

00381

28



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MEXICO

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ETIOLOGÍA, DISTRIBUCIÓN, DAÑOS Y  
MANEJO DE LA PUDRICIÓN BLANCA DEL  
MANZANO (*Malus pumila* Mill.) EN PUEBLA Y  
VERACRUZ, MEXICO

TESIS

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

DOCTOR EN CIENCIAS  
(BIOLOGÍA)

P R E S E N T A

CECILIO MENDOZA ZAMORA

MÉXICO, D.F. NOVIEMBRE, 2001



Universidad Nacional  
Autónoma de México

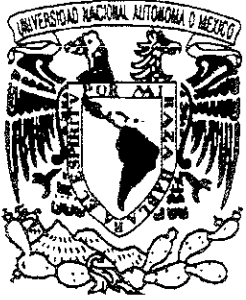


## **UNAM – Dirección General de Bibliotecas Tesis Digitales Restricciones de uso**

### **DERECHOS RESERVADOS © PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis está protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO

---

---

FACULTAD DE CIENCIAS

DIVISIÓN DE ESTUDIOS DE POSGRADO

ETIOLOGÍA, DISTRIBUCIÓN, DAÑOS Y  
MANEJO DE LA PUDRICIÓN BLANCA DEL  
MANZANO (*Malus pumila* Mill.) EN PUEBLA Y  
VERACRUZ, MEXICO

**T E S I S**

QUE PARA OBTENER EL GRADO ACADÉMICO DE

**DOCTOR EN CIENCIAS  
(BIOLOGÍA)**

**P R E S E N T A**

**CECILIO MENDOZA ZAMORA**

DIRECTOR DE TESIS: DR. HECTOR LOZOYA SALDAÑA

## **D e d i c a t o r i a**

**A MI MADRE: Sra. María Zamora Vda. de Mendoza, quien con su fortaleza y cariño ha inspirado mi superación.**

**A MIS HIJOS: Alberto y Angélica, por ser la alegría de mi vida, estímulo continuo para mi desarrollo y reto para nunca claudicar.**

**A MI ESPOSA: Bertha, por su apoyo y comprensión en todo momento.  
Gracias.**

**A MIS HERMANOS: por su amistad y apoyo incondicional.**

## **A g r a d e c i m i e n t o s**

**Al Departamento de Parasitología Agrícola de la Universidad Autónoma Chapingo, por brindarme todas las facilidades necesarias para realizar la presente investigación.**

**A los Doctores: Héctor Lozoya Saldaña, Evangelina Pérez Silva, Manuel Rosas Romero y Sebastián Romero Cova, por su asesoría y valiosos comentarios.**

**A los Doctores Nahum Marban Mendoza, Rodolfo de la Torre Almaraz y Dra. Herlinda M. Villegas por sus comentarios y sugerencias para mejorar el presente trabajo.**

**Al M.C. Ernesto Hernández Mendieta por su invaluable amistad y apoyo incondicional durante todo el desarrollo del trabajo en campo y laboratorio.**

**Al personal del Laboratorio de Micología y a los C. M.C. Antonio Segura Miranda y Enrique Flores Carnalla, quienes colaboraron estrechamente en algunos aspectos de esta investigación, así como a Rocío Vázquez Buendía por su ayuda en la captura del escrito.**

## CONTENIDO

	Página
ABSTRACT	1
RESUMEN	3
INTRODUCCION	5
CAPITULO I	
<b><i>Trametes versicolor</i> (L.:Fr.) Pilát causante de la pudrición blanca del manzano.</b>	13
Abstract	13
Resumen	14
Introducción	15
Materiales y métodos	16
Resultados y discusión	20
Literatura citada	28
CAPITULO II	
<b>Comportamiento y control <i>in vitro</i> de <i>Trametes versicolor</i> (L.: Fr.) Pilát</b>	34
Abstract	34
Resumen	35
Introducción	35
Materiales y métodos	37
Resultados y discusión	40
Literatura citada	47

## CAPITULO III

**Manejo integrado de la pudrición blanca del manzano  
(*Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilát)** 52

Abstract 52

Resumen 53

Introducción 54

Materiales y métodos 56

Resultados y discusión 58

Literatura citada 74

DISCUSIÓN GENERAL 80

CONCLUSIONES GENERALES 89

## ABSTRACT

In order to identify and to get acquainted with the apple white rot causal agent, the microorganism was isolated from stems, branches, roots and basidiocarps, and grown in potato dextrose agar (PDA) and malt agar (MA), followed by inoculation in young trees using several methods in greenhouse and over sterilized wood in the laboratory. On the basis of morphological characteristics of the basidiocarp, *in vitro* mycelial growth, external phenoloxidases production in MA, and spectrophotometry detection, the fungus was identified as *Trametes versicolor* (L.:Fr) Pilát. Disease symptoms included blisters, papery bark, white rot, decline and death of the whole tree. The disease was widely distributed in Zacatlán and Libres, Puebla, and in Huayacocotla, Veracruz, with incidences as high as 90% in orchards of 35 years and older with inappropriate handling.

*Trametes versicolor* grows well in oat agar (OA), PDA, and MA. It has better growth under continuous light than on alternating light/dark periods or than under continuous darkness. Ultraviolet light slightly stimulated fungal growth. The best pH range was 4.0 to 4.5. However, acceptable growth was also observed at pH 5.0 to 5.5. Optimum temperatures for mycelial development was at 30°C, although it was also acceptable between 20 and 35°C. The fungicides triadimenol, propiconazol, difenoconazol, and tebuconazol inhibited or totally prevented growth of the pathogen. All of them are systemic fungicides of the triazoles group. The mixture PCNB + thiram was also effective.



On the other hand, in order to quantify disease damage reduction several cultural practices were implemented, like solarization and/or pruning, as well as a soil amendment with alfalfa, manure, lime (calcium hydroxide) and fungicides for two consecutive production cycles. The combination of pruning and lime promoted a better growth of the trees, as long as the lime did not increase the soil pH above 7.0 Pruning and either triadimenol or PCNB and thiram induced similar good results. Pruning/solarization, or with alfalfa or with manure did not reduce the damage. However, the general aspect of the trees improved when the fungicide is apply to soil. The best combination was pruning/triadimenole fungicide, and as a second option was pruning/PCNB + thiram. Pruning/lime induced satisfactory results, although limited by the pH alteration mentioned

## RESUMEN

Con el fin de conocer al agente causal de la pudrición blanca del manzano, se hicieron aislamientos de tallos, ramas y raíces y basidiocarpos en papa dextrosa agar (PDA) y malta agar (MA). El organismo aislado se inoculó en árboles jóvenes por diversos métodos en invernadero y en el laboratorio sobre rodajas de madera esterilizada. Con base en las características morfológicas del basidiocarpo, crecimiento del micelio *in vitro*, producción externa de fenoloxidasas en MA y de su detección por espectrofotometría, se identificó al hongo *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát. Los síntomas de la enfermedad incluyeron ampollamientos, corteza papelosa, pudrición blanca y muerte de árboles. La enfermedad se encontró ampliamente distribuida en Zacatlán y Libres, Puebla y Huayacocotla, Veracruz con incidencias de hasta 90% en plantaciones mayores de 35 años de edad y con manejo deficiente.

Al evaluar diferentes factores *in vitro* se encontró que *Trametes versicolor* crece adecuadamente en avena-agar, PDA y MA; que se desarrolla mejor en luz continua que en alternancia de luz-obscuridad y obscuridad continua; que la luz ultravioleta estimula ligeramente el crecimiento del hongo y que el mejor rango de pH fluctúa entre 4 y 4.5, aunque se pudo obtener un buen crecimiento en pH de 5 a 5.5. La temperatura óptima para el desarrollo micelial fue de 30°C; sin embargo, el hongo creció bien a temperaturas de 20 a 35°C. Los fungicidas que inhibieron o evitaron totalmente el crecimiento de *T. versicolor* fueron: triadimenol, propiconazol, difenoconazol y tebuconazol, que son fungicidas sistémicos del grupo de los triazoles; también fue efectiva la mezcla de PCNB + thiram.

Por otra parte, con el fin de cuantificar la reducción del daño a árboles de manzano por *T. versicolor* (L.:Fr.) Pilát, se aplicaron diversos tratamientos que involucraron prácticas, solas o en combinación, de poda y solarización, así como la incorporación al suelo de alfalfa, estiércol, cal y fungicidas, y la combinación de algunos de estos, durante dos ciclos consecutivos de producción. La combinación de poda y cal promovieron un mejor desarrollo del árbol, siempre que la cantidad de cal no aumente el pH del suelo a más de 7.0. Con la poda y la aplicación del fungicida triadimenol o de PCNB + thiram se lograron resultados similares. La poda con solarización, alfalfa, o estiércol no redujeron los daños. No obstante, el aspecto del árbol mejoró cuando se adicionó el fungicida. La mejor combinación para este último objetivo fue podar y aplicar triadimenol, con una segunda opción de podar y agregar la mezcla PCNB + thiram. Podar y aplicar cal también dió resultados satisfactorios, aunque con la restricción mencionada.

## INTRODUCCION

El manzano en México ocupa el quinto lugar entre los frutales por volumen de fruta producida (INEGI, 1994). En Puebla, se cultiva el 12.6% de la superficie dedicada a este frutal a nivel nacional, pero su producción representa sólo el 4.7% del total. En este estado, las principales regiones productoras son Zacatlán con 3,680 ha y Libres con 2,486 ha, mientras que en Huayacocotla, Veracruz se cultivan 1,130 ha. En estas regiones la variedad principal es la "Rayada" Starking y los rendimientos promedio son de 4.6 ton/ha y de mala calidad. Tanto en estas regiones como en todo el país, el cultivo es afectado por diversos factores que limitan el rendimiento; entre éstos se encuentran los hongos, bacterias, nematodos y virus que atacan al cultivo en las diversas etapas de desarrollo y producción del mismo; de estas, son comunes las enfermedades bacterianas tales como *Erwinia amylovora* (Burrill) Winslow *et al*, pero destacan las enfermedades fungosas que, en algunas zonas como las mencionadas, son especialmente favorecidas por las condiciones climáticas. Las más comunes son de acuerdo a Mendoza (1993) la cenicilla (*Podosphaera leucotricha* (Ell & Ev) E S Salmon), la roña (*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.), los cánceres de ramas (*Nectria cinnabarina* (Tode) Fr y *Valsa* sp.), el mal de hilachas (*Corticium koleroga* (Cooke) Höhn) y diversas pudriciones de raíz y tallo, de algunas de las cuales aún se desconoce el agente causal. En las zonas productoras de Zacatlán y Libres, Puebla, así como en Huayacocotla, Veracruz, donde el manejo del frutal y las condiciones ambientales son similares, se ha observado una alta incidencia de árboles dañados con síntomas de: corteza papelosa y muerte regresiva de ramas, acompañadas por una pudrición blanca de la madera en ramas, tronco y raíces, que provoca la muerte de esas partes o de toda la planta, y con frecuencia en los tejidos muertos se han observado basidiocarpos de un hongo que por sus

características morfológicas y síntomas se ha ubicado en el género *Polyporus* (*Trametes* = *Coriolus*). Sin embargo, *a priori* por algunos síntomas, se ha confundido con daños de *Rosellinia necatrix* Prill. y *Armillaria mellea* (Vahl) Kummer, y se ha supuesto que los basidiocarpos de *Trametes* solo se desarrollan en la madera muerta, después del ataque de los patógenos mencionados o de otros, considerando así que *Trametes versicolor* no es el patógeno primario. Sin embargo, varios autores (Kile, 1976; Covey *et al.* 1981; Dilley & Covey, 1981; Bergdahl & French, 1985 y Covey, 1990) han reportado síntomas similares, indicando que *Trametes versicolor* es la causa de la enfermedad y que, por lo tanto, es un patógeno primario, capaz de atacar árboles jóvenes y árboles maduros en pleno desarrollo.

