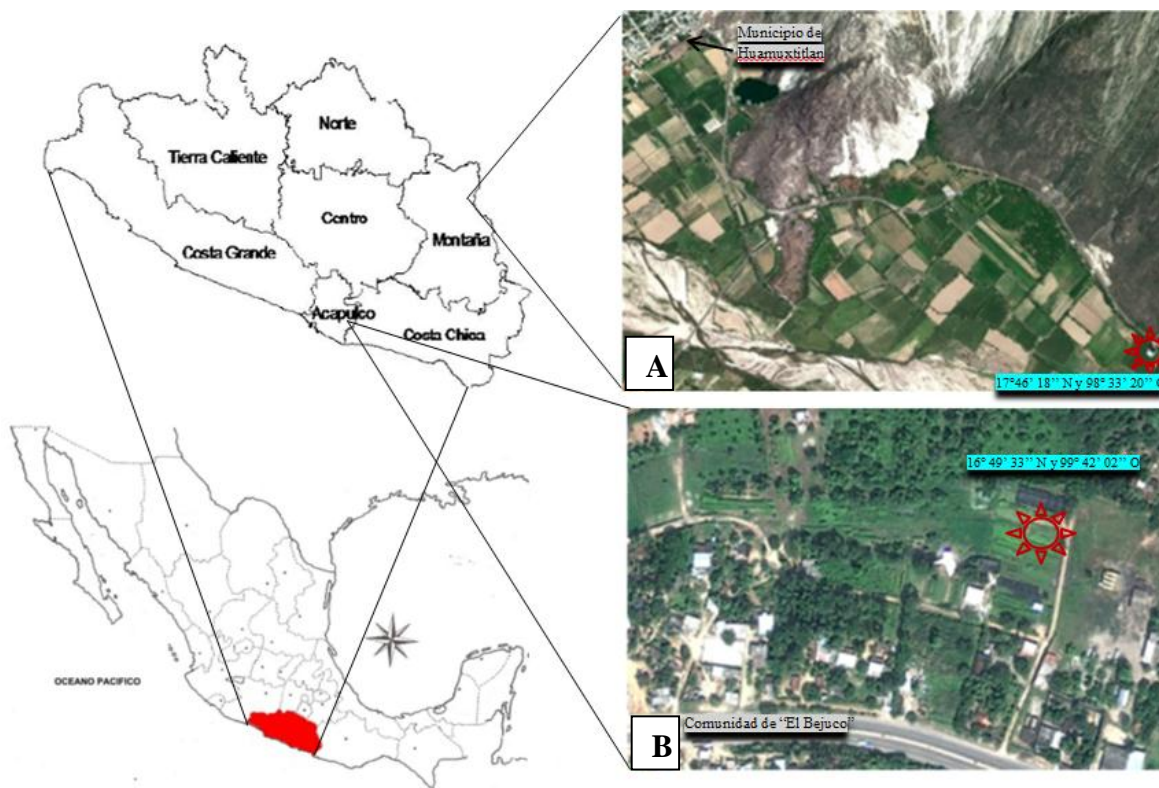
Joseph (2002), observó que el hongo solo quedó limitado en la superficie cuticular, sin encontrar evidencias de su invasión inter o intracelular. El micelio se presentó asociado estrechamente con la superficie de células epidérmicas ordinarias y con los tricomas; solo en los tratamientos inoculados se observaron brácteas necrosadas (un tratamiento) y depósitos de compuestos fenólicos de forma esférica y densa.

Chakrabarti (2011) documentó que en inflorescencias malformadas se observa hipertrofia y las células corticales teñidas de color café; mientras que en hojas los vasos de xilema se desarrollan poco y en menor cantidad, además se observan depósito de fenoles (tanino).

### III. MATERIALES Y MÉTODOS

#### 3.1. Sitio de estudio

El estudio se realizó en dos viveros de mango ubicados en la comunidad de “El Bejuco” en la región de Acapulco en Guerrero, México ( $16^{\circ} 49' 33''$  N y  $99^{\circ} 42' 02''$  O a 30 m de altitud) y en Huamuxtitlán, región de la montaña baja de Guerrero, México ( $17^{\circ} 46' 18''$  N y  $98^{\circ} 33' 20''$  O, a 903 m de altitud). Los tipos de clima predominante en Huamuxtitlán, Gro., son subhúmedo-semicálido y subhúmedo-cálido; con precipitación pluvial de 700 a 900 mm y julio y agosto como los meses más lluviosos (Figura 3).



**Figura 3.** Ubicación geográfica de los viveros de mango (*Mangifera indica* L.) empleados para estudio de tolerancia varietal a *Fusarium* spp. (Google Earth® versión 6.1). Vivero experimental en Huamuxtitlán, Guerrero México (A); vivero comercial “Ángel”, en El Bejuco, Acapulco, Guerrero, México (B).

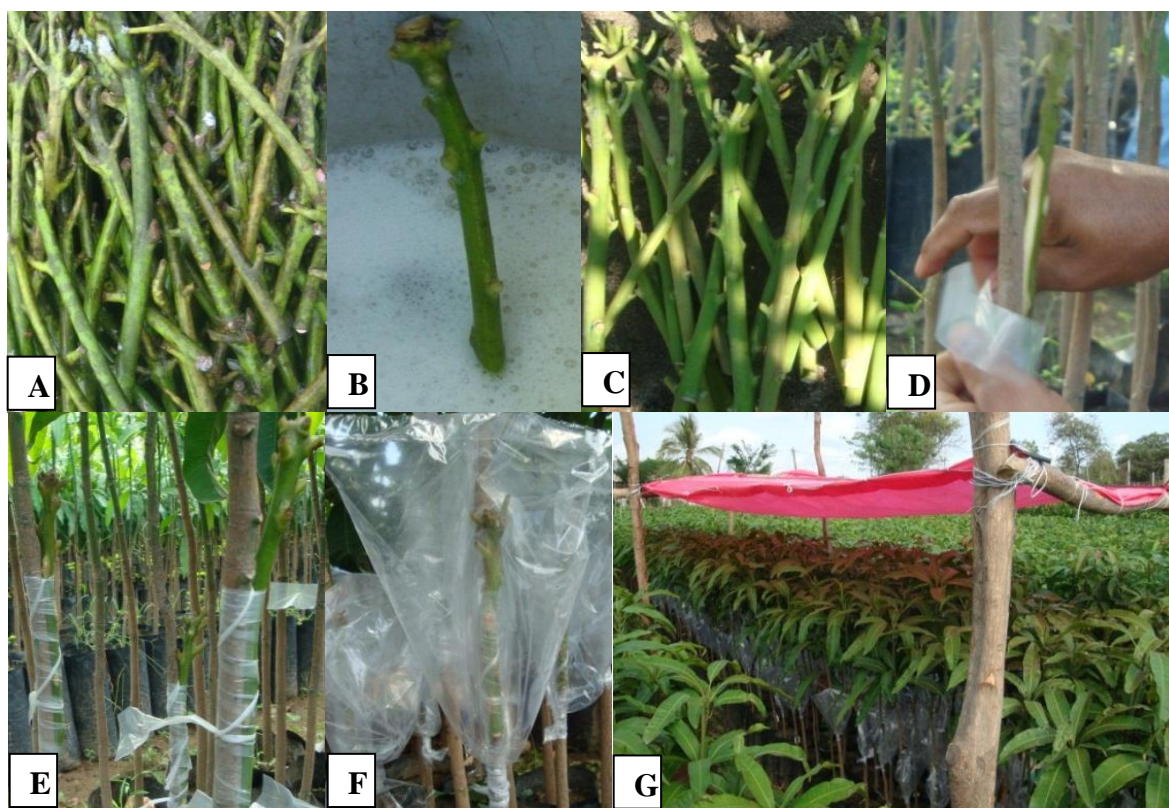
### 3.2. Material biológico, injertación y manejo de plantas

Se utilizaron varetas de mango (*Mangifera indica* L.) de las selecciones experimentales Ataulfo A-4 y A-8 y cv. Ataulfo Diamante, procedentes del Campo Experimental Centro de Chiapas–INIFAP, en Tapachula, Chiapas, México; así como material propagativo del cv. Haden y Clon Manila Cotaxtla-1 del Campo Experimental Cotaxtla–INIFAP, en Cotaxtla, Veracruz, México. Las varetas se cortaron con tijeras de podar, previamente desinfectadas, de árboles sanos, vigorosos y productivos, presentando color verde oscuro, con yema terminal en reposo. El portainjerto empleado fue mango criollo nativo de Acapulco de Juárez, Guerrero, México.

Las varetas se trasladaron en hielera al vivero frutícola comercial “Ángel”, en El Bejuco, Acapulco, Gro. Méx., donde se realizó la injertación. Previo a esta práctica, las varetas se sumergieron en solución con mancozeb (75 g de i.a/kg), captan (7.2 g de i.a/kg) y thiabendazol (10 g de i.a/kg) por 15 min y frotaron suavemente con fibra natural, para eliminar agentes contaminantes superficiales, principalmente fumagina (*Capnodium mangiferae*) (Figura 4 A, B y C). La injertación se realizó por enchapado lateral de acuerdo a la metodología descrita por Villegas y Mora (2008) (Figura 4 D y E); finalmente, los injertos se cubrieron con bolsa de plástico para evitar deshidratación y adicionalmente se colocó una lona de polipropileno para reducir radiación solar (Figura 4 F y G).

Al inicio de brotación (prendimiento de injerto) las bolsas se retiraron y 30 días después de ésta etapa el patrón se cortó aproximadamente tres cm arriba del injerto y aplicó pintura negra para evitar deshidratación y contaminación de heridas. La fertilización constó de dos g por planta con 17-17-17 (N, P, K) cada 45 días y asperjó mancozeb y thiabendazol

para control de enfermedades; el riego se realizó diariamente. Ocho meses después, las plantas injertadas se trasladaron al vivero experimental del proyecto mango (FONSECA-SAGARPA-CONACYT NÚM 48595) ubicado en Huamuxtitlán, Gro. para uso posterior.



**Figura 4.** Injertación de varetas experimentales de mango (*Mangifera indica* L.) por enchapado lateral. Asepsia de varetas de mango (*Mangifera indica* L.) (A, B y C); unión lateral del patrón con la vareta y amarre del injerto con plástico (D y E); colocación de bolsa plástica y lona de polipropileno en plantas injertadas (F y G).

### 3.3. Aislamientos y preparación del inóculo

#### 3.3.1. Testigo positivo (*F. oxysporum*)

La cepa GUE1-INI-95 fue aislada de huertos de mango con alta incidencia de proliferación vegetativa y floral (PVF) del estado de Guerrero en 1995; se identificó morfológicamente por Noriega (1996) y se verificó en el Fusarium Research Center;



Pensilvania State University por Jean Juba; se conservó en arena – agar (PDA, BD Bioxon<sup>®</sup>, Becton Dickinson) en la colección de hongos del Laboratorio de Frutipatología del Instituto de Fitosanidad, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados. El aislamiento se identificó como *F. oxysporum* con base en el análisis molecular de las secuencias ribosomales del ADN de los espaciadores internos transcritos (rDNA-ITS).

### 3.3.2. Cepa combinada (mezcla) de aislamientos de *Fusarium* spp.

Los aislamientos de *Fusarium* spp. se obtuvieron de brotes vegetativos (tallos y yemas apicales) y florales (panículas) de árboles de mango con proliferación, muestreados en las localidades siguientes: Ciudad Altamirano, Pungarabato, Guerrero, México y Vicente Riva Palacio, San Lucas, Michoacán, México (región de Tierra Caliente); por presentar incidencia y severidad superior al 80%. El muestreo constó de tres árboles en tres huertos comerciales (Cuadro 3).

**Cuadro 3.** Brotes vegetativos y florales de mango (*Mangifera indica* L.) colectados en los estados de Guerrero y Michoacán, Méx., para aislamiento de cepas combinada de aislamientos de *Fusarium* spp. (ciclo 2010).