Las pudriciones de la madera en árboles vivos son causadas principalmente por basidiomicetos (Boyce, 1961). Estas se dividen por el color en pudriciones café y blancas; tanto en las pudriciones blancas como en las café y tanto en madera dura como en suave, se presentan diversos procesos enzimáticos complejos provocados por los patógenos (Wayne, 1965). En la pudrición blanca, la hifa del hongo pasa directamente a través de la pared celular de una célula a otra, mientras que en la pudrición café la hifa pasa a través de las traqueídas; la posterior degradación de las paredes celulares generalmente es causada por la liberación y dispersión de enzimas extracelulares (Wayne, 1965). Los hongos que producen pudrición blanca remueven la lignina, hemicelulosa y la celulosa, mientras que los de la pudrición café solo la celulosa. Asimismo, los primeros descomponen la lignina de la lamela media, ocasionando que las células se separen por un material fibroso. En las pudriciones café en cambio, los hongos causantes de esta no descomponen lo suficiente a la lamela media para separar las células (Liese, 1970; Gilbertson, 1980; Manion, 1991).

En la descomposición de la lignina por parte de algunos hongos que producen pudrición blanca, se ha encontrado que al degradar este polímero se genera una excreción de fenoloxidasas. tal es el caso de *Trametes versicolor*. Muchos de los basidiomicetos que producen pudrición blanca generan fenol-oxidasas extra celulares detectables por la formación de color originado por la oxidación de productos fenólicos contenidos en el medio de cultivo; salvo algunas excepciones, las especies que generan dichas enzimas son hongos que causan este síntoma, los cuales descomponen la lignina, celulosa y otros constituyentes de la madera; en contraste, los hongos que originan pudrición café no producen fenol-oxidasas extracelulares y no reducen apreciablemente el contenido de lignina en la madera, pero si degradan la celulosa (Kirk & Kelman, 1965).

De acuerdo a Szklarz *et al* (1989) los hongos que viven en madera muerta o viva y que causan pudrición blanca (basidiomicetos) son los únicos microorganismos conocidos que degradan completamente la lignina y la celulosa; mientras que los causantes de las pudriciones cafés (basidiomicetos) degradan preferentemente a la celulosa. Por lo anterior, a *Trametes versicolor* se le puede encontrar tanto en madera viva como en madera muerta y si está en madera muerta puede estar asociado con otros hongos. Covey (1990) indica que en manzano varios himenomicetos provocan pudriciones de madera, incluyendo, pero no limitado a *Trametes versicolor* y *Chondrostereum purpureum*; y señala que estos son hongos oportunistas que penetran por heridas y que colonizan tejidos dañados mecánicamente o por heladas y que probablemente exista alguna condición en el árbol que les permita establecerse. En tejido vivo de manzano *C. pupureum* además de podrir la madera, provoca un plateado en las hojas debido a un efecto fisiológico, en el cual la epidermis se separa de las células de empalizada. La infección de *T. versicolor* también tiene un efecto fisiológico, además de la pudrición de la madera, provoca

una condición conocida como corteza papelosa. síntoma que se observa en las partes distales de las ramas. aquí la corteza exterior se separa de la interna dando una apariencia de ampollas en las ramas después. se originan ramas secundarias cerca de la parte afectada. y las ramas primarias muestran una muerte descendente.

Las pérdidas debidas a los hongos que provocan pudriciones de madera ocurren en un largo período y usualmente están asociadas con una pérdida de la integridad estructural de la madera, y en algunas especies de hongos están también asociados con una muerte descendente de ramas, como es el caso de *T. versicolor* (Covey, 1990).

*T. versicolor* ocurre principalmente en las zonas templadas del mundo como un saprófito en la albura de muchas angiospermas y ocasionalmente coníferas. Es un patógeno oportunista capaz de matar y colonizar la albura de árboles y arbustos estresados por falta de agua o heridas. Causa una pudrición blanca esponjosa y colapsa áreas del cambium, causando cánceres, ampollamientos y muerte descendente. Árboles y arbustos vivos en los cuales se ha reportado en Norteamérica incluyen al manzano, catalpa occidental, castaña china, laurel de California, lila, tila, maple y sauce (Sinclair *et al.*, 1987); asimismo, Farr *et al.* (1989) señalan que los hospedantes son especies de los géneros *Abies*, *Acer*, *Actinidia*, *Ailanthus*, *Albizia*, *Alnus*, *Arbutus*, *Betula*, *Calocedrus*, *Carpinus*, *Carya*, *Castanea*, *Castanopsis*, *Catalpa*, *Celtis*, *Cercis*, *Cercocarpus*, *Citrus*, *Cornus*, *Corylus*, *Crataegus*, *Cupressus*, *Diospyros*, *Eucalyptus*, *Fagus*, *Fraxinus*, *Ginkgo*, *Gleditsia*, *Hydrangea*, *Ilex*, *Juglans*, *Juniperus*, *Kalmia*, *Lagerstroemia*, *Larix*, *Ligustrum*, *Liquidambar*, *Liriodendron*, *Malus*, *Melia*, *Nyssa*, *Ostrya*, *Oxydendrum*, *Persea*, *Philadelphus*, *Photinia*, *Picea*, *Pinus*, *Platanus*, *Populus*, *Prunus*, *Pseudotsuga*, *Psidium*,

*Pyracantha, Pyrus, Quercus, Rhododendron, Rhus, Salix, Sambucus, Sassafras, Schinus, Sequoia, Sorbus, Syringa, Taxodium, Thuja, Tilia, Tsuga, Ulmus Umbellularia y Vitis*

Considerando que en diversas zonas manzaneras de México y especialmente en las regiones de Zacatlán y Libres en Puebla y Huayacocotla en Veracruz se han observado con frecuencia, síntomas que coinciden con los reportados por los autores anteriormente citados y que la enfermedad conocida como pudrición blanca del tallo, ramas y raíces del manzano se encuentra ampliamente distribuida en las regiones señaladas y su distribución va en aumento, provocando pérdidas considerables en plantaciones establecidas y en los replantes o en nuevas plantaciones, se realizó la presente investigación con el objetivo de: identificar al agente causal de la enfermedad y determinar su distribución e incidencia en tres regiones productoras de manzano cuyas condiciones climáticas son similares.

Por otra parte, una vez identificado el patógeno, se requiere conocer su comportamiento *in vitro*, ya que de tratarse de *Trametes versicolor*, éste no está bien determinado, y este conocimiento es necesario para seguir efectuando estudios de laboratorio tendientes a conocer mejor su fisiología y capacidad degradativa de la madera, y sobre todo para determinar si alguno de los factores estudiados *in vitro* pueden ser útiles para decidir sobre alguna medida de manejo de la enfermedad en campo. Por lo anterior, se diseñó la segunda parte de la investigación con el objetivo de: conocer el comportamiento *in vitro* del patógeno, identificando las condiciones óptimas de desarrollo en diferentes medios de cultivo, temperaturas, regímenes de luz y pH, y evaluar fungicidas de diversos grupos químicos para el control *in vitro* y definir cual de estos factores pueden ser empleados en campo para reducir los daños.



En general, no se conocen métodos de control específicos para *Trametes* sp en manzano, ya que una vez que ha penetrado es difícil su erradicación y con una sola medida es difícil eliminarlo. Asimismo, se desconocen cuales son los factores que predisponen la aparición y desarrollo de la enfermedad. Por estas razones, se decidió realizar un ensayo de manejo integral del problema con el objetivo de identificar las medidas que reduzcan los efectos de algunos de los factores involucrados en la enfermedad.

De la presente investigación surgieron tres trabajos, los cuales están preparados como artículos, conforme a las normas establecidas por la Revista Mexicana de Micología, por lo que cada capítulo de esta tesis es un artículo.

#### LITERATURA CITADA.

Bergdahal, D.R., D.W. French, 1985. Association of wood decay fungi with decline and mortality of apple trees in Minnesota. **Plant Dis.** 69:887-890.

Boyce, J.S., 1961. **Forest pathology.** McGraw-Hill, New York.

Covey, R.P., H.J. Larsen, T.J. Fitzgerald, M.A. Dilley, 1981. *Coriolus versicolor* infection of young apple trees in Washington State. **Plant Dis.** 65:280

Covey, R.P. Jr., 1990. Wood rots. In: Jones, A.L. and H.S. Aldwinckle (eds.), **Compendium of apple and pear diseases.** APS Press. St. Paul. Minnesota.

- Dilley, M.A., R.P. Covey Jr., 1981. Association of *Coriolus versicolor* with a dieback disease of apple trees in Washington state **Plant. Dis.** 65:77-78.
- Farr, D., G.F. Bills, G.P. Chamuris, A.Y. Rossman, 1989. **Fungi on plants and plant products in the United States.** APS Press, St. Paul, Minnesota.
- Gilbertson, R.L., 1980. Wood-rotting fungi of North America. **Mycologia** 72:1-49
- INEGI, 1994 **Análisis de la situación frutícola en México. VII Censo Agropecuario, 1991.**  
Edit IINEGI. Aguascalientes.
- Kirk, T.K., A. Kelman., 1965. Lignin degradation as related to the phenoloxidases of selected wood-decaying Basidiomycetes. **Phytopathology** 55: 739-745
- Kile, G.D., 1976. The effect of season of pruning and of time since pruning upon changes in apple sapwood and its susceptibility to invasion by *Trametes versicolor*. **Phytopathol.** Z87:231-240.
- Liese, W., 1970. Ultrastructural aspects of woody tissue desintegration. **Ann. Rev. Phytopathol.** 8:231-257
- Manion, P.D., 1991. **Tree disease concepts.** Prentice-Hall, New Jersey.

Mendoza Z.C., 1993. **Diagnóstico de enfermedades fungosas**. Depto de Parasitología Agrícola, UACH. Chapingo. México.

Sinclair. W.A., H.H. Lyon, W.T. Johnson, 1987. **Diseases of trees and Shrubs**. Cornell University Press.

Szklarz, G.D., R.K. Antibus, R.L. Sinsabaugh, A.E. Linkins, 1989. Production of phenol oxidases and peroxidases by wood-rotting fungi. **Mycologia** **81**: 234-240

Wayne, W.W., 1965. Fundamental characteristics of wood decay. **Forest products Journal** **15**: 255-259

## CAPITULO I

---

### *TRAMETES VERSICOLOR* (L.:FR.) PILÁT CAUSANTE DE LA PUDRICIÓN BLANCA DEL MANZANO

---

CECILIO MENDOZA ZAMORA<sup>1</sup>, HÉCTOR LOZOYA SALDAÑA<sup>2</sup>, MANUEL ROSAS ROMERO<sup>3</sup> &  
EVANGELINA PÉREZ SILVA<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Departamento de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo, Edo. de México.