Localidad/Estado	Huerto	Tipo de proliferación		Número de brotes
Ciudad Altamirano, Guerrero	1	Vegetativa	Asintomático	3
			Enfermo	3
	2	Floral	Asintomático	0*
			Enfermo	0*
Vicente Riva Palacio, Michoacán	2	Vegetativa	Asintomático	3
			Enfermo	3
	3	Floral	Asintomático	3
			Enfermo	3
	3	Vegetativa	Asintomático	3
			Enfermo	3
		Floral	Asintomático	3
			Enfermo	3

\*Ausencia de floración

Las muestras se trasladaron en hielera y conservaron en refrigeración (6 °C) hasta su utilización (48 h después de su colecta) en el laboratorio de Frutipatología del Instituto de Fitosanidad, Campus Montecillo, Colegio de Postgraduados. Del material se seleccionaron yemas apicales, tallos vegetativos y el eje principal de las inflorescencias; se lavaron en agua corriente y secó en papel absorbente, después cortaron fragmentos de cinco cm, desinfectaron por inmersión en hipoclorito de sodio 1.0% por dos min, enjuagaron en agua destilada estéril tres veces por tres min y colocaron en papel absorbente estéril. De cada fragmento/tipo de tejido se cortaron cuatro secciones de 3-5 mm e incubaron en cajas Petri individuales con medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) (BD Bioxon<sup>®</sup>) a luz natural y temperatura ambiente (22 ±2 °C). Las colonias de *Fusarium* spp. que crecieron se transfirieron por método de punta de hifa y cuando esporularon se prepararon cultivos monospóricos para identificación cultural (color, crecimiento de colonia/día y tamaño de micro y macroconidios) y estimación de frecuencia (%).

### 3.3.3. Preparación del inóculo

Las fuentes de inóculo consistieron de dos suspensiones de conidios; la primera se formó por una mezcla de cinco aislamientos de *Fusarium* spp. más contrastantes y frecuentes de campo; se adicionaron nueve mL a cada una de las cinco cajas Petri conteniendo las cepas individuales en esporulación; se rasparon con aguja de disección curva, extrajeron dos mL/cepa de suspensión concentrada de esporas y mezclaron en un tubo de ensaye (dos mL/cepa x cinco cepas = 10 mL/tubo) para formar una suspensión conidial madre de  $1 \times 10^{-1}$ . En la segunda se utilizó la cepa *Fusarium oxysporum* como testigo experimental positivo, por presentar alta patogenicidad en estudios previos (Noriega, 1996; Mora, 2000; Joseph, 2002; López, 2008). De la mezcla y testigo positivo se

formaron suspensiones con una concentración final de  $2 \times 10^6$  esporas/mL (López, 2008) estimadas en la cámara de Neubauer<sup>®</sup>. Adicionalmente se empleó agua destilada estéril como testigo absoluto (negativo).

### 3.4. Diseño y establecimiento del experimento

Las plantas de los cvs. Haden, Cotaxtla-1, Aaulfo Diamante y las selecciones Aaulfo A-4 y A-8 se seleccionaron por vigor con base en la circunferencia de tallo y fenología (yema latente); asimismo, se utilizó un diseño de bloques completos aleatorizados con tres tratamientos y cinco repeticiones (Cuadro 4). Cada bloque consistió de un material de mango con tres tratamientos (inoculación con: *F. oxysporum*, cepa combinada de aislamientos de *Fusarium* spp. y agua destilada estéril) y cinco repeticiones (15 unidades experimentales/bloque). La unidad experimental constó de una planta (Figura 5).

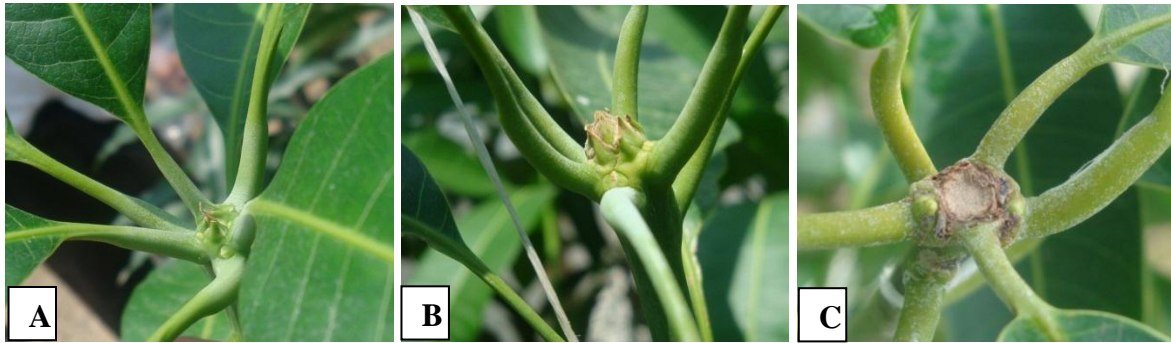
**Cuadro 4.** Diseño experimental para evaluar la tolerancia varietal en mango (*Mangifera indica* L.) establecido en Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2010.

Bloque	Tratamiento	Repetición
<b>cv. Aaulfo Diamante</b>	Cepa combinada de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp.	1, 2, 3, 4, 5
	Testigo	1, 2, 3, 4, 5
	<i>F. oxysporum</i>	1, 2, 3, 4, 5
<b>Selección Aaulfo A-4</b>	Cepa combinada de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp.	1, 2, 3, 4, 5
	Testigo	1, 2, 3, 4, 5
	<i>F. oxysporum</i>	1, 2, 3, 4, 5
<b>cv. Haden</b>	Cepa combinada de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp.	1, 2, 3, 4, 5
	Testigo	1, 2, 3, 4, 5
	<i>F. oxysporum</i>	1, 2, 3, 4, 5
<b>cv. Cotaxtla-1</b>	Cepa combinada de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp.	1, 2, 3, 4, 5
	Testigo	1, 2, 3, 4, 5
	<i>F. oxysporum</i>	1, 2, 3, 4, 5
<b>Selección Aaulfo A-8</b>	Cepa combinada de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp.	1, 2, 3, 4, 5
	Testigo	1, 2, 3, 4, 5
	<i>F. oxysporum</i>	1, 2, 3, 4, 5



**Figura 5.** Distribución de plantas de mango (*Mangifera indica* L.) utilizadas para análisis de tolerancia varietal a *Fusarium* spp. realizado en Huamuxtitlán, Guerrero, México, 2010.

El parámetro de bloqueo se basó en la aleatorización de la circunferencia del tallo aproximadamente siete cm. arriba del injerto, el cálculo se efectuó con el programa computacional Excel<sup>®</sup>; además, se utilizaron tres tipos de yema (latente, hinchada y “ciega”), la yema latente presentó como apical inconspicuo (meristemo y primordios foliares definidos), la yema hinchada mostró abultamiento prominente del ápice vegetativo(próxima a brotar) y la “ciega” que careció yema apical (solo axilares), debido a la caída o desprendimiento de la inflorescencia (Figura 6).



**Figura 6.** Tipos de yemas de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataulfo utilizadas en el experimento de interacción de *Fusarium* spp. con la susceptibilidad varietal. Yema latente (A), yema hinchada (B) y yema “ciega” (C).

### 3.5. Inoculación de *Fusarium* spp.

Los tallos vegetativos experimentales se desinfectaron por aspersion con hipoclorito de sodio al 1.0%, lavaron con agua destilada estéril con atomizador e infiltraron 100  $\mu$ L de la suspensión ( $2 \times 10^6$  esporas/mL) con jeringa hipodérmica estéril, aproximadamente a cinco mm del ápice de la yema apical (en la base de los primordios foliares más desarrollados); adicionalmente, en las tres primeras yemas subapicales (axilares) aproximadamente a dos mm por arriba de la yema para evitar daños mecánicos al meristemo (Figura 7); el tratamiento testigo negativo se infiltró agua destilada estéril. Las plantas inoculadas (29 de mayo de 2010) se protegieron con bolsas de plástico para evitar contaminación y conservar humedad relativa durante seis días. Al final del experimento (abril de 2011) los aislamientos se recuperaron en cultivo puro de secciones de tejidos con síntomas de PVF. Las colonias y estructuras reproductivas se compararon morfológicamente con las características de la colonia inoculada originalmente.



**Figura 7.** Inoculación por infiltración de esporas con aguja hipodérmica en brote experimental sano de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Ataulfo.

### **3.6. Variables de estudio**

#### *3.6.1. Periodo de quiescencia y expresión de síntomas*

Al final del experimento (abril de 2011) en cada unidad experimental se cuantificó el tiempo transcurrido (días) desde la inoculación hasta la expresión de síntomas (periodo de quiescencia e incubación); asimismo, se caracterizaron los síntomas de PVF y se contabilizaron plantas inoculadas con presencia o ausencia de PVF para estimar la incidencia por cultivar y tratamiento.

#### *3.6.2. Severidad*

Tallos colectados a partir del sitio de inoculación (base del entrenudo con el siguiente flujo de crecimiento) con proliferación vegetativa se sumergieron en probeta de 1 L de

capacidad con agua destilada, para estimar el desplazamiento volumétrico de agua destilada (DVA), según método propuesto por Joseph (2002); posteriormente, el tejido experimental se recuperó, peso en balanza semianalítica y seco a 70 °C/24 h en estufa de aire circulatorio para registro de peso de materia seca. Se determinó el coeficiente de Pearson ( $r$ ), entre las variables de biomasa (peso fresco) y materia seca con el DVA mediante el programa computacional Excel<sup>®</sup>. De manera complementaria, los daños vegetativos se evaluaron con una escala diagramática de severidad de cuatro índices; donde 1=sano, 2=tolerante, 3=moderadamente susceptible y 4=muy susceptible. Al final del experimento esta escala se complementó con el desplazamiento volumétrico para mejorar la precisión.

### 3.6.3. Caracterización cultural y morfométrica de aislamientos

Cada uno de los cinco aislamientos de *Fusarium* sp. (cepa combinada de aislamientos) y del testigo positivo (*F. oxysporum*) se incubaron en PDA (BD Bioxon<sup>®</sup>) a temperatura ambiente (22 ±2 °C), registró el diámetro de crecimiento micelial diario y pigmentación. En un microscopio compuesto (Velab<sup>®</sup>) se examinaron (40x) las características morfológicas de 50 conidios para su descripción cualitativa y cuantitativa. La identificación a nivel de especie se realizó de acuerdo a las claves taxonómicas de Nelson *et al.* (1983) y Leslie y Summerell (2006).

### 3.6.4. Histopatología

Se colectaron brotes vegetativos proliferados y asintomáticos desarrollados a partir del sitio de inoculación de dos plantas de los cvs. Ataulfo Diamante (tolerante) y Haden (susceptible) con sus respectivos tratamientos (testigo negativo, *F. oxysporum* y combinación de aislamientos de *Fusarium* spp.). Los tallos de cada brote se disectaron en

tres secciones transversales (apical, media y basal) de aproximadamente 1.0 cm de longitud, fijaron en FAA [formaldehído, ácido acético glacial, etanol absoluto en proporción 100:50:500 mL, aforado a 1.0 L con agua destilada (350 mL)] y se colocaron en cámara de vacío durante dos minutos para eliminar el aire. Las muestras reposaron 24 h, transcurrido el tiempo se lavaron con agua por 15 min y colocaron en un procesador automático de tejidos (Sakura Fingtechnical, Tissue-Tek II<sup>®</sup> mod. 4640B) para su deshidratación [alcohol etílico al 50, 70, 85, 96 y 100%, seis h en cada cambio, mezcla de alcohol absoluto-xileno absoluto (1:1) por seis h y dos cambios en xileno absoluto (tres h/cada uno)] e inclusión en paraplast<sup>®</sup> (SIGMA Chemical<sup>®</sup>) por 48 h. Las secciones se cortaron transversalmente a 10-12 µm de grosor en micrótopo rotatorio (Leica<sup>®</sup> mod. 820) y montaron en portaobjetos con adhesivo de Haupt<sup>®</sup> y cinco gotas de formaldehído al 10%. Los tejidos se extendieron en plancha térmica, eliminó el exceso de formaldehído por escurrimiento y tiñeron con safranina (metilcelosolve) (SIGMA Chemical<sup>®</sup>) – verde rápido (metilcelosolve) (SIGMA Chemical<sup>®</sup>) según protocolo de López *et al.* (2005). Las secciones se desparafinaron en estufa a 60 °C durante 30 min y en tres cambios de xileno por tres min cada uno, hidrataron en alcohol etílico 96% por tres min y colocaron en safranina (SIGMA Chemical<sup>®</sup>) por 24 h. Las secciones se lavaron con alcohol etílico 96% más ácido pícrico, etanol 96% más amoníaco, etanol absoluto y tiñeron con verde rápido (SIGMA Chemical<sup>®</sup>) por 10 seg. Las muestras se lavaron con aceite de clavo para limpiar el exceso de colorante, aclararon con una mezcla de aceite de clavo, xileno y etanol absoluto (50:25:25 mL), colocaron en xileno por al menos tres minutos y montaron en resina sintética. Las observaciones se realizaron en un microscopio óptico marca VELAB<sup>®</sup> equipado con una cámara digital, Moticam<sup>®</sup> 2300, 3.0M Pixeles. De 320 cortes por tratamiento, y ocho campos visuales/corte, se registraron posibles alteraciones estructurales



en los tejidos meristemático, epidérmico, cortical, vascular y medular; además, se cuantificaron 100 células de cada tejido en dos campos visuales en únicamente tres cortes/tratamiento para registro de fenoles (%).

#### *3.6.5. Análisis estadístico*

Con los datos de desplazamiento volumétrico de agua, periodo de quiescencia y depósito de fenoles se analizaron mediante análisis de varianza (ANAVA) con un diseño completamente aleatorio mediante el Modelo Lineal General (GLM). Las medias de los tratamientos se compararon con la prueba LSD ( $P \leq 0.05$ ), con el paquete estadístico SAS (Statistical Analysis System, versión 9.0<sup>®</sup> TS MO, SAS Institute Inc. 2002).

## IV. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

### 4.1. Periodo de quiescencia

Al comparar el periodo de quiescencia (posterior a la inoculación) de las yemas latentes del testigo negativo (agua destilada estéril) con las inoculadas se observó, en general, que las plantas infiltradas con la combinación de aislamientos de *Fusarium* spp. o *F. oxysporum*, de cada material biológico, presentaron brotación más temprana (de 24 a 126 días), excepto en el testigo positivo de la selección Ataulfo A-4 que exhibió una planta con brotación tardía de 53 días (posterior a su testigo negativo). Esta reducción también se observó en las yemas “ciegas” (7-29 días) inoculadas con el hongo, a excepción de la selección Ataulfo A-8 (Cuadro 5); desafortunadamente, no todos los cultivares presentaron este tipo de yemas que permitiera corroborar esta tendencia del patrón de respuesta.

Es probable que la presencia del hongo, sólo o combinado, afecte la quiescencia de las yemas y que la fenología de la yema apical (latente o ciega) también influya en el periodo de expresión de síntomas, estimado desde la inoculación hasta que se manifestaron los síntomas típicos de la enfermedad, después que inicio la nueva brotación (vegetativa o floral). Este aspecto es importante ya que, en general, los síntomas se manifestaron después de varios días o semanas posteriores al inicio de brotación o fin del periodo quiescente. Este trabajo aporta conocimiento original respecto a cómo la fenología de la yema y/o el periodo quiescente del hospedante afectan los periodos de incubación, aspecto evidente en plantas del mismo cultivar, que aún teniendo la misma condición fenológica (e.g yema latente o “ciega”) y origen clonal (injerto), no brotaron uniformemente, independientemente de que estuvieran inoculadas o no con el hongo. Por esta razón, en este trabajo se prefirió

documentar *el periodo de expresión de síntomas a partir del inicio de brotación* que utilizar el término periodo de incubación (PI), debido a que no se tuvieron evidencias respecto al tiempo transcurrido entre la inoculación y el establecimiento de la infección.

Es conveniente mencionar que los resultados observados son de carácter cualitativo ya que la variabilidad registrada en el periodo quiescente en plantas infiltradas con agua destilada estéril (testigo negativo) presentó un coeficiente de variación de 38.98% (Figura 8). Por esta razón, se sugiere que en trabajos futuros se incremente el número de unidades experimentales (yemas latentes).

#### **4.2. Periodo de expresión de síntomas**

El tiempo de aparición de síntomas fue contrastante según el cultivar; en Haden fluctuó de 90 a 176 días, Cotaxtla-1 y Ataulfo Diamante de 164 a 256 días y en las selecciones Ataulfo A-4 y A-8 de 231 a 314 días (Cuadro 5). La heterogeneidad en la duración de los periodos de incubación, según el patógeno experimental utilizado, ha sido documentado previamente; se han observado periodos de 90-120, 90-270, 180, 240 y de 240-300 días en plantas inoculadas con *F. proliferatum*, *F. mangiferae*, *F. subglutinans* y *F. moniliforme* (Zhan *et al.*, 2010; Iqbal *et al.*, 2006; Posella *et al.*, 2007; Ploetz y Gregory, 1993; Summanwar *et al.*, 1966). Sin embargo, también se han documentado periodos de 22, 49 y 56 días en plantas experimentales inoculadas con *F. subglutinans*, *F. sterilihyphosum* y *Fusarium* sp. nov. (Joseph, 2002; Freeman *et al.*, 1999; Lima *et al.*, 2009). Esta variación refleja la extraordinaria complejidad de la interacción mango–*Fusarium* spp., también el efecto de las condiciones agroclimáticas donde se realizó la investigación (altitud, temperatura, humedad relativa).

El cv. Haden, inoculado con la combinación de aislamientos de *Fusarium* spp, tuvo el periodo más corto de expresión de síntomas (90 días) (Cuadro 5, Figura 8) y fue el más dañado con índice 4 (Figura 12), este alto índice de susceptibilidad también fue documentado por Castellano y Guanipa (2004) con *F. decemcellulare* pero con periodo de incubación de 45 días. En contraste, las selecciones Ataulfo A-4 y A-8 tuvieron mayor periodo de incubación (239 y 231 días) y menor severidad (índice 2); sin embargo, Otero *et al.* (2010) observaron síntomas en este cultivar a los 84 días después de inocular *F. mexicanum*.

#### 4.2.1. Efectividad de la técnica de inoculación

La prueba de patogenicidad realizada para definir la etiología de la proliferación vegetativa y floral (PVF) fue satisfactoria (Cuadro 5). La infiltración de 100 µL de la suspensión conidial ( $2 \times 10^6$  conidios/mL) indujo síntomas en los materiales evaluados y confirmó que el patógeno también infecta por heridas (Iqbal *et al.*, 2010). Diferentes métodos de inoculación artificial con eficiencia variable se han probado para conocer su etiología como: infiltración de esporas con aguja hipodérmica, deposición de micelio sobre heridas causadas mecánicamente, por aspersión, a través de posibles vectores (*Aceria mangiferae*) (Chakrabarti, 2011) y deposición de inóculo al suelo (Haggag *et al.*, 2010). El método de infiltración de esporas con aguja hipodérmica, como el utilizado en esta investigación, es uno de los métodos más consistentes y confirmó estudios previos como los realizados por Noriega (1996), Freeman *et al.* (1999), Mora (2000), Joseph (2002), Lima *et al.* (2009), Iqbal *et al.* (2010), Zhan *et al.* (2010), quienes también reprodujeron la enfermedad mediante el uso de jeringa hipodérmica con eficiencia del 75 a 100%, 100%, 100%, 50 a 100%, 20 a 60%, 67 a 83% y 10 a 70%, respectivamente.

**Cuadro 5.** Periodos de quiescencia e incubación en yemas latente y “ciega” en cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) inoculadas con *Fusarium* spp., en Huamuxtitlán, Guerrero, México, en abril de 2011.

Cultivar	Tratamiento	Periodo de quiescencia <sup>v</sup> (días)					Periodo de expresión de síntomas (días)		
		Yema latente	LSD <sup>w</sup> (P≤0.05)	Diferencia respecto a T	Yema ciega	Diferencia respecto a T	Yema latente	Yema ciega	Periodo de incubación
cv. Ataulfo Diamante	Mezcla ( <i>Fusarium</i> spp.)	154	181ab	(-)100	- <sup>x</sup>	* <sup>y</sup>	13	- <sup>x</sup>	167
	Testigo (T)	254					255	- <sup>z</sup>	- <sup>z</sup>
	<i>F. oxysporum</i>	185		(-)69	237	(-)18	71	- <sup>x</sup>	256
selección Ataulfo A-4	Mezcla ( <i>Fusarium</i> spp.)	216	240.43 a	(-)24	193	(-)7	23	- <sup>x</sup>	239
	Testigo (T)	240					200	- <sup>z</sup>	- <sup>z</sup>
	<i>F. oxysporum</i>	293		(+)53	- <sup>x</sup>	* <sup>y</sup>	21	- <sup>x</sup>	314
cv. Haden	Mezcla ( <i>Fusarium</i> spp.)	81	144.25 b	(-)125	- <sup>x</sup>	* <sup>y</sup>	9	- <sup>x</sup>	90
	Testigo (T)	206					- <sup>z</sup>	- <sup>x</sup>	- <sup>z</sup>
	<i>F. oxysporum</i>	149		(-)57	- <sup>x</sup>	* <sup>y</sup>	27	- <sup>x</sup>	176
cv. manila Cotaxtla-1	Mezcla ( <i>Fusarium</i> spp.)	123	180.64 ab	(-)126	- <sup>x</sup>	* <sup>y</sup>	41	- <sup>x</sup>	164
	Testigo (T)	249					- <sup>z</sup>	- <sup>x</sup>	- <sup>z</sup>
	<i>F. oxysporum</i>	127		(-)122	- <sup>x</sup>	* <sup>y</sup>	61	- <sup>x</sup>	188
selección Ataulfo A-8	Mezcla ( <i>Fusarium</i> spp.)	157	233.33 a	(-)115	290	(+)29	74	- <sup>x</sup>	231
	Testigo (T)	272					261	- <sup>z</sup>	- <sup>z</sup>
	<i>F. oxysporum</i>	233		(-)39	270	(+)9	- <sup>z</sup>	- <sup>x</sup>	- <sup>z</sup>

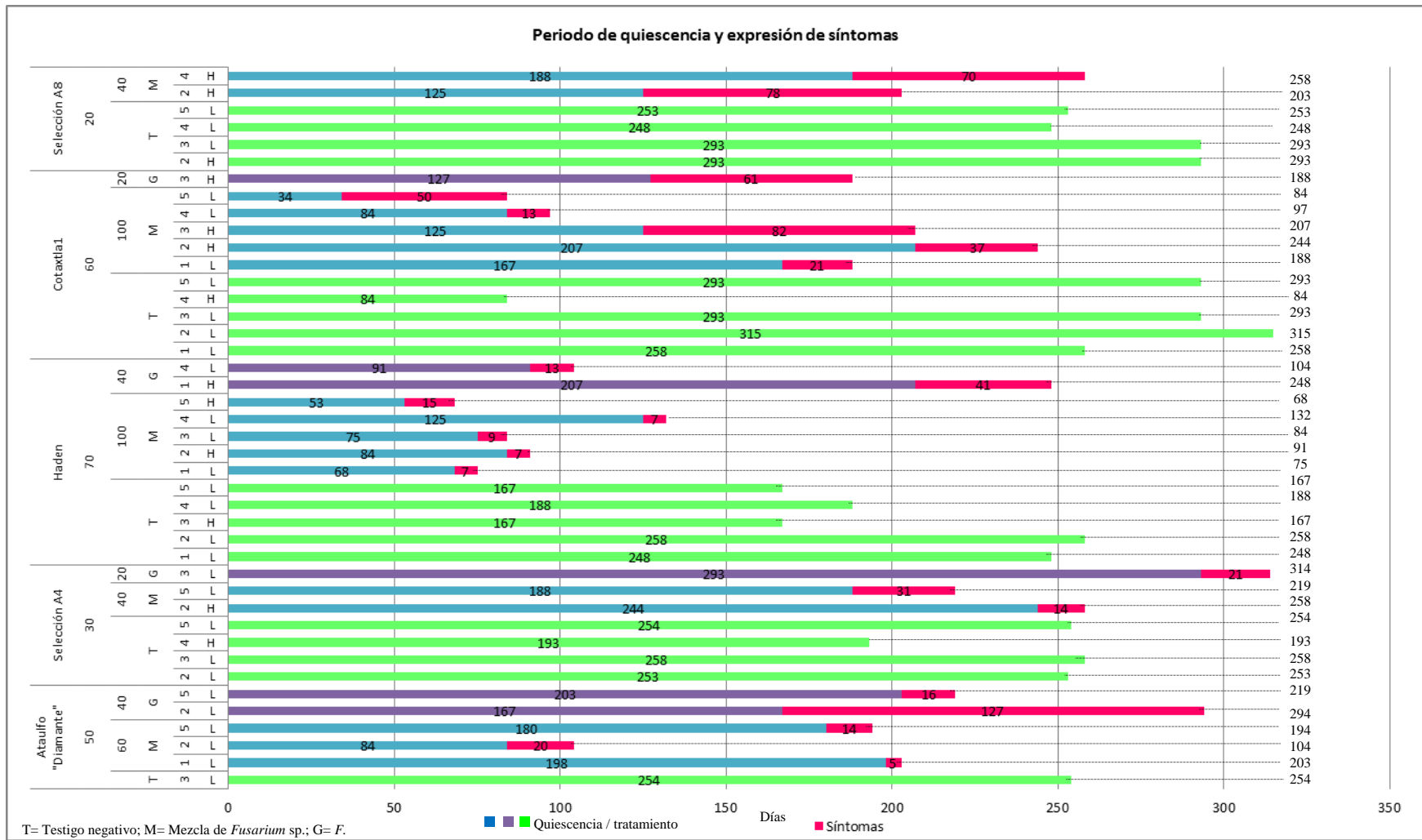
<sup>v</sup> Promedio de quiescencia registrado después de la inoculación.