<sup>2</sup>PICTIPAPA. Apartado Postal 2-2. Conjunto SEDAGRO; Metepec. Edo. de México 52142.

<sup>3</sup>Seminis Vegetable Seeds, Inc. 37437 State Highway 15, Woodland, CA. 95616.

<sup>4</sup>Laboratorio de Micología. Instituto de Biología. UNAM. A.P. 70-233. Coyoacán. 04510. México, D.F.

#### ABSTRACT

*TRAMETES VERSICOLOR* (L.:FR.) PILÁT CAUSAL AGENT OF APPLE TREES WHITE ROT. *Rev. Mex. Mic.* **15**: pp-pp (1999). The causal agent of apple white rot was isolated from stems, branches, roots and basidiocarps on potato-dextrose-agar and malt-agar culture media, and inoculated by various methods on young apple trees under greenhouse conditions and on sterilized wood sections under laboratory conditions. Based on the characteristics of the basidiocarps, mycelium growth *in vitro*, phenoloxidase production on malt-agar, and the absorbancy detection of these enzymes under the spectrophotometer, the fungus was identified as *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát. Disease symptoms included papery bark, white rot and death of trees. It was widely

distributed in Zacatlan and Libres. Puebla and in Huayacocotla. Veracruz with up to 90% incidence in orchards more than 35 years old with deficiently managed.

Key words: *Trametes versicolor*, white rot. incidence, phenoloxidasas, apple trees.

## RESUMEN

El agente causal de la pudrición blanca del manzano se aisló de tallos, ramas, raíces y basidiocarpos y fue cultivado en papa-dextrosa-agar y en malta-agar e inoculado por diversos métodos en invernadero a árboles jóvenes y en el laboratorio sobre rodajas de madera esterilizadas. Con base en las características del basidiocarpo, crecimiento del micelio *in vitro*, de la producción externa de fenoloxidasas en malta-agar y de su detección por espectrofotometría se identificó al hongo como *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát. Los síntomas de la enfermedad incluyeron corteza papelosa, pudrición blanca y muerte de los árboles. Se encontró ampliamente distribuida en Zacatlán y Libres, Puebla y Huayacocotla, Veracruz con incidencia de hasta 90% en plantaciones mayores de 35 años de edad y con manejo deficiente.

Palabras clave: *Trametes versicolor*, pudrición blanca, incidencia, fenoloxidasas, manzano.

## Introducción

Las zonas productoras de manzana del estado de Puebla representan el 12.6% de la superficie cultivada a nivel nacional, pero su producción promedio en 1991 representó sólo el 4.7% del total. (INEGI, 1994). En Puebla la principal región productora es Zacatlán, donde se cultivan 3.680 ha, seguida por la región de Libres donde la superficie está representada por 2,486 ha en promedio, principalmente de la variedad Rayada Starking. En estas regiones la producción es baja y de mala calidad debido a un manejo deficiente de el cultivo aunado a condiciones ambientales favorables para el desarrollo de diversas enfermedades.

En Zacatlán, Puebla y en Huayacocotla, Veracruz, los principales patógenos de las partes aéreas del manzano son: *Venturia inaequalis*, *Podosphaera leucotricha*, *Erwinia amylovora*, *Corticium koleroga*, *Nectria cinnabarina* y *Valsa* sp., entre otros (Mendoza, 1993; Jiménez, 1989). Sin embargo, desde hace algunos años, se han observado árboles con síntomas de corteza papelosa y muerte regresiva de ramas, acompañadas de una pudrición blanca de la madera en ramas, tronco y raíces, que provoca la muerte de estas partes o de toda la planta; con frecuencia en los tejidos muertos se observan basidiocarpos, que por sus características morfológicas puede considerarse como una especie del género *Trametes*.

Considerando que en diversas zonas manzaneras de México y especialmente en la región de Zacatlán y Libres, Puebla y Huayacocotla, Veracruz se han observado con frecuencia síntomas similares a los reportados por diversos autores (Wade, 1968; Darbyshire *et al.*, 1969; Kile, 1976; Dilley & Covey, 1980; Covey *et al.*, 1981; Dilley & Covey, 1981; Bergdahl & French, 1985; Covey, 1990) y que la enfermedad conocida como pudrición blanca de tallo y ramas del manzano

se encuentra ampliamente distribuida en las regiones señaladas y su incidencia y diseminación va en aumento provocando grandes pérdidas en plantaciones establecidas y en los replantes o plantaciones nuevas. se realizó la presente investigación con los objetivos de: 1. Identificar al agente causal de la pudrición blanca del manzano y 2. Determinar su distribución e incidencia en tres regiones productoras con condiciones climáticas similares.

## **Materiales y métodos**

**Zonas de estudio.** Este estudio se realizó en los municipios de Zacatlán y Libres en el estado de Puebla y Huayacocotla. Ver. Zacatlán está ubicado en la parte noroeste media del estado. entre los paralelos 19° 50' y 20° 18' de latitud norte y entre los meridianos 97° 55'y 98° 12', con una altitud de 2045 a 2200 m; el municipio de Libres se ubica a los 19° 30' de latitud norte y 97° 41' de longitud oeste. a una altitud de 2442 m. Huayacocotla, se localiza al noroeste del estado de Veracruz., región donde predominan dos climas, el templado subhúmedo en verano con temperatura media anual de 12 a 13°C y la precipitación media anual de 700 a 1500 mm, y el clima templado con temperatura media anual de 12 a 18°C y precipitación media anual de 1500 a 1800 mm (García. 1978).

**Recolecta y aislamiento.** Para determinar la etiología, se muestreó a partir de febrero de 1994 en forma dirigida árboles de la var. Rayada Starking de diferentes edades (de 3 a 35 años) en los sitios más representativos de las regiones. recolectándose ramas, tallos y raíces con síntomas, y de los basidiocarpos encontrados en los tejidos afectados. de donde se describió el avance de los síntomas en campo. El material recolectado se colocó en bolsas de polietileno para su traslado al Laboratorio de Micología del Depto. de Parasitología de la Universidad Autónoma Chapingo.

Los aislamientos se hicieron en papa-dextrosa-agar (PDA) y malta-agar (MA). Para tal fin se lavaron con agua las partes enfermas, se les eliminó la corteza y se cortaron trocitos de aproximadamente 0.5 x 1.0 cm. que se desinfectaron con hipoclorito de sodio al 1% (P.C.) y posteriormente se pasaron a agua destilada estéril para eliminar el exceso de hipoclorito; también se hicieron aislamientos directos a partir de las capas miceliales presentes bajo la corteza de tallos, ramas y raíces atacadas, así como de los basidiocarpos asociados con el síntoma. Además, se hicieron aislamientos del suelo cercano a las raíces dañadas, colocando partículas de suelo en agua-agar y en los medios de cultivo antes citados. Las cajas de Petri inoculadas con material para los aislamientos se incubaron en condiciones de luz y temperatura de laboratorio; las colonias de hongos que se desarrollaron se purificaron una semana después para eliminar contaminantes.

Por otra parte, se colocaron trozos de tallos, ramas y raíces dañadas en cámaras húmedas (charolas con algodón humedecido y cubiertas con polietileno transparente) para observar el crecimiento del hongo bajo esas condiciones. En invernadero, se introdujeron raíces, tallos y ramas infectadas en una caja de lamina de 40 X 70 X 40 cm y fueron semicubiertas con tierra esterilizada, la cual se humedeció cada ocho días para promover la formación de basidiocarpos.

Una vez que se obtuvieron los cultivos puros de los aislamientos *in vitro*, se compararon visualmente los cultivos provenientes de tallos, ramas, raíces, capas miceliales, suelo y basidiocarpos para determinar si había uniformidad, sobre todo con los provenientes de basidiocarpos. Posteriormente, se incrementó el inóculo para probar la patogenicidad de los aislamientos.



**Pruebas de patogenicidad.** Arbolitos de aproximadamente 1 año de edad de la var. Rayada Starking se inocularon de las siguientes maneras: a) se hizo una incisión en el tallo a una altura de 10 cm (en el portainjertos), después se colocó un trocito de PDA o MA con micelio, se humedeció la herida y se selló con parafilm; los arbolitos inoculados se mantuvieron en una cámara húmeda (80% H.R.) por ocho días; b) se realizó en el injerto una incisión a 50 cm del suelo y el resto del proceso fue igual al del método anterior; c) se hicieron heridas en cuello y raíz con una aguja de disección esterilizada y se inocularon con el medio de cultivo invadido por micelio del hongo licuado con 100 ml de agua por cada caja de petri. El inóculo se depositó en el suelo contenido en la bolsa donde se encontraba el árbol a inocular. se cubrió con una capa de tierra de 2 cm e inmediatamente se regó hasta saturar repitiéndose el riego cada 72 horas durante 9 días; d) se hizo una incisión en el portainjertos y en esa herida se colocó un trocito de basidiocarpo fresco de *Trametes* recolectado en campo, asociado con el síntoma de pudrición blanca y corteza papelosa; se cubrió la herida con parafilm y se mantuvo a una humedad relativa de aproximadamente 80% durante 8 días. Dos meses después de la inoculación, se describieron los síntomas que aparecieron en los árboles; e) de ramas de manzano de 9 cm de diámetro se cortaron rodajas de 3 cm de espesor, a las cuales se les hicieron unas perforaciones con un taladro de 9 mm de diámetro y 1.5 cm de profundidad. Posteriormente se esterilizó la madera en el autoclave y en los orificios se insertaron trocitos de 1.2 cm de largo por 7 mm de diámetro de una vara de madera de pino esterilizados, los cuales fueron colonizados previamente con el hongo en MA: después de inoculadas, las rodajas se mantuvieron en cámara húmeda por 1.5 meses en condiciones de laboratorio y una vez que se observó colonización de las rodajas se hicieron reaslamientos del hongo. En todos los casos se mantuvo un testigo sin inocular.

**Identificación.** Del micelio que se obtuvo *in vitro* se hicieron preparaciones permanentes para medir el diámetro de 50 hifas: también se hicieron cortes de los basidiocarpos para medir el diámetro y longitud de los poros (100 mediciones), se contabilizó el número de poros por mm<sup>2</sup> (en 50 conteos) y se midieron basidiocarpos provenientes de diferentes árboles y se consideró la morfología, consistencia y color de los mismos.

El hongo reaislado consistentemente de los aislamientos originales y de la madera inoculada, y que presentó un crecimiento blanco *in vitro*, se identificó con las claves de Nobles (1965) considerando la prueba de producción externa de oxidasas, las características del micelio y su crecimiento.