<sup>w</sup> Medias con diferente letras son significativamente diferentes. Prueba LSD, P≤0.05.

<sup>x</sup> Ausencia de yemas ciegas.

<sup>y</sup> Ausencia de valor de la diferencia de plantas inoculadas en yemas “ciegas” respecto a su testigo (T).

<sup>z</sup> Plantas asintomáticas



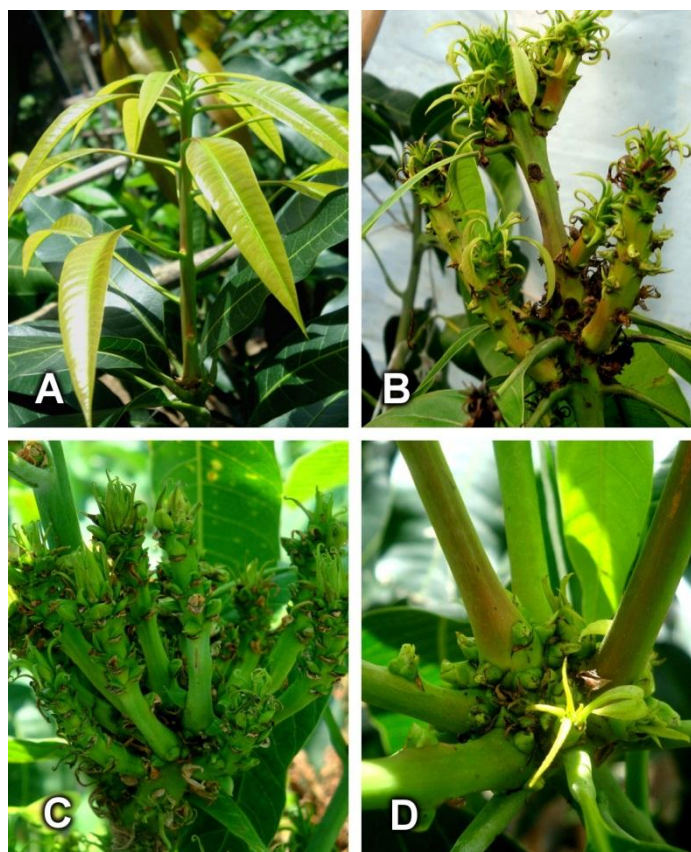
**Figura 8.** Periodos de quiescencia y expresión de síntomas en cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) inoculados con *Fusarium* spp. en Huamuxtitlán, Guerrero, México, en abril de 2011.

#### 4.2.2. Síntomas

La cepa combinada de aislamientos de *Fusarium* spp. indujo los síntomas vegetativos típicos en el cultivar Haden, como pérdida de dominancia apical con proliferación masiva de brotes laterales que emergieron de un mismo sitio (fasciculación) y entrenudos cortos que confirieron a los tallos un aspecto de arrositado. En el ápice y yemas axilares se desarrollaron brotes cortos con proliferación y ocasionalmente hojas pequeñas (Figura 9); en el cv. Ataulfo y las selecciones A-4 y A-8 solo se observó deformación de ápice y entrenudos cortos; mientras que en cv. Cotaxtla-1 se observaron panículas con engrosamiento del eje primario y raquis secundario, acortamiento de entrenudos y necrosis del raquis que dieron a las inflorescencias apariencia compacta y color verde amarillo (Figura 11). En contraste, con la cepa de *F. oxysporum* los tallos de los cvs. Haden y Cotaxtla-1 presentaron proliferaciones axilares poco desarrolladas, yemas axilares prominentes globosas con hojas pequeñas y entrenudos largos (Figura 10), pero en los genotipos Ataulfo solo se engrosaron los primordios foliares.

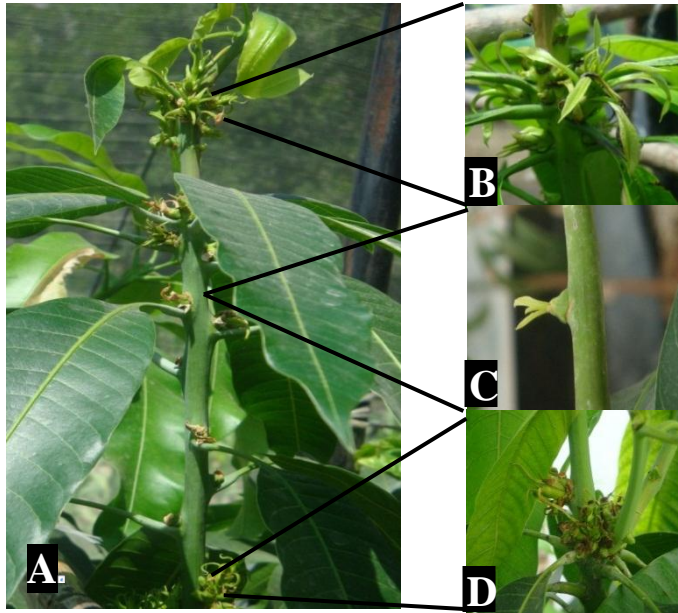
Los síntomas experimentales obtenidos en el presente trabajo fueron similares a los reportados por Noriega *et al.* (1999), Joseph (2002) y Marasas *et al.* (2006). Posella *et al.* (2007), Chakrabarti (2011) y Rymbai y Rajes (2011) mencionaron que la enfermedad puede presentar diferentes grados de daño debido a factores como virulencia del patógeno, susceptibilidad varietal, edad del hospedante y condiciones ambientales. Asimismo, la combinación de aislamientos de *Fusarium* spp. superó en severidad a *F. oxysporum* en los cultivares más susceptibles (Haden y Cotaxtla-1) y originó los síntomas típicos de la enfermedad como fue la proliferación masiva de brotes laterales e inflorescencias con apariencia compacta (Figuras 9 y 11). Lo anterior, confirmó que el complejo de patógenos

induce enfermedades más severas en relación con infecciones aisladas. En este sentido Andrades *et al.* (2009) y Villanueva *et al.* (2006), mencionaron que la antracnosis en frutos de guanábana (*Annona muricata* L.) y chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) fue más severa con una combinación de *C. acutatum*, *C. gloeosporioides* y *C. fragariae* como agentes causales.

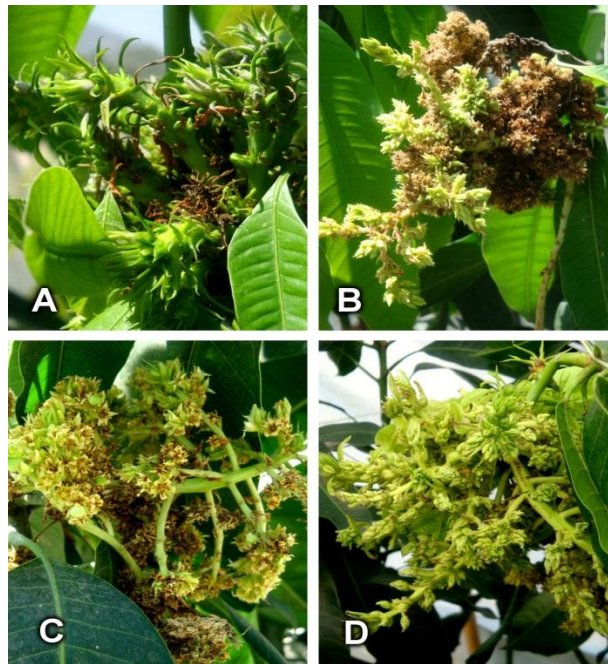


**Figura 9.** Síntomas de proliferación vegetativa en tallos vegetativos de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden inoculados con cepa combinada de aislamientos de *Fusarium* spp., en Huamuxtitlán Gro. Dominancia apical y ausencia de brotes laterales (A); pérdida de dominancia apical (B); proliferación severa de tallos con entrenudos cortos y aspecto arrosetado (C); proliferación de brotes (D).





**Figura 10.** Tallo de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden inoculado con *F. oxysporum*. Proliferación vegetativa en yemas axilares intercalares (A); proliferación de brotes en yemas subapicales y en la base del brote (B y D); yemas axilares prominentes (C).



**Figura 11.** Síntomas de proliferación vegetativa y floral en plantas de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Cotaxtla-1 inoculadas con cepa combinada de aislamientos de *Fusarium* spp., en Huamuxtitlán, Gro. Proliferación vegetativa severa (A); inflorescencia con entrenudos cortos y necrosis de raquis secundarios con apariencia arrosetada (B y C); panícula con flores de color verde – amarillo y engrosamiento de los ejes primario y secundario (D).

#### 4.2.3. Incidencia

La mayor incidencia global (inoculación con la cepa combinada de aislamientos de *Fusarium* spp. o *F. oxysporum*) se observó en el cv. Haden (70%) y la menor en la selección Ataulfo A-8 (20%) (LSD,  $P \leq 0.05$ .); sin embargo, indistintamente del cultivar, la cepa combinada de aislamientos de *Fusarium* spp. fue el tratamiento más consistente en reproducir los síntomas ya que promovió incidencias de 1.5 a 5 veces superiores (40-100%) respecto a *F. oxysporum* (0-40%) en todos los cultivares (Cuadro 6).

La incidencia fue contrastante entre cultivares, posiblemente atribuible a la interacción del genotipo con el patógeno. Esta investigación constituye el primer reporte donde se combinan las especies de *Fusarium* spp. más frecuentes del patosistema mango, aislados de regiones que registran la mayor severidad de proliferación en México (centro occidente de Michoacán y suroeste de Guerrero) y se muestra como la interacción de especies es más consistente en reproducir síntomas (Cuadro 6). Este enfoque se fundamentó en que los daños en huertas comerciales ocurre, en realidad, por el ataque combinado de especies de *Fusarium* spp. y no por infección exclusiva de una especie individual (Noriega, 1996). En trabajos futuros será conveniente disociar el efecto de cada especie para conocer cual de ellas es la más relevante (en frecuencia, patogenicidad y desarrollo epidémico) para mejorar las prácticas de manejo.

**Cuadro 6.** Incidencia y severidad de proliferación vegetativa y floral en cinco cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) inoculados con *F. oxysporum* y cepa combinada de aislamientos de *Fusarium* spp. en Huamuxtitlán, Guerrero, México, (abril de 2011).

Cultivares	Incidencia (%)		Tratamiento – UE <sup>x</sup>	Severidad <sup>y</sup>	Desplazamiento de agua (mL)	LSD <sup>z</sup> (mL)
	<sup>w</sup> Glo	<sup>w</sup> Trat				
selección Ataulfo A-8	20	40	M-2 M-4	2 2	45 8	<b>26.5 c</b>
cv. Ataulfo Diamante	50	60	M-1	2	19	<b>26.8 c</b>
			M-2	2	25	
			M-5	3	52	
		40	G-2	2	16	
			G-5	2	22	
selección Ataulfo A-4	30	40	M-2	2	23	<b>35.67 c</b>
			M-5	3	48	
		20	G-3	2	36	
Cotaxtla-1	60	100	M-1	4	57	<b>81.17 b</b>
			M-2	4	89	
			M-3	4	108	
			M-4	4	95	
			M-5	4	68	
		20	G-3	3	70	
cv. Haden	70	100	M-1	4	178	<b>136.29 a</b>
			M-2	4	150	
			M-3	4	124	
			M-4	4	150	
			M-5	4	90	
		40	G-1	3	98	
			G-4	3	164	

<sup>w</sup> Glo= Global (por cultivar); Trat= Tratamiento.

<sup>x</sup> UE = Unidad experimental: M = cepa combinada de aislamientos de *Fusarium* spp.; G = *F. oxysporum*; dígito representa la unidad experimental (repetición).

<sup>y</sup> Escala de severidad según Figura 12

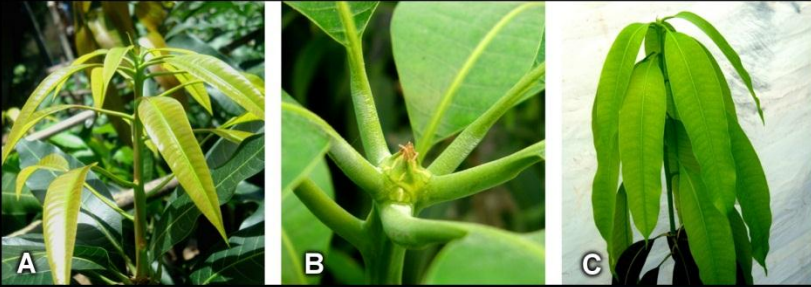

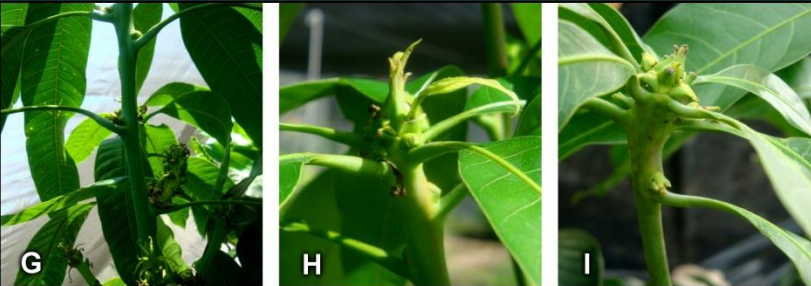

<sup>z</sup> Medias con diferente letras son significativamente diferentes. Prueba LSD, P≤0.05.

### 4.3. Severidad

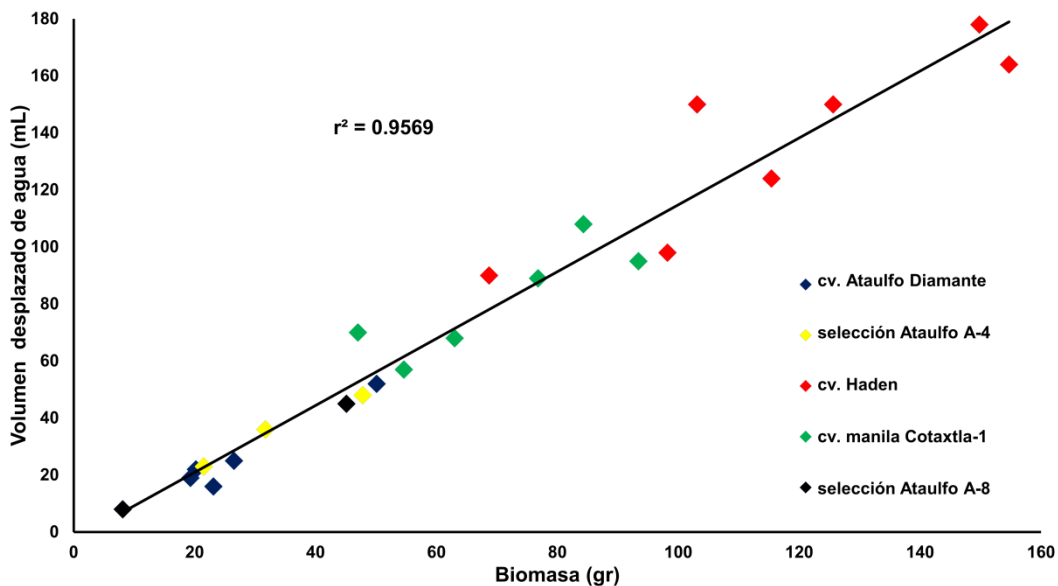
La escala diagramática con cuatro índices de daño permitió estimar la tolerancia varietal a la enfermedad en estudio. Haden y Cotaxtla-1 fueron los cultivares muy susceptibles (índice 4); mientras que Ataulfo (Ataulfo Diamante, selecciones A-4 y A-8) fueron tolerantes (índice 2). Esta condición fue corroborada por el desplazamiento volumétrico de agua (DVA) como estimador de severidad (LSD,  $P \leq 0.05$ ), por lo que la escala de severidad, complementada con el DVA, se propone como una herramienta basada en criterios cualitativos y cuantitativos, para estimar la tolerancia varietal a *Fusarium* spp.

La composición de la escala diagramática y su relación con el DVA para cada índice de daño se observa en la Figura 12, donde: 1=sano (asintomático), presencia de dominancia apical y ausencia de brotación lateral (Figura 12 A, B, C); 2=tolerante con deformación del ápice meristemático y primordios foliares prominentes o engrosados (Figura 12 D, E, F); 3=moderadamente susceptible con yemas axilares prominentes (abultadas o globosas), engrosamiento del ápice y proliferación moderada con presencia de uno a dos tallos que emergen del mismo punto (fasciculación) (Figura 12 G, H, I); 4=muy susceptible, pérdida de dominancia apical, entrenudos cortos, proliferación masiva (conglomerado de tejido o arrosetado) (Figura 12 J, K, L).

La regresión lineal entre la biomasa (peso fresco) y DVA (mL) en las unidades experimentales que presentaron síntomas de proliferación fue significativa ( $r=0.96$ ), lo cual indicó que cualquiera de estas variables puede utilizarse como indicador confiable para estimar la severidad. Con base en este modelo, los cv. Haden y Cotaxtla-1 presentaron mayor tejido dañado (Cuadro 6, Figura 13) y confirma la relación entre estas variables por Joseph (2002).

Índice de daño	Representación	Desplazamiento de agua (mL)
1	<p style="text-align: center;"><b>Sano (asintomático)</b></p> 	<b>0 a ≤10</b>
2	<p style="text-align: center;"><b>Tolerante</b></p> 	<b>&gt;10.1 - ≤35</b>
3	<p style="text-align: center;"><b>Moderadamente susceptible</b></p> 	<b>&gt;35.1 - ≤90</b>
4	<p style="text-align: center;"><b>Muy susceptible</b></p> 	<b>&gt;90.1 - ±180</b>

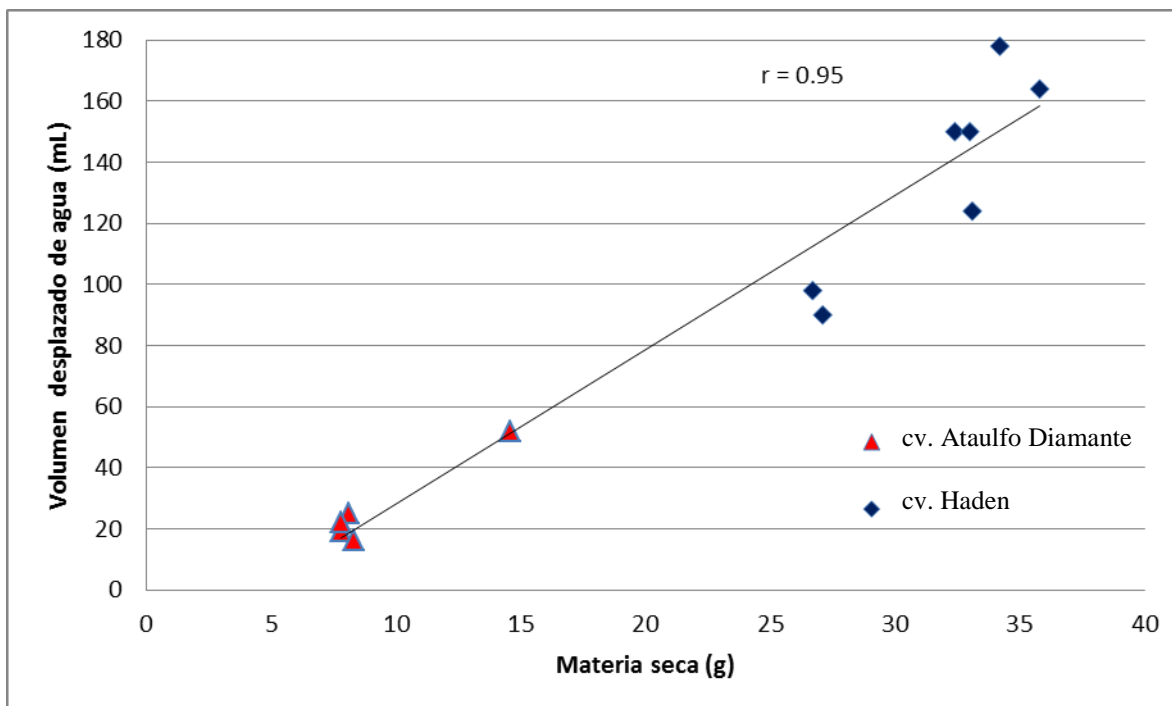
**Figura 12.** Escala diagramática de severidad para evaluación de la proliferación vegetativa (*Fusarium* spp.) del mango (*Mangifera indica* L.) y su correspondencia con el desplazamiento volumétrico de agua (mL). Sano (A, B, C); tolerante (D, E, F); moderadamente susceptible (G, H, I); muy susceptible (J, K, L).



**Figura 13.** Relación entre la biomasa y volumen desplazado de agua en plantas de mango (*Mangifera indica* L.) con síntomas experimentales de proliferación vegetativa (*Fusarium* spp.).

La estrecha relación de ambas variables con la severidad visual de las plantas inoculadas mostró la precisión de la escala diagramática utilizada (Cuadro 6 y Figura 12). El peso de materia seca también se ha utilizado como estimador de la producción de biomasa vegetal. En este estudio se observó que esta variable también presentó una relación significativa ( $r=0.95$ ) con el desplazamiento de agua. El peso de materia seca confirmó a los cultivares Haden y Ataulfo Diamante como el más susceptible y tolerante, respectivamente (Figura 14).





**Figura 14.** Relación entre la materia seca y volumen desplazado de agua en plantas de mango (*Mangifera indica* L.) con síntomas experimentales de proliferación vegetativa (*Fusarium* spp.) en los cvs. Haden y Ataulfo Diamante.

Esta investigación propone por primera vez una escala diagramática para estimación de severidad por proliferación en México (Figura 12); no obstante, debe ajustarse para su aplicación en otros países ya que la intensidad de la enfermedad puede variar según el cultivar en aspectos como porte, vigor de planta, susceptibilidad, fenología, entre otros. Escalas visuales cualitativas para la estimación de severidad se han desarrollado en otros países: en Venezuela, Castellano y Guanipa (2004) sugirieron una escala de cuatro grados, en base a la longitud de la lesión (que fluctuó de 0.0 a >3.5 cm); mientras que, en Pakistán, Iqbal *et al.* (2006) propusieron una escala de cinco niveles basados en el tipo de síntomas, pero éstos fueron diferentes a los observados en la presente investigación.

En México no existen antecedentes relativos a la tolerancia de cultivares de mango a la PVF; no obstante, en India Rymbai y Rajes (2011) clasificaron a cultivares comerciales monoembriónicos (Dashaheri, Langra, Chausa, Malda y Safeda) y poliembriónicos (Carabao o manila, Peach, Cecil y Turpentine) como susceptibles. En este trabajo, los cvs. Haden (monoembriónico) y Cotaxtla-1 (poliembriónico) fueron más susceptibles a la proliferación. Estos investigadores también señalaron que no existen materiales resistentes (inmunes) a la enfermedad en estudio, como se ha documentado en India, Egipto (Kumar *et al.*, 1993), Venezuela (Castellano y Guanipa, 2004), Pakistán (Iqbal *et al.*, 2004) y Brasil (Posella *et al.*, 2007).