La especie del hongo también se identificó a través de la determinación de la acción enzimática de acuerdo al método de Davidson *et al.* (1938) basado en la producción externa de fenol-oxidasas, mediante la adición de ácido tánico (0.5% p/v) al medio MA. Otra prueba para determinar la especie fue por medio de espectrofotometría, utilizando los substratos 1-naftol a 6.4 mM, guayacol a 0.001 M y catecol a 40 mM y una solución amortiguadora de fosfato de sodio 0.1 M con pH de 5.5 y extractos centrifugados (2000 rpm por 5 min a 2°C) de crecimiento fungoso en MA proveniente de madera infectada (raíz, tallo, corteza y ramas), así como de suelo recolectado cerca de las raíces de las plantas con síntomas, de acuerdo a la metodología de Kirk y Kelman (1965). Como testigo se usó suelo no infestado y madera esterilizada y medio de cultivo MA sin inocular. La medición de la absorbancia para cada una de las 10 repeticiones en cada substrato, se hizo en un espectrofotómetro Varian Techtron® Mod. 635. Para guayacol y catecol se mezcló 1 ml de substrato con 1 ml de agua destilada estéril y a esto se adicionaron 3 ml de solución amortiguadora: enseguida, se agregó 1 ml de extracto. La absorbancia se midió a 465

nm para guayacol y a 395 nm para catecol. Para el caso del sustrato 1-naftol, se mezcló 1 ml con 4 ml de solución amortiguadora, agregándose 1 ml de extracto y la absorbancia se midió a 525 nm.

Los basidiocarpos asociados con la pudrición blanca y corteza papelosa, recolectados en campo y los producidos en invernadero provenientes de madera infectada se identificaron con las claves y descripciones de Fergus (1960), Gilbertson & Ryvarden (1987), Guzman (1977) y Ryvarden (1991) considerando tamaño y características morfológicas.

**Incidencia.** Para determinar la incidencia se muestrearon al azar en el municipio de Huayacocotla, Ver. seis huertos, en Libres, Pue. tres y en Zacatlán, Pue. seis, considerando la totalidad de árboles de algunas plantaciones con superficie pequeña, o el 20% del total de árboles de la plantación; se consideró en todos los casos árboles con síntomas iniciales (marchitamientos y presencia de pudrición blanca y corteza papelosa), síntomas avanzados (ramas muertas con síntomas típicos) y árboles muertos con presencia de basidiocarpos y/o síntomas de pudrición blanca y corteza papelosa. Para definir la distribución se recorrió gran parte del área manzanera y se reconoció la presencia de la enfermedad por los síntomas típicos que produce.

## **Resultados y discusión**

**Síntomas y aislamientos.** En la var. Rayada Starking el aspecto general de los árboles afectados es un amarillamiento parcial o total y follaje escaso, las hojas presentan decoloración y marchitez, contrastando notablemente con los árboles sanos. Posteriormente, se presentan defoliaciones y nuevas brotaciones foliares, las cuales son ligeramente más pequeñas, más

cloróticas y más escasas; después el árbol o la rama atacada muestra una muerte descendente hasta un secamiento completo. En la corteza de las ramas y tallos gruesos se observan pequeñas cuarteaduras longitudinales que al crecer provocan la formación de canchales, y permiten la observación de capas blancas de micelio. En ramas más delgadas, el síntoma inicia como un ampollamiento, que al levantar la capa exterior de la corteza se separa de la capa interior y deja ver abolsamientos o ampollamientos pequeños o grandes. Seguidamente, se rompe la corteza exterior o epidermis quedando levantada y enroscada hacia atrás. Este síntoma es conocido como corteza papelosa (Fig. 1a), y coincide con lo reportado por Covey (1990). Al levantarse la corteza, principalmente de tallos o ramas gruesas, se notan extensas capas de micelio blanco. Al disectar esas ramas se observa que la madera es de un color blanquecino o café muy claro, dependiendo del grado de desarrollo de la infección, hasta llegar a tener un color casi blanco (pudrición blanca) y de apariencia porosa. Estos síntomas de corteza papelosa, muerte descendente y pudrición blanca coinciden con las descripciones que hacen Dilley & Covey (1980 y 1981), Bergdahl & French (1985), Darbyshire *et al* (1969) y Covey *et al* (1981) para el hongo *Trametes versicolor*. (L.:Fr.) Pilát, cuyos sinónimos son *Coriolus versicolor* (L.:Fr) Quéll. y *Polyporus versicolor* L.:Fr.

Además, con frecuencia al disectar la madera, se observan líneas finas de color negro (Fig. 1b) que circundan o separan áreas blanquecinas de otras café claro o también blanquecinas, lo cual en un corte longitudinal da la apariencia de columnas de madera decolorada. De acuerdo con Williams *et al* (1981), *Polyporus versicolor* es la única especie de hongo que causa pudrición blanca que presenta dos grupos de compatibilidad (cepas dicarióticas y cepas monocarióticas). Estas cepas al encontrarse en un mismo trozo de madera, forman en el punto de contacto, líneas de color café-oscuro a negro de 1 mm de grosor, al no poderse mezclar las hifas.

debido a la generación de sustancias oxidativas no enzimáticas, causantes de depolimerización en la madera y que causan la inhibición del crecimiento micelial entre las cepas. Por esto y lo observado, se deduce que la misma rama o tronco puede ser infectado por dos cepas del hongo que, al encontrarse y por incompatibilidad entre ellas (antagonismo intraespecífico), forman las líneas negras típicamente producidas por *T. versicolor*, lo que también coincide con lo reportado por Rayner y Todd (1977), y es útil para diferenciar la especie cuando se da el caso de infecciones múltiples; lo cual también se observó al inocular trozos de madera (Fig. 2b).

Asimismo, bajo la corteza se pueden apreciar capas miceliales de color blanco intenso (Fig. 1c) y una vez que la rama o el árbol han muerto, y si existe suficiente humedad relativa, lo cual sucede en Zacatlán de agosto a septiembre, se forman externamente basidiocarpos en la corteza (Fig. 1d).

En las partes externas de las raíces dañadas se observan áreas café oscuro y bajo la corteza capas de micelio blanco. Dichas raíces, al igual que las partes aéreas atacadas, muestran deshidratación y pérdidas de peso, llegando a quedar completamente porosas (Fig. 1e) y si están expuestas se aprecia la formación de basidiocarpos (Fig. 1f) morfológicamente iguales a los producidos en la parte aérea.

De tallos, ramas y raíces con los síntomas descritos, y de capas de micelio y basidiocarpos se logró aislar en PDA y MA consistentemente a un hongo de micelio blanco afelpado, denso y aplanado, con fibulas y algunas clamidosporas, y por el reverso de la caja Petri mostró una coloración ligeramente amarillenta; este hongo, en condiciones de luz y temperatura de laboratorio, logra llenar la caja Petri entre 12 y 14 días. En ambos medios de cultivo el

crecimiento es abundante y similar. Para tener un crecimiento *in vitro* comparativo, se consideró el aislamiento obtenido de basidiocarpo y de las capas de micelio blanco, los cuales fueron idénticos, y al compararlos con los provenientes de tallos, ramas y raíces enfermas, todos presentaron las mismas características de crecimiento y color (Fig. 2a).

Del suelo también se aisló en agua-agar (AA) y se transfirió a MA obteniéndose también un hongo con las mismas características que mostraron los aislamientos de las partes aéreas y basidiocarpo, pero se aisló con menor frecuencia.

En cámaras húmedas, se desarrollaron capas de micelio blanco, del cual se aisló y se obtuvieron también colonias de color y densidad similar a las obtenidas en los aislamientos directos. En invernadero, de los trozos de madera dañada en campo, se lograron producir algunos basidiocarpos, en 42 a 48 días; de ellos se aisló una colonia fungosa de aspecto idéntico al obtenido y descrito anteriormente.

**Pruebas de patogenicidad.** Los síntomas de la enfermedad se reprodujeron introduciendo en una incisión de la corteza del árbol, un trozo de medio de cultivo con micelio del hongo a una altura de 10 y 30 cm (en el portainjerto e injerto respectivamente). Se presentó una defoliación a los dos meses, con nuevas y posteriores rebrotaciones menos abundantes, muerte descendente y pequeñas capas miceliales bajo la corteza a los 3 y 4 meses después de la inoculación. No se formaron basidiocarpos; sin embargo, se logró el reaislamiento, coincidiendo éste con las características del inóculo original.

La inoculación en rodajas de madera esterilizada produjo un crecimiento rápido del hongo con el característico color blanco (Fig. 2b); pero que tardó aproximadamente 45 días en cubrir todo el trozo de madera, de donde se aisló un hongo similar al inoculado y a los aislamientos originales provenientes de madera. micelio y basidiocarpo.

### **Identificación.**

**Morfología de los basidiocarpos.** Las características de los basidiocarpos recolectados en campo de árboles con síntomas típicos de pudrición blanca y corteza papelosa son las siguientes: en grupos, anuales, en forma de repisa, aplanados, semicirculares, sésiles, primero de consistencia blanda y flexible, algo brillantes. Posteriormente, se tornan coriáceos o leñosos; a veces ligeramente ondulados en sus márgenes que son más claros y más delgados; el grosor de los basidiocarpos es menor a 5 mm, con medidas promedio de 3.6 cm de ancho x 1.92 cm de alto, y con rangos extremos desde 1 a 6 cm de ancho x 1 a 3.5 cm de alto, lo cual coincide con lo reportado por Sepúlveda (1966), quien indica que el tamaño de los basidiocarpos es variable dependiendo de la estación del año, siendo más pequeños en verano y más grandes en otoño. Presentan abundantes poros en la superficie inferior, siendo primero de color blanco y posteriormente de amarillo a café claro (Fig. 2c); la superficie superior es aterciopelada, con zonas concéntricas de diversos colores, desde el grisáceo, gris-amarillento, gris-azuloso o verdoso, café rojizo o café anaranjado hasta el azul negruzco (Fig. 2d), descripción que coincide con la de Fergus (1960), Guzmán (1977), Gilbertson & Ryvardeen (1987) y Manion (1991) para el hongo *T. versicolor*. Este hongo presenta 5 poros por mm<sup>2</sup>, blancos, lisos, redondeados o ligeramente ovales (Fig. 2e, f) midiendo de 200 - 173 μm de diámetro, poros con una longitud de

850 µm en la parte media del esporocarpio y 600 µm en el tercio externo, insertados a diferentes niveles (Fergus, 1960). Las descripciones anteriores concuerdan con las de Sepúlveda (1966), Guzmán (1977) y Gilbertson & Ryvardeen (1987) y para el hongo *T. versicolor* (*P. versicolor* y *C. versicolor*). Con base en los síntomas y características de los basidiocarpos, el hongo asociado a la pudrición blanca del manzano en Zacatlán y Libres, Pue y Huayacocotla, Ver., se identifica como *Trametes versicolor* (L. Fr.) Pilát

**Morfología micelial y prueba de fenol-oxidasas** *T. versicolor* produce micelio blanco, afelpado, con ocasionales fibulas y a veces clamidosporas; sus hifas son de hialinas a blanquecinas y miden en promedio 3 µm de diámetro, presenta septos nudosos y ramas laterales cortas, sin formar estructuras reproductivas en el medio de cultivo. Características que coinciden con las reportadas por Nobles (1965) y Gilbertson & Ryvardeen (1987) para la misma especie, por lo cual se concluye que este patógeno es el causante de la pudrición blanca del manzano en Zacatlán y Libres, Pue. y Huayacocotla, Ver., aunque se desconocen las causas que predisponen a la enfermedad.

Para confirmar la identificación se determinó la producción de fenol-oxidasas de acuerdo al procedimiento de Davidson *et al.* (1938). La reacción fue positiva, presentándose una zona de difusión café obscura a rojiza obscuro (Fig. 2g) que se extendió a una corta distancia del margen del micelio; el crecimiento de la colonia a los siete días estuvo en el rango de 30-50 mm y se ubicó en el grupo 6 indicado por Davidson *et al.* (1938), corroborándose así la identificación de *T. versicolor*



**Absorbancia.** Se detectó la actividad de las enzimas fenoloxidasas variando el valor de la longitud de onda absorbida, obteniéndose los valores más altos con los extractos de medio de cultivo para los tres sustratos, seguido de los extractos de madera y de suelo (Cuadro 1), lo cual coincide con los valores de absorbancia dados por Kirk & Kelman (1965) para *C. versicolor*.

La variación en los valores de los extractos está determinada por la concentración de la enzima, la cual influye en la velocidad de la reacción con el sustrato, de ahí que dicha absorbancia se detecte en valores diferentes del espectro de luz visible. Es importante señalar que, la detección de una enzima está directamente relacionada con la especificidad del sustrato hacia ésta: las enzimas fenoloxidasas tienen la capacidad de oxidar fenoles simples y transformarlos a quinonas y los sustratos utilizados son compuestos fenólicos que tienen la capacidad de retención y activación de dichas enzimas (Pelczar *et al.*, 1994) de tal manera que, el catecol tiene mayor afinidad por retener más rápidamente al complejo enzimático (395 nm del espectro de luz visible) que el guayacol (465 nm) y que el 1-naftol (525 nm). Esto se explica por el hecho de que las fenoloxidasas presentan un grupo específico de oxidación del catecol, según lo indica Bendall & Gregory (1963).

**Incidencia.** La incidencia es muy variable. 0% en plantaciones jóvenes de 3-6 años, 15% en árboles de 10-12 años, 10% en árboles de 15-18 años, 22% en árboles de 25-30 años; mientras que para plantaciones de 20-25 años se encontró mayor variación según la región ya que en Libres, Pue. se encontró una incidencia de 50% mientras que en Huayacocotla, Ver. se detectó sólo 11.7%, ya que en este huerto se notaba un mejor manejo del cultivo. En general al incrementarse la edad aumenta la incidencia, de ahí que las incidencias mayores se observaron en árboles con edades superiores a los 35 años (Cuadro 2), lo cual concuerda con lo reportado por

Dilley & Covey (1980) quienes indican que la muerte regresiva en el Estado de Washington se presenta normalmente en árboles maduros. observando también que la mayor incidencia de árboles muertos ocurre a las edades de 20 a 25 años. Asimismo, Kile & Wade (1974) señalan que este tipo de enfermedad es típica de árboles maduros, pero Dilley & Covey (1981) señalan que también *T. versicolor* (*C. versicolor*) se ha asociado con muerte descendente de árboles jóvenes.

El detectar altas incidencias no indica que el daño sea más grave. ya que por ejemplo. se encontró que en el huerto 1 en Libres, Pue., había un 50% de incidencia. pero había sólo daños en ramitas terminales. lo que no representaba gran riesgo para la pérdida del árbol; también en la zona de Zacatlán, Pue.. en el huerto 2 se encontró una alta incidencia (85%), pero los daños oscilaron en un 10% del ramaje del árbol (Cuadro 2). Es posible que para la aparición de la enfermedad influyan las heridas causadas por la poda y por las labores de cultivo aplicadas, ya que, por lo general, estas no reciben tratamiento de protección, además están expuestos a la sequía, a una nutrición deficiente y a los cambios ambientales bruscos, tal y como lo sugieren Bergdahl & French (1985).

Además de las observaciones hechas para determinar la incidencia, se deduce que en las tres regiones manzaneras muestreadas la enfermedad está ampliamente distribuida y con incidencias variables que dependen de la edad del cultivo (Cuadro 2). del clima y del manejo de la plantación, aclarando que en estas tres regiones por lo general no se fertiliza el cultivo, se lleva a cabo un manejo muy deficiente, incluyendo malas podas o sin podas; no hay podas de saneamiento y en la mayoría de las plantaciones el manzano se asocia con otro cultivo, principalmente maíz, y bajo esa condición se maltrata el árbol y se genera otra condición de humedad ambiental en la plantación.

En general, de acuerdo a los resultados encontrados en este estudio y a los reportes de pudrición blanca, corteza papelosa y muerte de árboles de Australia y diversas zonas de los Estados Unidos se concluye que *T. versicolor* es el principal agente causal de la pudrición blanca del manzano en Zacatlán y Libres, Puebla y Huayacocotla, Veracruz, estando asociados también en menor grado con otras pudriciones causadas por *Dematophora* sp. y *Schizophyllum commune*, hongos detectados esporádicamente e identificados por morfología, lo cual indica que ciertos hongos que habitan en la madera podrida tal como *T. versicolor* son también parásitos agresivos en madera viva, ya que las inoculaciones realizadas en este estudio y en otras investigaciones así lo demuestran

#### **Literatura citada**

- Bendall, D.S., R.P.F. Gregory, 1963. Purification of phenol oxidases. In: J.B. Pridham (ed.). **Enzyme chemistry of phenolic compounds**. The McMillan Co., New York. p. 7-24.
- Bergdahl, D.R., D.W. French, 1985. Association of Wood decay fungi with decline and mortality of apple trees in Minnesota. **Plant Dis.** **69**:887-890.
- Covey, R.P., H.J. Larsen, T.J. Fitzgerald, M.A. Dilley, 1981. *Coriolus versicolor* infection of young apple trees in Washington State. **Plant Dis.** **65**:280.
- Covey, R. P. Jr., 1990. Wood Rots. In: Jones, A.L. and H.S. Aldwinckle (eds.), **Compendium of apple and pear diseases**. APS Press. St. Paul. Minnesota.
- Darbyshire, B., G.C. Wade, K.C. Marshall, 1969. *In vitro* studies of the role of nitrogen and sugars on the susceptibility of apple wood decay by *Tremetes versicolor* **Phytopathology.** **59**:98-102.

- Davidson, R W , W A Campbell, D J Blaisdell, 1938. Differentiation of wood-decaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium. **J. Agr. Res.** 57:683-695
- Dilley, M.A., R.P. Covey Jr . 1980 Survey of wood decay and associated hymenomycetes in control Washington apple orchards **Plant Dis.** 64:560-561
- Dilley, M.A., R.P. Covey Jr., 1981. Association of *Cortolus versicolor* with a dieback disease of apple trees in Washington State. **Plant Dis.** 65 77-78.
- Fergus, C.L , 1960. **Illustrated genera of wood Decay Fungi.** Burgess Publishing Co. Minneapolis.
- García, E., 1978 **Modificaciones al sistema de clasificación climática de Köppen.** Instituto de Geografía, UNAM. México, D F.
- Gilbertson, R.L., L. Ryvarde, 1987. **North American Polypores. Vol. 2. Fungi flora Grónlands Grafiske.** Oslo, Norway
- Guzmán, H.G., 1977. **Identificación de los hongos comestibles, venenosos, alucinantes y destructores de la madera.** Edit. Limusa, S A., México, D.F.
- INEGI., 1994. **Análisis de la situación frutícola en México. VII Censo Agropecuario, 1991.** Edit. INEGI Aguascalientes.
- Jiménez, F E , 1989. **Etiología de las enfermedades fungosas aéreas del manzano (*Malus communis* L.) en Huayacocotla, Ver.** Tesis Profesional UACH Chapingo, Méx
- Kirk, T.K., A. Kelman, 1965. Lignin degradation as related to the phenoloxidases of selected wood-decaying Basidiomycetes. **Phytopathology** 55:739-745
- Kile, G.D., G C Wade. 1974. *Trametes versicolor* on apple. I. Host-pathogen relationship **Phytopathol. Z.** 81:328-338.

- Kile, G.D. 1976. The effect of season of pruning and of time since pruning upon changes in apple sapwood and its susceptibility to invasion by *Trametes versicolor* **Phytopathol. Z** 87:231-240.
- Manion, P.D., 1991. **Tree disease concept**. Ed. Prentice. Hall. New Jersey.
- Mendoza, Z.C., 1993. **Diagnóstico de enfermedades fungosas**. Depto. de Parasitología. UACH. Chapingo, Méx.
- Nobles, M.K., 1965. Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. **Can. J. Bot.** 43:1097-1139.
- Pelczar, M.J., R.D Reid, E.C.S. Chan. 1994. **Microbiología**. McGraw-Hill de México. D F.
- Rayner, A.D.M., N.K. Todd, 1977. Intraespecific antagonism in natural population of wood-decaying basidiomycetes. **J. Gen. Microbiol.** 103:85-90.
- Ryvarden, L., 1991. **Genera of Polypores. Nomenclature and taxonomy**. Synopsis fungorum Grónlands Grafiske. Oslo, Norway.
- Sepúlveda, L.G., 1966. **Estudio preliminar sobre la familia Polyporaceae en algunas localidades de la Sierra Madre Oriental en Nuevo León**. Tesis profesional ITESM. Monterrey, N.L.
- Wade, S.C . 1968. The influence of mineral nutrition on the susceptibility of apple trees to infection by *Trametes versicolor*. **Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.** 8:436-439.
- Williams, E.N.D., N.K. Todd and A.D.M. Rayner. 1981. Spatial development of populations of *Coriolus versicolor*. **New Phytol.** 89:307-319.

Cuadro 1. Valores de absorbancia a diferentes longitudes para la detección de fenoloxidasas en diferentes sustratos

Sustrato y longitud de onda	Extracto de medio de		
	Extracto de madera	Cultivo	Extracto de suelo
Catecol (395 nm)	0.170	0.202	0.041
Guayacol (465 nm)	0.059	0.063	0.001
1-naftol (525 nm)	0.105	0.189	0.008

Cuadro 2. Incidencia de síntomas de pudrición blanca observada en 1994 y 1995 en los tres sitios de muestreo.