La resistencia a enfermedades en los cultivares de mango pueden estimarse mediante pruebas de patogenicidad, posteriormente, incluir los genotipos promisorios en programas de resistencia varietal (Ahmad *et al.*, 2005). En esta investigación, los materiales de Aaulfo presentaron menor incidencia y severidad, por lo que constituye el primer reporte que consigna su tolerancia a esta enfermedad. Es importante mencionar que el efecto similar (mayor tolerancia) de los materiales ensayados probablemente se deba a que provienen de una misma línea de progenitores en su programa de mejoramiento (SNICS, 2010). En contraste, el cv. Haden presentó mayor incidencia y severidad (70% y índice 4); lo cual confirmó con reportes previos realizados en Brasil, donde alcanzó una incidencia de 100% y severidad de 79.47% (Oliveira *et al.*, 2003) y Venezuela donde se reportó como altamente susceptible (Castellano y Guanipa, 2004).



#### 4.4. Caracterización cultural y morfométrica de aislamientos

La cepa combinada estuvo constituida de cinco aislamientos correspondientes a dos cepas de *F. subglutinans*, dos de *F. proliferatum* y uno *F. oxysporum*. Las colonias de *F. subglutinans* mostraron color morado y lila, con un crecimiento promedio de 3.75 cm/día; los microconidios fueron hialinos, sin septos, ovales y de 4.3-17.2 x 1.2-3.1  $\mu\text{m}$ ; los macroconidios presentaron forma falcada con 2-3 septos y de 41.1-60.1 x 1.8-3  $\mu\text{m}$ ; con mono y polifialides, pero sin clamidosporas. En *F. proliferatum* se observó pigmentación de color blanco-crema y blanco-lila, con desarrollo micelial de 3.75 cm/día, microconidios sin septos, piriformes, de 2.5-10.5 x 1.2-2.1  $\mu\text{m}$ ; macroconidios con forma ligeramente curvada de 3-5 septos y 19.8-38 x 1.0-2.4  $\mu\text{m}$ ; con mono y polifialides y clamidosporas ausentes. *F. oxysporum* tuvo crecimiento micelial promedio de 3.15 cm/día, con pigmentación de color blanco a morado, microconidios hialinos, sin septos, oval-elípticos de 5.1-11.5 x 2.2-3.4  $\mu\text{m}$ ; los macroconidios fueron ligeramente curvados, de 2-3 septos y 25.9-45.1 x 2.2-4.0  $\mu\text{m}$ ; con clamidosporas y monofialides (Cuadro 7).

Las características culturales y estructuras reproductivas asexuales en PDA de *F. subglutinans*, *F. proliferatum*, *F. oxysporum* coincidieron con las reportadas por Nelson *et al.* (1983) y Leslie y Summerell (2006); y sus registros morfométricos fueron concordantes con Zhan *et al.* (2010) (*F. proliferatum*), Martínez (2008) (*F. oxysporum*) y Marasas *et al.* (2006) (*F. subglutinans*).

**Cuadro 7.** Características morfológicas y culturales de la cepa combinada de aislamientos de *Fusarium* spp. colectados de brotes de mango (*Mangifera indica* L.) con proliferación vegetativa y floral en Guerrero y Michoacán, México.

Especie	Tipo de proliferación	Macroconidios			Microconidios			Fialides	Clamidosporas	Colonia en PDA	
		Forma	# de septos	Tamaño ( $\mu\text{m}$ )	Forma	# de septos	Tamaño ( $\mu\text{m}$ )			Color	Crecimiento medio diario (cm/día)
<i>F. subglutinans</i>	PV <sup>y</sup>	Falcada	2-3	44.1-59.8 x 1.8-3.4	Oval	0	4.3-16 x 1.5-2.9	Mono y polifialides	Ausentes	Morado	3.8
<i>F. proliferatum</i>	PV	Ligeramente curvados	3-5	20.1-37.4 x 1.2-2.4	Piriforme	0	2.9-10.0 x 1.2-2.0	Mono y polifialides	Ausentes	Blanco-Crema	3.8
<i>F. subglutinans</i>	PF <sup>z</sup>	Falcada	2-3	41.9-60.1 x 2.0-3.3	Oval	0	5.1-17.2 x 1.2-3.1	Mono y polifialides	Ausentes	Lila-Morado	3.7
<i>F. oxysporum</i>	PV	Ligeramente curvados	2-3	25.4-45.3 x 2.4-4.3	Oval-elípticos	0	5.2-11.7 x 2.5-3.4	Monofialide	Presentes	Morado	3.2
<i>F. proliferatum</i>	PF	Ligeramente curvados	3-5	19.8-38.0 x 1.0-2.3	Piriforme	0	2.5-10.5 x 1.2-2.1	Mono y polifialides	Ausentes	Blanco-Lila	3.7

<sup>y</sup> Proliferación Vegetativa

<sup>z</sup> Proliferación Floral

## 4.5. Histopatología

### 4.5.1. Anatomía de plantas sanas (*testigo negativo*)

No se observaron diferencias estructurales entre cortes transversales de las secciones basal, media y apical, en los cvs. Ataulfo Diamante y Haden. El tejido epidérmico estuvo formado por una capa uniestratificada de células alargadas y cutícula gruesa (Figuras 15 A y 16 B). El 20% de las células presentaron depósitos de color negro y rojo de posible naturaleza fenólica (Cuadro 8). En la corteza, constituida por varios estratos de células parenquimatosas poliédricas, se mostraron algunas células con plasmólisis y 31.6% de ellas contenían sustancias ergásticas de probable origen fenólico; además, se identificaron inclusiones cristalinas de forma rectangular (Figuras 15 A y 16 B). El sistema vascular estuvo compuesto por floema, xilema, células parenquimatosas y fibras (Figuras 15 B y 16 C); se detectaron células de parénquima con inclusiones cristalinas de forma irregular y células parenquimatosas plasmolizadas asociadas al xilema; el 9.3% de las células presentaron inclusiones de color rojo posiblemente asociadas a fenoles (Figura 16 C). En el tejido medular, 19% de las células evaluadas manifestaron depósito de fenoles (Figura 16 D) y 30% de las células del cuerpo del meristemo apical mostraron inclusiones fenólicas (Figura 16 A).

### 4.5.2. Anatomía de plantas enfermas

No se observaron alteraciones estructurales entre cultivares inoculados con *F. oxysporum*, a excepción de plasmólisis en algunas células parenquimatosas de corteza y xilema (Figura 15 G y K). Sin embargo, de 1300 células cuantificadas, correspondientes a los tejidos meristemático, epidérmico, cortical, vascular y medular, el cv. Ataulfo Diamante

exhibió la menor proporción de células (27.6%) con depósitos de naturaleza fenólica, respecto a Haden (65.7%) (LSD,  $P \leq 0.05$ ) (Cuadro 8) (Figura 15 E-L). Únicamente en el cv. Haden se observó micelio superficial del patógeno sobre el tejido epidérmico (Figura 15 I).

En contraste, en plantas inoculadas con cepa combinada de aislamientos de *Fusarium* spp., en el cv. Ataulfo Diamante no se presentaron alteraciones estructurales (Figura 16 E-H); mientras, que en cv. Haden se observó desorganización celular de los tejidos meristemático y vascular (Figura 16 I y K). El valor promedio de inclusiones fenólicas en los tejidos observados (meristemo, epidermis, corteza, sistema vascular y médula) fue de 74.6% en Haden y 40.5% en Ataulfo Diamante, valores superiores a los registrados en el testigo positivo (LSD,  $P \leq 0.05$ ) (Cuadro 8). En ambos cultivares, se presentó micelio de hongo sobre la cutícula del tejido epidérmico de los tallos y tejido meristemático (túnica) (Figura 16 E, F, I y J).

En los tejidos meristemático, epidérmico, cortical, vascular y medular de plantas inoculadas con *F. oxysporum* o combinación de aislamientos de *Fusarium* sp. no se encontraron signos del hongo, ni alteraciones estructurales, excepto plasmólisis en células parenquimatosas de corteza y xilema. Estos resultados contrastan la hiperplasia (en tejido meristemático, epidérmico, cortical y floema), hipertrofia (células de parenquimatosas, necrosis de la túnica y corteza) y desorganización celular (zona de meristemo, xilema) previamente reportados por Noriega (1996), Mora (2000), Chakrabarti (2011). El contenido de polifenoles fue variable y estadísticamente superior en cv. Haden (65.7 y 74.6%) respecto a Ataulfo Diamante (27.6 y 40.5%) (LSD,  $P \leq 0.05$ ).

Los signos del patógeno se observaron únicamente en la superficie de la cutícula del tallo y túnica del meristemo, lo cual coincide con lo reportado por Joseph (2002), Mora (2000) y Noriega (1996); sin embargo, Díaz (1979) y Kumar *et al.* (1993) documentaron que el hongo (*F. oxysporum*, *Fusarium* sp.) invadió inter e intracelularmente, en células de corteza y floema. La ausencia de *Fusarium* en el interior de los tejidos de la planta, sugiere la posibilidad de que algunos compuestos químicos como las malforminas pudieran estar involucrados directamente con el desarrollo de la enfermedad, sin la presencia masiva del hongo en el interior de los tejidos. De acuerdo con Kumar *et al.* (2011), las malforminas estimulan la producción de etileno, el cual a la vez causa desbalance hormonal e induce síntomas de malformación (proliferación). Adicionalmente, se ha demostrado que especies de *Fusarium* producen sustancias con actividad hormonal del tipo de las citocininas (Sutic y Sinclair, 1991; Noriega, 1996) y que la aplicación experimental de éstos reguladores en condiciones experimentales induce la proliferación de tejido (Sutic y Sinclair, 1991), como se ha documentado con *Fusarium mangiferae* (*F. subglutinans*) (Krishnan *et al.*, 2009).

La presencia de sustancias de posible naturaleza fenólica se ha documentado previamente en plantas de mango infectadas con *F. subglutinans* y con síntomas de PVF (Joseph, 2002; Mora, 2000; Noriega, 1996). En esta investigación las células del tejido meristemático presentaron más sustancias ergásticas de probable origen fenólico en el cv. Haden (100%) que en el cv. Ataulfo Diamante (80%) (LSD,  $P \leq 0.05$ ), aunque también se encontraron inclusiones de origen fenólico en los tejidos de epidermis, corteza, sistema vascular y médula de todos los tratamientos ensayados. Se ha documentado que los polifenoles son sustancias de defensa que se presentan en la planta antes y/o después de la inoculación o durante la patogénesis (Kushwaha y Narain, 2005); o bien, metabolitos

secundarios de naturaleza fenólica liberados por el patógeno y contribuye al establecimiento de la infección, como es el caso de *A. tenuissima* (Nutsugah *et al.*, 1994; citado por Fraire, 2008).

**Cuadro 8.** Depósito de sustancias ergásticas de posible naturaleza fenólica en tejidos vegetativos de los cvs. Ataulfo Diamante y Haden inoculados con *F. oxysporum* y cepa combinada de aislamientos de *Fusarium* spp. en Huamuxtitlán, Gro., México, (abril 2011).