Localidad	fecha	Número de árboles muestreados	Edad (Años)	Arboles con síntomas	Incidencia (%)
<b>Huayacocotla, Ver.</b>					
Viborillas	Junio 1994	50	25-30	11	22.0
Viborillas	Junio 1994	167	30-35	45	26.9
Huayacocotla I	Junio 1994	145	20-25	17	11.7
Huayacocotla II	Junio 1994	25	30-35	10	40.0
Huayacocotla III	Junio 1994	54	>35	48	88.8
Carboneras	Junio 1994	50	3	0	0.0
<b>Zacatlán, Pue.</b>					
Ayehualulco	3 septiembre 94	80	30-35	70	87.5
<b>Libres, Pue.</b>					
Huerto 1	14 enero, 1995	128	20-25	64	50.0*
Huerto 2	14 enero, 1995	200	>35	180	90.0
Huerto 3	14 enero, 1995	100	5-6	0	0.0
<b>Zacatlan, Pue.</b>					
Huerto 1 (Escuadron 201)	26 enero, 1995	100	30-35	56	56.0
Huerto 2	26 enero 1995	20	>35	17	85.0**
Huerto 3	26 enero 1995	20	10-12	3	15.0
Huerto 4	26 enero 1995	20	>35	10	50.0
Huerto 5	25 enero 1995	12	15-18	2	10.0

\*Sólo en ramas terminales

\*\*Incidencia alta pero menor % de daño



Fig. 1. *Trametes versicolor*. (a) Síntomas de corteza papelosa. (b) Corte longitudinal de una rama, observándose líneas negras características de infecciones múltiples. (c) Capas de micelio blanco bajo la corteza (d) Grupo de basidiocarpos en formación en rama (e) Raíz porosa por ataque de *T. versicolor* (f) Basidiocarpos formados en raíz.

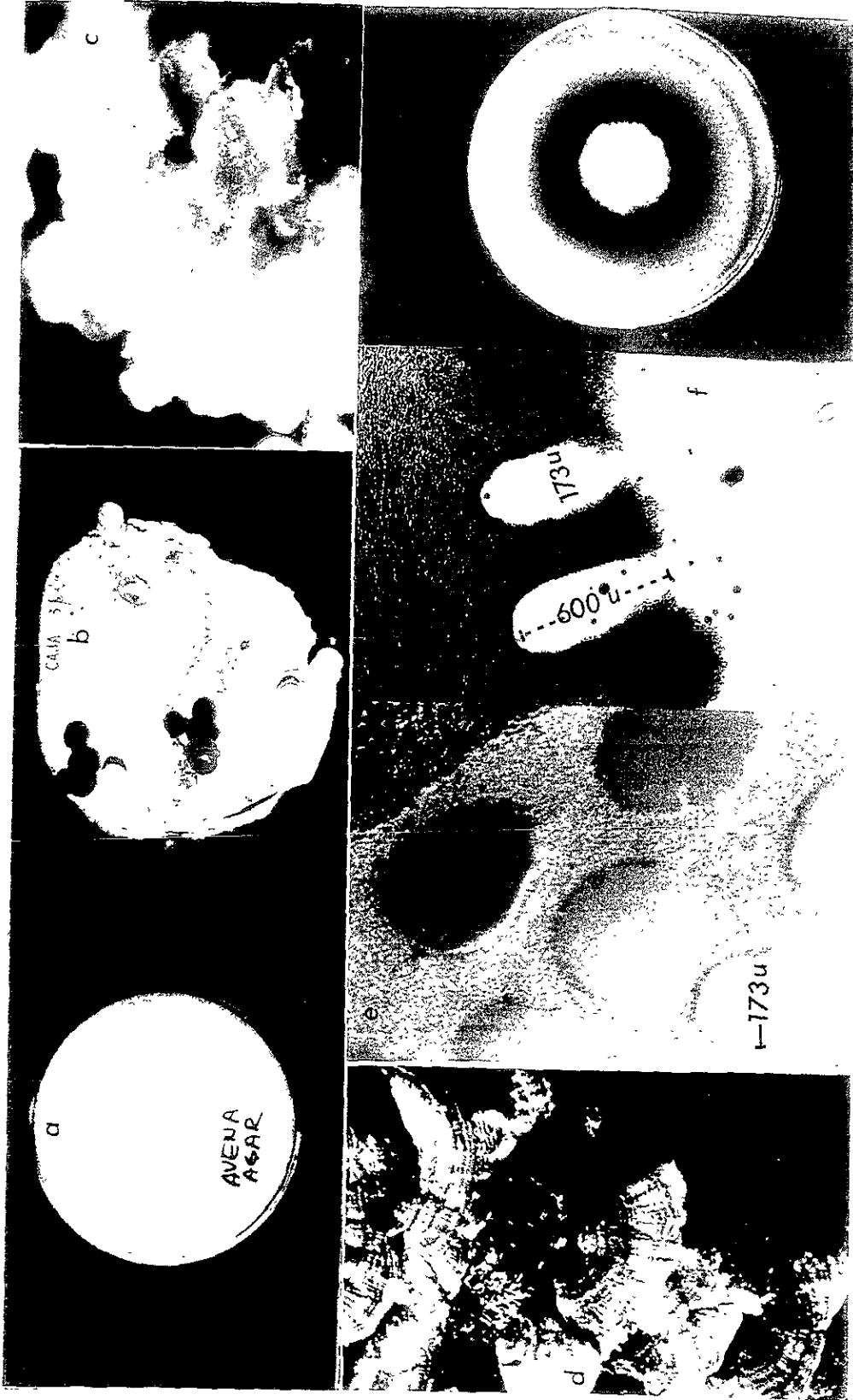


Fig. 2. *Trametes versicolor* (a) Crecimiento micelial blanco *in vitro* (b) Rodaja de madera inoculada con varias cepas del hongo (c) Superficie inferior del basidiocarpo mostrando numerosos poros y coloración blanquecina. (d) Superficie superior aterciopelada de basidiocarpos en una rama, mostrando zonas concéntricas de varios colores. (e) Dimensiones promedio de los poros redondeados u ovals. (f) Profundidad y diámetro de poros del basidiocarpo. (g) Prueba positiva de producción de fenol-oxidasas en medio de cultivo Malta-Agar



## CAPITULO II

---

### COMPORTAMIENTO Y CONTROL *IN VITRO* DE *TRAMETES VERSICOLOR* (L.:FR.) PILÁT

---

CECILIO MENDOZA-ZAMORA<sup>1</sup>, HÉCTOR LOZOYA-SALDAÑA<sup>2</sup>, EVANGELINA PÉREZ-SILVA<sup>3</sup>,  
MANUEL ROSAS-ROMERO<sup>4</sup> & SEBASTIÁN ROMERO-COVA<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Depto. de Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. 56230. Chapingo. México.

<sup>2</sup>PICTIPAPA. A.C. Metepec. Estado. de México. C.P. 52142. Apartado. Postal No. 2-2

<sup>3</sup>Laboratorio de Micología. Instituto de Biología de la U.N.A.M. Apartado Postal 70-233. Coyoacán. México, D F 04510

<sup>4</sup>Seminis Vegetable Seeds. Inc. 37437 State Highway 16, Woodland. CA. 95616

### ABSTRACT

BEHAVIOUR AND CONTROL *IN VITRO* OF *TRAMETES VERSICOLOR* (L.:FR.) PILÁT. *Rev. Mex. Mic.* **15: pp-pp (1999)**. *Trametes versicolor* grows well on oat-agar, potato-dextrose-agar, and malt-agar. It shows a better development in continuous light than in alternate light-darkness or continuous darkness. Ultraviolet light slightly stimulates fungal growth. The best pH range was 4 to 4.5, although good growth can be achieved at pH 5 to 5.5. Optimum temperature for mycelial development was 30°C; however, the fungus can grow from 20 to 35°C. Triadimenole, propiconazole, difenoconazole, and tebuconazole, all systemic triazolyl fungicides, inhibited or completely prevented fungal growth; likewise, the mixture of PCNB and Thiram was effective.

**Key words:** *Trametes versicolor*, behaviour, and control *in vitro*.

## RESUMEN

*Trametes versicolor* crece bien en avena-agar, papa dextrosa-agar y malta-agar: se desarrolla mejor en luz continua que en alternancia luz-obscuridad y obscuridad continua. La luz ultravioleta estimula ligeramente el crecimiento del hongo. El mejor rango de pH fue de 4 a 4.5, aunque se puede obtener un buen crecimiento de 5 a 5.5. La temperatura óptima para el desarrollo micelial fue de 30° C; sin embargo, el hongo puede crecer a temperaturas de 20 a 35°C. Los fungicidas que inhibieron o evitaron totalmente el crecimiento de *T. versicolor* fueron el triadimenol, propiconazol, difenoconazol y el tebuconazol, todos estos fungicidas sistémicos del grupo de los triazoles; de la misma manera, fue efectiva la mezcla de PCNB – Thiram.

**Palabra clave:** *Trametes versicolor*, comportamiento y control *in vitro*.

## Introducción

En México, recientemente se aisló en papa-dextrosa-agar (PDA) y malta-agar (MA) al agente causal de la pudrición blanca asociada con corteza papelosa y muerte de árboles de manzano. Con base en las características del micelio producido *in vitro* además de la morfología del basidiocarpo, se concluyó que el agente causal es *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát. Su distribución es muy amplia en Zacatlán, Puebla y Huayacocotla, Veracruz, con incidencias de hasta 90% en plantaciones mayores de 35 años de edad y con un manejo deficiente (Mendoza-Zamora *et al.*, 1999). Esto concuerda con lo previamente reportado en otros países (Dilley & Covey, 1980 y 1981; Darbyshire *et al.*, 1969; Kile, 1976; Wade, 1968; Covey *et al.*, 1981; Bergdahl & French, 1985).

No ha sido bien determinado el comportamiento *in vitro* de *Trametes versicolor*, lo cual facilitaría estudios posteriores. Sólo se ha reportado que el hongo se desarrolla en extracto de MA incubado a temperatura de laboratorio y en la obscuridad (Dilley & Covey, 1981). Por otra parte, Nobles (1948) sugirió un procedimiento uniforme para los aislamientos de himenomicetos en MA, y mantenerlos a temperatura de laboratorio en la obscuridad con propósitos de identificación; mientras que Liao (1990) reporta que *C. versicolor* crece bien en PDA entre 28 y 32°C bajo alternancia de luz y obscuridad. Covey *et al* (1981) utilizaron MA (Difco) y PDA, y lo incubaron por 10 días para luego hacer transferencias y posteriores inoculaciones de plantas de manzano en invernadero.

La temperatura es uno de los factores ambientales más importantes que influyen a los hongos que causan pudriciones de madera. Diversos autores (Wagener & Davidson, 1954; Cartwright & Findlay, 1958) han evaluado sus efectos y se conoce que las fluctuaciones de temperatura afectan el crecimiento y severidad de la enfermedad, ya que la temperatura interna del árbol responde a las fluctuaciones de la temperatura del aire, en la misma forma que las temperaturas del suelo (Jensen, 1969). Este mismo autor señala que las fluctuaciones de temperatura entre 3 - 6°C alrededor de la temperatura media de 21°C incrementan el crecimiento de cuatro hongos de la madera entre los que se encuentra *T. versicolor*, mientras que las fluctuaciones de  $\pm 11^\circ\text{C}$  limitan su desarrollo.

El presente trabajo tuvo como objetivo conocer el comportamiento *in vitro* de *T. versicolor*, identificar las condiciones óptimas de desarrollo respecto a diversos medios de cultivo, temperaturas, regímenes de luz y pH, y evaluar *in vitro* el efecto de fungicidas de diversos grupos químicos en el crecimiento del hongo, para determinar su aplicación potencial en campo.