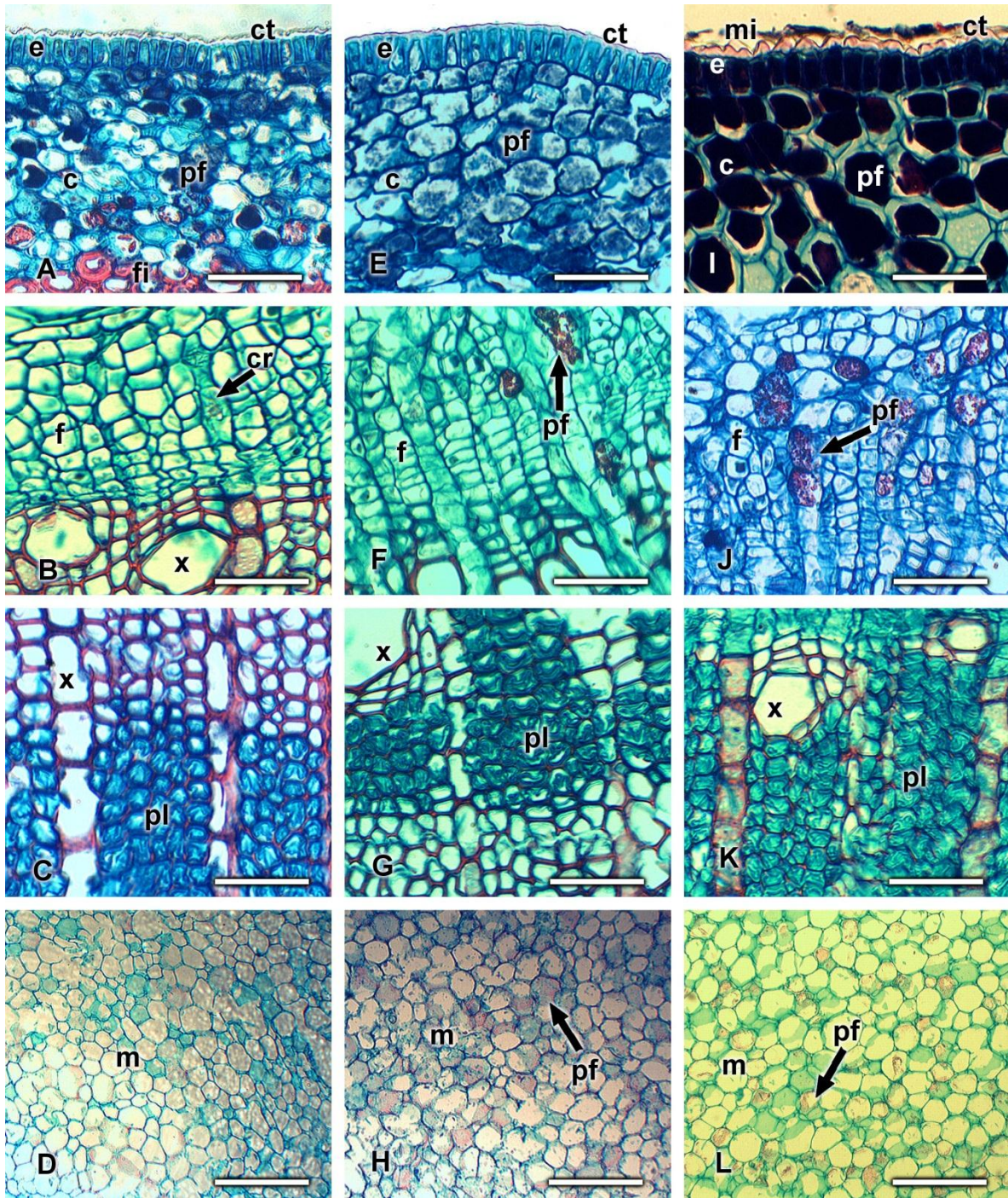
Cultivar	Tratamiento		Sección	Células con fenoles (%)				
		LSD <sup>y</sup>		<sup>x</sup> M	<sup>x</sup> E	<sup>x</sup> C	<sup>x</sup> SV	<sup>x</sup> Méd.
Ataulfo Diamante (tolerante)	Agua destilada estéril	19.6 c	Basal	<sup>-z</sup>	22	30	2	2
			Media	<sup>-z</sup>	28	40	4	2
			Apical	28	3	22	22	50
			<b>Total</b>	<b>28</b>	<b>53</b>	<b>92</b>	<b>28</b>	<b>54</b>
	<i>F. oxysporum</i>	27.6 b	Basal	<sup>-z</sup>	4	35	11	5
			Media	<sup>-z</sup>	5	42	12	3
			Apical	70	10	48	40	74
			<b>Total</b>	<b>70</b>	<b>19</b>	<b>125</b>	<b>63</b>	<b>82</b>
	Combinación de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp.	40.5 a	Basal	<sup>-z</sup>	6	43	9	5
			Media	<sup>-z</sup>	5	48	16	7
			Apical	80	80	68	80	80
			<b>Total</b>	<b>80</b>	<b>91</b>	<b>159</b>	<b>105</b>	<b>92</b>
Haden (susceptible)	Agua destilada estéril	21.9 c	Basal	<sup>-z</sup>	38	36	4	2
			Media	<sup>-z</sup>	26	34	6	2
			Apical	32	3	28	18	56
			<b>Total</b>	<b>32</b>	<b>67</b>	<b>98</b>	<b>28</b>	<b>60</b>
	<i>F. oxysporum</i>	65.7 b	Basal	<sup>-z</sup>	75	59	22	61
			Media	<sup>-z</sup>	80	61	25	55
			Apical	100	80	78	68	91
			<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>235</b>	<b>198</b>	<b>115</b>	<b>207</b>
	Combinación de aislamientos de <i>Fusarium</i> spp.	74.6 a	Basal	<sup>-z</sup>	81	72	24	57
			Media	<sup>-z</sup>	84	63	33	67
			Apical	100	93	100	100	96
			<b>Total</b>	<b>100</b>	<b>258</b>	<b>235</b>	<b>157</b>	<b>220</b>

<sup>x</sup>M= meristemo; E= epidermis; C= corteza; SV= sistema vascular; Méd.= médula

<sup>y</sup> Medias con diferente letras son significativamente diferentes. Prueba LSD, P≤0.05. [(Σ de Total/1300 células) \* 100].

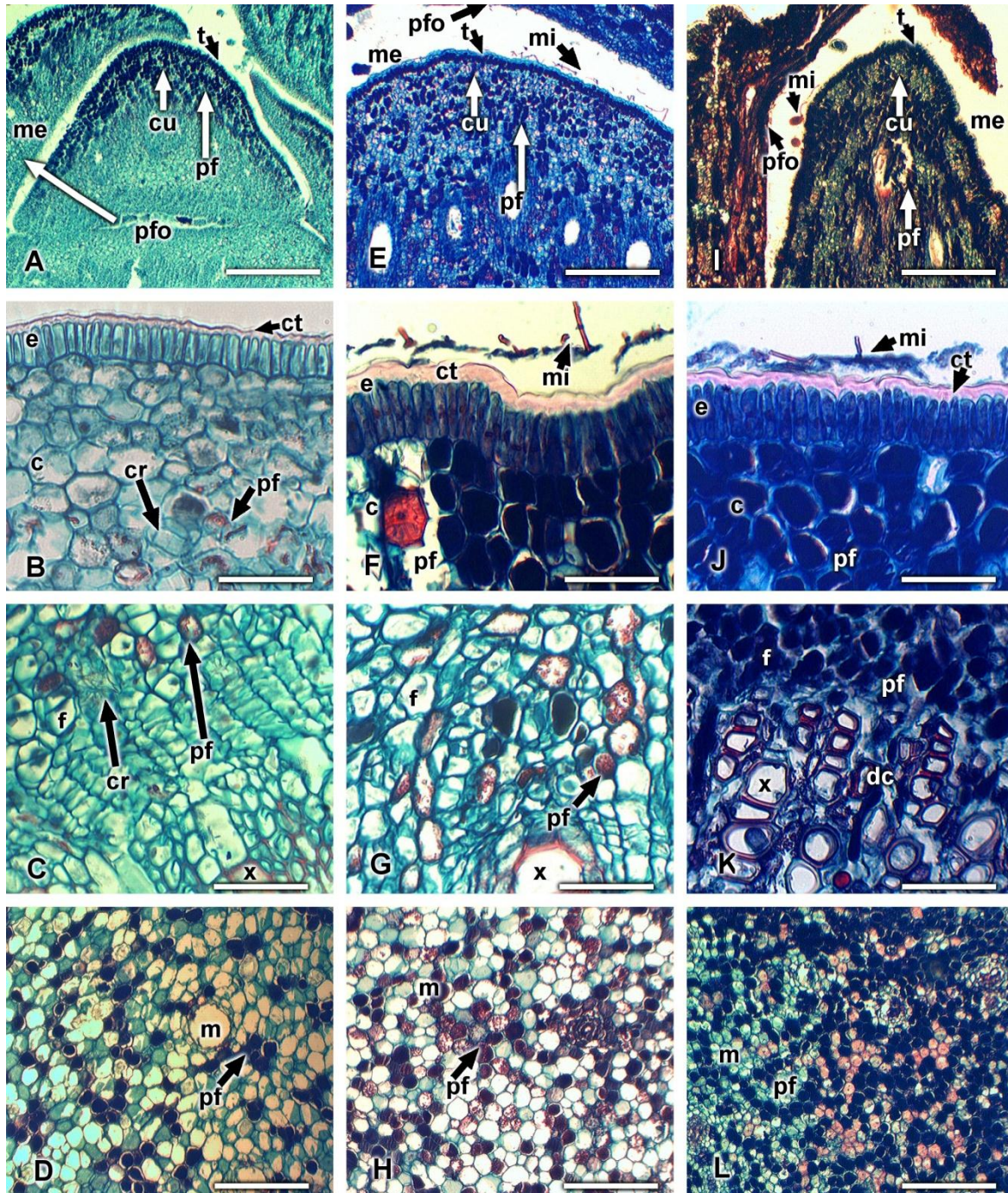
<sup>z</sup> Ausencia de tejido (estratificación de tallos, no en ápices vegetativos).





**Figura 15.** Micrografía de corte transversal de la porción basal de tallo de mango (*Mangifera indica* L.) inoculado con *F. oxysporum*. Tejido epidérmico (e), cortical (c), floema (f), xilema (x), médula (m), cutícula (ct), polifenoles (pf), fibras (fi), cristales (cr), plasmólisis (pl) y micelio (mi). Testigo negativo (A, B, C, D) y positivo (E, F, G, H) del cv. Ataulfo Diamante y cv. Haden (I, J, K, L). Barra = 50  $\mu$ m.





**Figura 16.** Micrografía de corte transversal de la porción apical en tallo de mango (*Mangifera indica* L.) inoculado con la combinación de aislamientos de *Fusarium* spp. Tejido meristemático (me), epidérmico (e), cortical (c), floema (f), xilema (x), médula (m), túnica (t), cuerpo (cu), primordios foliares (pfo), cutícula (ct), polifenoles (pf), desorganización celular (dc) y micelio (mi). Testigo negativo (A, B, C, D) y positivo (E, F, G, H) del cv. Ataulfo Diamante; cv. Haden (I, J, K, L). Barra = 50  $\mu$ m.



## V. CONCLUSIONES

El cv. Ataulfo Diamante y las selecciones Ataulfo A-4 y A-8 presentaron menor incidencia y severidad, mientras que, los cvs. Haden y Cotaxtla-1 mostraron más susceptibilidad.

La técnica de inoculación por infiltración de 200 000 conidios en 100  $\mu$ L de agua fue muy eficaz para reproducir los síntomas; y se confirma que *Fusarium oxysporum*, *F. subglutinans* y *F. proliferatum* son agentes causales de la proliferación vegetativa y floral del mango (*Mangifera indica* L.); además la combinación de estas especies indujo daños más severos.

La biomasa (peso fresco) del tejido enfermo y desplazamiento volumétrico de agua, tuvieron una relación significativa ( $r=0.96$ ), por lo que pueden incorporarse indistintamente como estimadores de severidad.

En plantas inoculadas con *F. oxysporum* o combinación de aislamientos de *Fusarium* spp. de los cultivares Ataulfo Diamante y Haden se registró plasmólisis en células parenquimatosas de corteza y xilema. En el cv. Haden inoculado con la combinación de aislamientos de *Fusarium* sp. se observó desorganización del meristemo y sistema vascular. El contenido de polifenoles fue superior en el cv. Haden (65.7 y 74.6%) respecto al cv. Ataulfo Diamante (27.6 y 40.5%).

En el cv. Haden, el micelio se limitó a la superficie de la cutícula del tallo y túnica del meristemo, cuando se inóculo la combinación de aislamientos de *Fusarium* spp.

## VI. RECOMENDACIONES

Disociar las especies de *Fusarium* spp., para conocer el efecto de cada una en cuanto a frecuencia, patogenicidad y desarrollo epidémico.

La escala de severidad se propone para evaluar el efecto de la enfermedad en mango, en México; sin embargo, debe ajustarse para su aplicación en otros países ya que la intensidad de la enfermedad puede variar según el cultivar (porte, vigor de la planta, susceptibilidad y fenología).