## Materiales y métodos

Primeramente el hongo se aisló en PDA y MA de troncos, ramas, raíces, capas miceliales en la corteza de árboles de manzano y de basidiocarpos: se purificó reaislando trocitos del crecimiento *in vitro* en los mismos medios y una vez que se contó con suficiente inóculo, se realizaron las siguientes pruebas:

**1.a).-Evaluación de medios de cultivo y regímenes de luz.** En la primera evaluación se estudió el comportamiento del hongo en avena-agar (AVA), jugo de tomate-agar (JTA), PDA, MA, jugo V8-agar (V8A), extracto de levadura-agar (ELA) y agua-agar (AA), en obscuridad continua, luz fluorescente continua y alternancia de luz-obscuridad, a temperaturas de laboratorio ( $24^{\circ}\text{C} \pm 1$ ). Sólo en el caso de luz continua, no se evaluó el medio de avena-agar. Se colocó un disco de medio de cultivo de 6 mm con el crecimiento del hongo, en 10 cajas Petri (repeticiones) por cada tratamiento (medio y regímenes de luz), bajo un diseño completamente al azar. Se evaluó el diámetro del crecimiento de la colonia a las 24, 48, 72 horas y a los 7 días después de la siembra para el caso de luz continua y obscuridad continua. En el caso de alternancia de luz-obscuridad (condiciones de laboratorio), las evaluaciones se hicieron a las 72, 96 y 144 horas después de la inoculación. Los resultados de este experimento, así como los que se señalan a continuación, se analizaron con el paquete estadístico SAS® y la comparación de medias se realizó mediante la prueba de Tukey ( $\alpha=0.05$ ). Una vez determinados los medios donde creció mejor el hongo, se seleccionaron para los siguientes estudios.

**1.b).-Evaluación del efecto de la alternancia luz/obscuridad y luz ultravioleta.** Para comprobar los resultados del estudio anterior, respecto al efecto de la alternancia luz/obscuridad, se seleccionaron los medios PDA, JTA, V8A y MA los cuales fueron inoculados con el hongo como se mencionó previamente y se mantuvieron a temperatura de laboratorio ( $20^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ ). Se sometieron a un régimen de luz-obscuridad (condiciones de laboratorio) y luz ultravioleta; para este último, se realizó una exposición de una hora a luz UV con una lámpara Gelman a 254 nm y posteriormente las placas se mantuvieron bajo condiciones de alternancia de luz obscuridad. Todos los tratamientos tuvieron cuatro repeticiones, bajo un diseño completamente al azar. Se evaluó el diámetro de las colonias a las 24, 48, 72 y 144 horas después de inoculadas.

**2.- Evaluación del efecto del pH.** Para este experimento, se sembró el hongo en PDA. Los pH evaluados fueron: 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0, 6.5 y 7.1, los cuales se ajustaron con ácido láctico reactivo al 85%; estos tratamientos se mantuvieron a temperatura y alternancia luz-obscuridad de laboratorio. Se evaluó el diámetro de las colonias a las 24, 48 y 72 horas. El diseño experimental fue completamente al azar con cuatro repeticiones.

**3.- Evaluación del efecto de la temperatura.** En este caso se sembró el hongo también en PDA y las temperaturas estudiadas fueron: 0, 10, 20, 30, 35 y  $40^{\circ}\text{C}$  con una variación de  $\pm 1^{\circ}\text{C}$ . Los tratamientos se mantuvieron en condiciones de luz-obscuridad de laboratorio, y las temperaturas fueron proporcionadas en incubadoras o en refrigeración, según la temperatura deseada. Se evaluó el diámetro de las colonias a las 24, 48, 72 y 96 horas después de la inoculación. El diseño experimental fue completamente al azar con cuatro repeticiones.

4.- **Evaluación de fungicidas *in vitro*.** Se evaluaron 13 fungicidas de diversos grupos químicos (Cuadro 1) bajo el siguiente procedimiento: el hongo aislado de tejidos enfermos y/o basidiocarpos y previamente identificado, se propagó en PDA hasta que las colonias cubrieron las cajas Petri. Por otra parte, cada dosis del fungicida, previamente disuelto y homogeneizado en agua destilada esteril, se incorporó al medio de cultivo (PDA) en un matraz y se homogeneizó nuevamente; enseguida se vació a cajas de Petri. Una vez solidificado el medio, se transfirió en cada placa que contenía el fungicida respectivo, un disco de 6 mm de diámetro con el crecimiento del hongo, incubándose a 20 - 22°C, en condiciones de luz-obscuridad

El experimento se estableció bajo un diseño completamente al azar con cuatro repeticiones, evaluándose el diámetro de las colonias a las 24, 48, 72, 96, 120, 144 y 168 horas después de la transferencia. En este experimento también se calculó el porcentaje de eficacia con base en la fórmula de Abbott (1925).

Cuadro 1. Fungicidas evaluados *in vitro* para el control de *Trametes versicolor*.

Nombre comercial	Nombre común	Dosis ppm	Grupo
Interguzan®	PCNB + thiram	4,500	Nitrobenzenos clorinados <sup>c</sup> - ditiocarbamato <sup>c</sup>
Captan®	captan	2500	Dicarboximidazoles <sup>c</sup>
Tecto 60®	tiabendazol	900	Bencimidazoles <sup>s</sup>
Derosal®	carbendazim	1500	Bencimidazoles <sup>s</sup>
Benlate®	benomil	1500	Bencimidazoles <sup>s</sup>
Rovral®	iprodiona	1000	Dicarboximidazoles <sup>s</sup>
Shogun®	fluazinam	1500	Pyridinaminas <sup>c</sup>
Ridomil®	metalaxyl	750,000	Acilalaninas <sup>s</sup>
Maxim®	fludioxonil	480	Fenilpyrrol <sup>c</sup>
Bayfidan®	triadimenol	187.5	Triazoles <sup>s</sup>
Tilt®	propiconazol	187.5	Triazoles <sup>s</sup>
Dividend®	difenoconazol	350	Triazoles <sup>s</sup>
Folicur®	tebuconazol	187.5	Triazoles <sup>s</sup>
Testigo	-	-	-

S=Sistémico; C=Contacto

## Resultados y discusión

### Evaluación de medios de cultivo y regímenes de luz

**Efecto de la obscuridad continua en el crecimiento de *T. versicolor* en diferentes medios de cultivo.** Se detectaron diferencias estadísticas significativas en el crecimiento del hongo entre los diferentes medios de cultivo, específicamente en la evaluación de las 72 horas; el medio de cultivo en donde se presentó el mayor crecimiento fue JTA, y éste fue estadísticamente diferente a todos los otros medios. El segundo grupo de igualdad estadística lo conforman el PDA, el ELA y el AA (Fig 1).

A pesar de que en JTA las colonias del hongo presentaron un diámetro mayor, el crecimiento fue muy tenue y poco denso, mientras que en PDA, el crecimiento fue más compacto y vigoroso. Algunos autores (Dilley & Covey, 1981; Nobles, 1948) reportan que *C. versicolor* crece bien en condiciones de obscuridad continua en malta-agar; nuestros resultados demuestran que hasta las 72 horas el menor crecimiento se obtuvo en MA, aunque a los 7 días fue similar al obtenido en PDA, ELA, AA y AVA.

En ELA y AA se obtuvo un crecimiento radial considerable; sin embargo, el micelio fue poco denso, por lo que no se consideran como medios adecuados para *T. versicolor*.

A las 72 horas en MA se presentó un crecimiento reducido y denso. En V8A se obtiene un crecimiento reducido y poco denso; en AVA un crecimiento similar al de MA, aunque ligeramente más denso. En PDA, el crecimiento fue mayor en diámetro que en MA, V8A, y

AVA y más denso que en JTA. El mayor diámetro de las colonias se obtuvo en AA. ELA y JTA, pero el crecimiento fue tenue, por lo cual se descartan como opciones para producción de micelio en condiciones de obscuridad. Los mejores medios fueron PDA, MA y AVA (Fig. 1).

#### **Efecto de la luz continua en el crecimiento de *T. versicolor* en diferentes medios de cultivo.**

El análisis de varianza del diámetro de las colonias del hongo a las 24, 48, 72 horas y 7 días después de la inoculación indicó diferencias estadísticas significativas entre los tratamientos. Los medios de cultivo donde se obtuvieron los mayores diámetros de crecimiento a las 72 h fueron el JTA, ELA y MA (Fig. 1) los cuales de acuerdo a la prueba de Tukey son estadísticamente iguales; sin embargo, en JTA y ELA el crecimiento fue tenue y ralo; siendo esto más notable en ELA superando sólo al de AA. En PDA, aunque hasta las 72 horas el diámetro de las colonias no fue el mayor, el aspecto del crecimiento fue similar al que se presentó en MA; más denso y esponjoso, denotando un crecimiento abundante y con mayor cantidad de micelio.

En AA el crecimiento aéreo fue escaso, casi imperceptible, mientras que en V8A, se presentó un micelio moderadamente abundante, aunque con el menor crecimiento radial.

A los 7 días de desarrollo, en todos los medios con excepción del V8A, se obtuvo un crecimiento similar en diámetro, siendo estadísticamente similares el JTA, ELA, MA, PDA y AA; pero fue evidente que los crecimientos más compactos o más densos se obtuvieron en MA y en PDA, y en tercer término el JTA. En ELA y en AA se obtuvieron los crecimientos menos densos. De lo anterior se deduce que, bajo luz continua los medios de cultivo que favorecen más el crecimiento de *T. versicolor* son MA y PDA, lo cual coincide parcialmente, respecto al



medio, con lo reportado por Nobles (1948) y Dilley & Covey (1981) quienes indican que *T. versicolor* crece bien en MA. Por otra parte, bajo luz continua, el hongo se desarrolla mejor y más abundantemente que en oscuridad continua.

**Efecto de la alternancia de luz y oscuridad en el crecimiento de *T. versicolor* en diferentes medios de cultivo.** Los resultados indican que a las 72 horas en casi todos los medios, con excepción del V8A y ELA, se obtuvo un crecimiento radial estadísticamente igual; sin embargo, un desarrollo más denso y con abundancia de micelio se obtuvo en AVA, PDA y MA. A las 96 horas, el medio en el que se detectó mayor desarrollo fue AVA, seguido de JTA, AA, PDA y MA. Sin embargo, en AVA, PDA y MA el crecimiento micelial fue abundante. A las 144 horas, el desarrollo de las colonias siguió una tendencia similar (Fig. 2) En los medios V8A y ELA se observó el desarrollo radial más lento en las tres evaluaciones.

En general, en este primer ensayo, en la oscuridad continua se observó el menor desarrollo radial y poca abundancia micelial. El mayor desarrollo de *T. versicolor* se obtuvo en luz fluorescente continua en todos los medios estudiados. Se observó también que en V8A y en ELA, el diámetro, aunque no la abundancia micelial, se incrementa más en luz fluorescente continua que en alternancia luz-oscuridad, en relación con los demás medios evaluados.

Estos resultados no concuerdan con lo reportado por Liao (1990), quien señala que *C. versicolor* crece bien en PDA, con temperaturas entre 28 y 32°C y que la alternancia de luz y oscuridad (12 h – 12 h) fue mejor para el crecimiento que la luz o la oscuridad continuas. Esta diferencia posiblemente se deba a la temperatura y a la cepa del hongo.