## VII. REFERENCIAS

- Ahmad, H.I., Akhtar, A.N., Ahmad, K.I., and Abdul, H.C. 2005. Evaluation of mango (*Mangifera indica* L.) germplasm against malformation. In: International conference on mango and date palm: Culture and export. Malik *et al.* (Eds). University of agriculture. Faisalabad. 73-78 p.
- Andrades, I., Yender, F., Labarca, J., Ulacio, D., Paredes, C., and Marín, Y. 2009. Evaluación de la antracnosis (*Colletotrichum* sp.) en guanábana (*Annona muricata* L.) tipo Gigante en el sector Moralito del estado Zulia, Venezuela. Revista UDO Agrícola. 9: 148 -157.
- Britz, H., Steenkamp, T.E., Coutinho, A.T., Wingfield, D.B., Marasas, W.F.O., and Wingfield, M.J. 2002. Two new species of *Fusarium* section *Liseola* associated with mango malformation. Mycologia. 94: 722-730.
- Castellanos, G., y Guanipa, N. 2004. Comportamiento de diez cultivares de mango (*Mangifera indica* L.) a la inoculación con *Fusarium decemcellulare* Brix. Revista de Facultad de Agronomía. 21: 200-206.
- Covarruvias, A.R. 1978. Deformación floral y vegetativa del mango. CEEIF.CONAFRUT. Xalapa, Veracruz. Folleto Técnico Núm. 44: 84
- Covarruvias, C.C. 1989. Pruebas de patogenicidad de *Fusarium* sp como agente causal de la “escoba de bruja” del mango *Mangifera indica* L. XVI Congreso Nacional de Fitopatología. 24-28 Julio. Montecillo, México. Pág. 36.
- Chakrabarti, D.K. 2011. Mango malformation. Ed. Springer Science. 148 p.

- Díaz, B.V. 1979. Etiología de la deformación o escoba de bruja del mango en el estado de Morelos. Tesis de Maestría. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Texcoco. México 46 p.
- FAO. 2012. Food and Agriculture Organization. Statistical Database Internet. Disponible en: <http://faostat.fao.org/default.aspx> (consulta octubre 2011).
- Financiera Rural. 2012. Monografía del mango. 7 p. <http://www.financierarural.gob.mx/informacionsectorrural/> (consulta enero 2012)
- Fraire, C. M.L. 2008. Calidad postcosecha del brócoli e histopatología de la respuesta varietal al mildiu *Hyaloperonospora parasítica*. Tesis doctoral. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Texcoco. México. 73 p.
- Freeman, S., Maimon, M., and Pinkas, Y. 1999. Use of GUS transformants of *Fusarium subglutinans* for determining etiology of mango malformation disease. *Phytopathology*. 89: 456-461.
- Galán, S.V. 1999. El cultivo de Mango. Ed. Mundi-Prensa. Madrid. España. 340 p.
- Google Earth® versión 6.1.0.5001 (consulta octubre 2011).
- Haggag, W.M., Hazza, M., Sehab, A., and El-Wahab, A.M. 2010. Scanning Electron Microcopy Studies on Mango Malformation. *Nature and Science*. 8: 122-127.
- Iqbal, Z., Saleem, A., and Dasti, A.A. 2004. Assessment of mango malformation in Eight Districts of Punjab (Pakistan). *International Journal of Agriculture and Biology*. 6: 620-623.
- Iqbal, Z., Rehman, M., Dasti, A.A., Saleem, A., and Zafar, Y. 2006. RAPD analysis of *Fusarium* isolates causing mango malformation disease in Pakistan. *World Journal Microbiology and Biotechnology*. 22: 1161-1167.

- Iqbal, Z., Pervez, M.A., Saleem, B.A., Ahmadi, S., Dasti, A.D., and Saleem, A. 2010. Potential of *Fusarium mangiferae* as an etiological agent of mango malformation. Pakistan Journal Botanical. 42: 409-415.
- Joseph P.L.D. 2002. Aplicación de fertilizantes foliares y silicio para incrementar el rendimiento y calidad del mango cv. Haden. Tesis doctoral. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Texcoco. México. 130 p.
- Joseph, P.L.D., Rodríguez, M.M.N., Sánchez, G.P., Mora, A.A., and Cárdenas, S.E. 2002. Foliar Fertilization of Mango (cv Haden) for the Control of Malformation. Acta Horticultrae (ISHS). 594: 667-673
- Kumar, J., Singh, U.S., and Beniwal, S.P.S. 1993. Mango malformation: one hundred years of research. Annual Review Phytopathology. 31: 217-232.
- Kumar, P., Misra, A.K., and Modi, D.R. 2011. Current status of mango malformation in India. Asian Journal of Plant Sciences. 10: 01-23.
- Krishnan, A.G., Nailwal, T.K, Shukla, A., and Pant, R.C. 2009. Mango (*Mangifera indica*. L) Malformation an Unsolved Mystery. Researcher. 1: 20-36.
- Kushwaha, K.P.S., and Narain U. 2005. Biochemical changes in pigeon-pea leaves infested with *Alternaria tenuissima*. Annals of Plant Protection Sciences.13: 415-417.
- Leslie, J.F., and Summerell, B.A. 2006. The Laboratory *Fusarium* Manual. Blackwell Publishing. Ames, Iowa, USA. 388 p.
- Lima, C.S., Monteiro J.H.A., Crespo, N.C., Costa, S.S., Leslie, J.F., and Pfenning, L.P. 2009. VCG and AFLP analyses identify the same groups in the casual agents of mango malformation in Brazil. European Journal Plant Pathology. 123: 17-26.

- López, C.L., Márquez, G.J., y Murguía, S.G. 2005. Técnicas para el estudio del desarrollo en angiospermas. Ed. Las Prensas de Ciencias. Facultad de Ciencias, UNAM. México. 178 p.
- López, E.M.E. 2008. El papel del ácaro *Aceria mangiferae* (Sayed) en la deformación del mango o "escoba de bruja". Tesis doctoral. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Texcoco. México. 78 p.
- Marasas, W.F.O., Ploetz, R.C., Wingfield, M.J., Wingfield, B.D., and Steenkamp, E.T. 2006. Mango Malformation Disease and the Associated *Fusarium* Species. *Phytopathology*. 96: 667-672.
- Martínez, F.E. 2008. Hongos patógenos del cultivo de clavel (*Dianthus caryophyllus* L.) en el estado de Morelos, México. *Investigación Agropecuaria*. 5: 1-8.
- Mosqueda, V.R., De los Santos, R.F., Becerra, E.N., Cabrera, M.H., Ortega, Z.D.A. y Del Angel, P.A.L. 1996. Manual para cultivar mango en la Planicie costera del Golfo de México. INIFAP. CIRGOC. Campo experimental Cotaxtla. Folleto Técnico Núm. 15, 130 p.
- Mora, A.J.A. 2000. Patogénesis y epidemiología de la "escoba de bruja" [*Fusarium subglutinans* (Wollemweb & Reinking) y *F. oxysporum* (Schlecht)] del mango (*Mangifera indica* L.) en Michoacán, México. Tesis doctoral. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Texcoco. México. 107 p.
- Mora, A.A., Téliz, O.D., Mora, A.G., Sánchez, G.P., Javier, M.J., 2003. Progreso Temporal de "escoba de bruja" (*Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*) en huertos de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden en Michoacán, México. *Revista Mexicana de Fitopatología*. 21: 1-12.

- Morales, E., y Rodríguez, H. 1961. Breves anotaciones sobre una nueva plaga en árboles de mango. México. Fitófilo. 1: 7-11.
- Morales, V., y Rodríguez, M. 2006. Hongos endófitos en plantaciones de mango “Haden” de la Planicie de Maracaibo. Revista de Facultad de Agronomía (LUZ). 23: 273-284.
- Nelson, P.E., Tousson, T.A., and Marasas, W.F.O. 1983. *Fusarium* species: an illustrated manual for identification. The Penn. State University Press, University Park. USA. 123 p.
- Noriega, C.D. 1996. “Escoba de bruja” del Mango, Etiología, Histopatología, Epidemiología y manejo integrado. Tesis doctoral. Colegio de Posgraduados. Montecillos, Texcoco. México. 72 p.
- Noriega, C.D., Téliz D., Mora, A.G., Rodríguez, A.J., Zavaleta, M.E., Otero, C.G., and Lee, C.C. 1999. Epidemiology of mango malformation in Guerrero, México, with traditional and integrated management. Plant Disease. 83: 223-228.
- Nutsugah S.K., Kohmoto K., Otani H., Kodoma M., and Sunkerwari R. R. 1994. Production of a host-specific toxin by germinating spores of *Alternaria tenuissima* causing leaf spot of pigeon pea. Journal Phytopathology. 140: 19-30.
- Olivas E.E. 1979. Determinación del agente causal de la deformación floral y vegetativa del mango. Fruticultura Veracruzana. 1: 1-10
- Oliveira, D.N., Rodrigues, V.M.T., Eloy, V.A., Hojo, R.T.N., Rebouças, S.J.A., Castellani, B.M.A., Pereira, B.M., e Lopes, R.A.E. 2003. Incidência e severidade da malformação floral em seis cultivares de mangueira. Revista Brasileira Fruticultura, Jaboticabal-SP. 25: 179-180.
- Otero, C.G., Rodríguez, A.G., Fernández, P.S., Maymon, M., Ploetz, R.C., Aoki, T., O'Donnell, K., and Freeman, S. 2010. Identification and Characterization of a Novel

- Etiological Agent of Mango Malformation Disease in Mexico, *Fusarium mexicanum* sp. nov. *Phytopathology*. 100: 1176-1184.
- Pinkas, Y., and Gazit, S. 1992. Mango malformation-control strategies. In 4<sup>th</sup> Int. Mango Symposium. Miami. 133 p. (Abstr.) p. 22.
- Ploetz, R.C., and Gregory, N. 1993. Mango malformation in Florida: Distribution of *Fusarium subglutinans* in affected trees, and relationships within and among strains from different orchards. *Acta Horticulturae*. 341: 388-394.
- Ploetz, R., Zheng, Q. I., Vazquez, Á., and Sattar, M. A. Abdel. 2002. Current status and impact of mango malformation in Egypt. *International Journal of Pest Management*. 48: 279-285
- Posella, Z.R., Carlos, D.L., Macedo, L.E.G., e Perecin, D. 2007. Comportamento de cultivares de manga (*Mangifera indica* L.) em relacao a malformacao. *Revista Brasileira Fruticultura*, Jaboticabal-SP. 29: 115-119.
- Ram, S. 1991. Horticultural aspects of mango malformation. *Acta Horticulturae*. 291: 235-252.
- Rymbai, H., and Rajesh, A.M. 2011. Mango Malformation: A Review. *Life Sciences Leaflets*. 22: 1079 – 1095.
- SAS. 2002. Statistical Analysis System, version 9.0<sup>®</sup> TS MO, SAS Institute Inc.
- SNICS. 2010. Catálogo Nacional de Variedades Vegetales. Ed. SAGARPA, No. 3, 34 p.
- SIAP. 2012. Servicio de Información Agroalimentaria y Pesquera. Disponible en: <http://siap.sagarpa.gob.mx>. (consulta febrero 2012).
- Steenkamp, E., Britz, H., Coutinho, T., Wingfield, B., Marasas, W., and Wingfield, M. 2000. Molecular characterization of *Fusarium subglutinans* associated with mango malformation. *Molecular Plant Pathology*. 1: 187–193.



- Summanwar, A.S., Raychaudhuri, S.P., and Phatak, S.C. 1966. Association of the fungus *Fusarium moniliforme* Sheld. with the malformation in mango (*Mangifera indica* L.) Indian Phytopathology. 19: 227-228.
- Sutic, D.D. and Sinclair J.B. 1991. Anatomy and physiology of diseased plants. Boca Raton: C.R.C. Press. USA. 232 p.
- Vega, P.A., y Miranda, S.M.A. 1993. Distribución, incidencia y severidad de la escoba de bruja del mango (*Mangifera indica* L.) en el Valle de Apatzingán, Michoacán. Revista Mexicana de Fitopatología. 11: 1-4.
- Villanueva, R., Cárdenas, E., Hernández, A., Mora, A., y Téliz, D. 2006. Patogénesis de la antracnosis (*Colletotrichum fragariae*) en frutos de chirimoya. Revista Agrociencia. 40: 773-782.
- Villegas, M.A., y Mora A.J.A., 2008. Propagación vegetativa del zapote mamey El zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq) H.E. Moore y Stearn) en México. En: El zapote mamey en México: Avances de investigación. Alia T.I., Villegas M.A., López M.V., Andrade R.M., Acosta D.C.M., Villegas T.O.G., Guillen S.D., (Eds). Universidad Autónoma del Estado de Morelos, México. 184p.
- Zhan, R.L., Yang, S.J., Ho, H.H., Liu, F., Zhao, Y.L., Chang, J.M., and He, Y.B. 2010. Mango Malformation Disease in South China Caused by *Fusarium proliferatum*. Journal Phytopathology. 158: 721-725.
- Zheng, Q., and Ploetz, R. 2002. Genetic diversity in the mango malformation pathogen and development of a PCR assay. Plant Pathology. 51: 208-216.