**Efecto de la alternancia luz-obscuridad y luz ultravioleta.** El mayor crecimiento se obtuvo a las 144 horas en V8A y JTA (Fig. 3). Sin embargo, fue tenue, poco denso y superficial, con poco micelio, mientras que en PDA y MA el crecimiento fue abundante, más compacto pero menor en diámetro, lo cual coincide con los resultados del primer estudio. En este segundo estudio, se obtuvo menor crecimiento radial en los diferentes medios debido a que este se llevó a cabo en septiembre cuando las temperaturas de laboratorio promedian 20°C y son más bajas que en junio cuando se realizó el primer estudio, este con un promedio de temperatura de 24°C.

Al comparar el crecimiento obtenido en alternancia de luz-obscuridad, con el que recibió luz ultravioleta, se notó un ligero incremento en el diámetro de las colonias sometidas a luz ultravioleta; sin embargo, se desconoce si la luz UV puede provocar efectos adversos en el micelio del hongo, solo se conoce su efecto en la esporulación de algunos hongos (Romero, 1988).

**Efecto del pH en el crecimiento *in vitro* de *T. versicolor*.** A las 24 horas el crecimiento del hongo fue mayor a un pH entre 4.5 y 6.5 (Fig. 4); en la segunda evaluación a las 48 h el rango de pH se extendió de 4 hasta 6.5, obteniéndose en todos ellos un crecimiento estadísticamente igual. En ambas evaluaciones, en pH neutro (7.1), el hongo se desarrolla más lentamente; después de las 48 horas, se observa un crecimiento más activo en todo el rango de pH estudiado, lo cual posiblemente se debe a que el desarrollo de *T. versicolor* y sus enzimas extracelulares alteran el pH del medio en que crece, y lo estabilizan entre los límites de 4 y 5.5, lo cual concuerda con lo indicado por Deacon (1990) y Dudchenko *et al.* (1989), quienes señalan que los hongos con frecuencia alteran el pH del medio, facilitando así la entrada de nutrientes a

través de la pared celular y membrana protoplásmica. lo que favorece un crecimiento micelial mayor que se manifestó en la evaluación de las 72 horas.

De acuerdo a Dudchenko *et al* (1989), *T. versicolor* regula activamente la acidez del medio, estabilizándolo entre los límites de pH 4 y 5.5; sin embargo, de acuerdo al mismo autor, el valor de pH inicial del medio de cultivo es significativamente afectado por la actividad de las enzimas extracelulares (celulasas, pectinasas y otras). Por lo anterior, al acidificar el medio crecieron más rápido los aislamientos y el rango que Dudchenko *et al* (1989) mencionan es similar al observado en la Fig. 4. En la evaluación a las 72 horas el rango de pH donde desarrolló más *T. versicolor* fue de 4 a 4.5. El segundo grupo de crecimiento aceptable, se detectó en pH de 5 y 5.5 y a medida que se incrementó el pH de 6 a 7.1 el crecimiento fue menor, lo cual coincide con lo informado por Bonilla y Macías (1994) quienes señalan que *T. versicolor* se desarrolla a un pH de aproximadamente 4. Estos resultados podrían tener una utilidad práctica en la selección de algunas medidas de control, ya que en campo se puede intentar incorporar algunas sustancias que neutralicen o alcalinicen el suelo para que *T. versicolor* reduzca su capacidad de desarrollo y de daño al manzano.

**Efecto de la temperatura en el crecimiento *in vitro* de *T. versicolor*.** Al comparar las medias del crecimiento radial a las 24 horas se observa que *T. versicolor* desarrolla mejor a temperaturas de 30 y 35°C y a las 48, 72 y 96 h el mayor crecimiento radial se obtiene a los 30°C (Fig. 5).

El hongo no se desarrolla a 0°C. y a 40°C el crecimiento es mínimo. logrando sólo crecer 0.23 cm en 96 h; a 10°C también se obtiene un crecimiento muy limitado. y a 20°C presenta ya un desarrollo intermedio. similar al obtenido a 35°C.

La temperatura óptima para el desarrollo de *T. versicolor* en condiciones de alternancia de luz/obscuridad fue de 30°C. y el rango de crecimiento aceptable está entre los 20 y 35°C. lo cual se aproxima a lo reportado por Liao (1990) quien indica que *C. versicolor* en PDA crece bien entre 28 y 32°C, bajo alternancia de luz y obscuridad. Por su parte, Bonilla y Macías (1994) señalan que el rango de temperatura para el crecimiento del hongo es de 20-35°C.

**Evaluación de fungicidas *in vitro* para el control de *T. versicolor*.** En la evaluación a las 24 horas once fungicidas inhibieron completamente el desarrollo de *T. versicolor*: solamente el carbendazim y el tiabendazol permitieron un crecimiento de 1 mm de diámetro. mientras que en el testigo absoluto (sin fungicida) creció 2 mm.

A las 48 horas, los fungicidas que inhibieron completamente el desarrollo micelial fueron: el triadimenol, propiconazol, difenoconazol, tebuconazol, todos del grupo de los triazoles, y el Interguzan, una mezcla de PCNB + thiram, además del captan y benomyí, los cuales presentaron una eficacia de control del 100% (Fig. 6). En el caso de los triazoles, su comportamiento de control era esperado, ya que el hongo pertenece a los basidiomicetos, sobre los cuales normalmente actúan los miembros de este grupo en mayor o menor grado, al inhibir la síntesis del ergosterol componente de la membrana celular fungosa (Andrade, 1989; Mendoza-Zamora, 1992). El carbendazim y tiabendazol continúan permitiendo el desarrollo del hongo; también se

observa crecimiento del hongo en metalaxyl, fludioxonil, fluazinam e iprodiona. los cuales hasta esta evaluación mostraron eficacias entre 63.1 y 47.3% (Fig. 6).

En la tercera y cuarta evaluación a las 72 y 96 horas, los fungicidas del grupo de los triazoles, además del PCNB + thiram, captan y benomyl inhibieron completamente a *T. versicolor*

En la quinta y sexta evaluación (120 y 144 horas), los triazoles y el PCNB + Thiram, proporcionaron 100% de control, mientras que con captan y benomyl el hongo tuvo un poco de desarrollo. En los demás tratamientos el hongo continuó creciendo. lo cual indica que no tienen un efecto de control significativo y en el caso del carbendazim su efecto fue similar al testigo.

En la séptima evaluación realizada 168 horas después de la transferencia del hongo al medio de cultivo con fungicida, el triadimenol, propiconazol, difenoconazol, tebuconazol y el PCNB + thiram, también controlaron 100% a *T. versicolor*.

De acuerdo a Buchenauer (1987) la síntesis del esterol es rápida y profundamente inhibida en presencia de los fungicidas triazoles, con lo cual no hay crecimiento, pues los esteroides, entre ellos el ergosterol es un componente importante de la membrana de algunos grupos de hongos, tales como los basidiomicetos a los cuales pertenece *T. versicolor*.

El efecto del PCNB + thiram se explica porque el PCNB interfiere en la síntesis de la quitina, que es un componente de la pared celular de los basidiomicetos. e inhibe además la respiración; mientras que el thiram es un fungicida multisitios que interfiere con la respiración del hongo y la síntesis de proteínas (Cremllyn, 1982).

Se concluye que, *T. versicolor* crece adecuadamente en AVA, PDA y MA; la luz continua favorece más el desarrollo que la alternancia luz - oscuridad y esta a su vez es mejor que la oscuridad continua. La luz ultravioleta estimuló ligeramente el desarrollo del hongo con respecto a la alternancia luz y oscuridad normal. El rango de pH óptimo fue de 4 a 4.5, aunque se obtuvo un desarrollo adecuado con pH de 5 y 5.5. La temperatura óptima oscila alrededor de los 30°C, con un rango entre 20 y 35°C. Los fungicidas que inhibieron 100% el desarrollo del hongo *in vitro* fueron triadimenol, propiconazol, difenoconazol, tebuconazol y PCNB +thiram.

#### LITERATURA CITADA.

- Abbott, W.S., 1925. A method of computing the effectiveness of an insecticide. **J. Econ. Entomol.** **18**: 265-267.
- Andrade, V.O., 1989. Fungicidas inhibidores de la síntesis de esteroides. II Usos y limitaciones en el control de enfermedades de cereales. En: La Torre G.B. (ed.) **Fungicidas y Nematicidas**. Colección en Agricultura. Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago de Chile.
- Bergdahl, D.R. & D.W. French, 1985. Association of wood decay fungi with decline and mortality of apple trees in Minnesota. **Plant Dis.** **69**:887-890.
- Bonilla-Chávez, J.E. & P. Macías-Canales, 1994. **Manejo integrado de las enfermedades radicales del manzano (*Malus pumilla* Mill.) en Zacatlán, Puebla**. Tesis profesional, UACH. Chapingo. Edo. de México.

- Buchenauer, H., 1987. Mechanism of action of Triazolyl fungicides and related compounds. In: H.L. Lyr (ed.). **Modern selective fungicide-properties, applications, mechanisms of action.** Longman group UK Ltd., London, and VEB Gustav Fischer Verlag. Jena.
- Cartwright, K.St. G., & W.P.K. Findlay, 1958. **Decay of timber and its prevention.** 2nd. ed. Her Majesty's Office, London.
- Cremlyn, R., 1982. **Plaguicidas modernos y su acción bioquímica.** Limusa, México. D.F.
- Covey, R.P., H.J. Larsen, T.J. Fitzgerald & M.A. Dilley, 1981. *Coriolus versicolor* infection of young apple trees in Washington State. **Plant Dis.** **65**:280.
- Darbyshire, B., G.C. Wade & K.C. Marshall, 1969. *In vitro* studies of the role of nitrogen and sugars on the susceptibility of apple wood decay by *Trametes versicolor*. **Phytopathology** **59**:98-102.
- Deacon, J.W., 1990. **Introducción a la Micología Moderna.** Limusa-Noriega, México, D.F.
- Dilley, M.A. & R.P. Covey, Jr., 1980. Survey of wood decay and associated hymenomycetes in central Washington apple orchards. **Plant Dis.** **64**:560-561.
- Dilley, M.A. & R.P. Covey, Jr., 1981. Association of *Coriolus versicolor* with a dieback disease of apple trees in Washington State. **Plant Dis.** **65**:77-78.
- Dudchenko, L.G., V.D. Semichaevskii & G.G. Mel' nichuk, 1989 Effect of pH of the medium on the production of extracellular enzymes by Wood-destroying Basidiomycetes. Mikologiya i Fitopatologiya, 22(2):135-141. Abstract In: **Rev. Plant Pathol.** 068-03939.
- Jensen, K.F., 1969. Effect of constant and fluctuating temperature on growth of four wood-decaying fungi. **Phytopathology** **59**:645-647.
- Kile, G.D., 1976. The effect of season of pruning and of time since pruning upon changes in apple sapwood and its susceptibility to invasion by *Trametes versicolor*. **Phytopathol. Z.** **87**:231-240.

- Liao, Y.M., 1990. Nutritional and environmental conditions for the growth of *Coriolus versicolor*, a wood-decaying and medical fungus. **J. Agric. Res. of China** **39**:190-203.
- Mendoza-Zamora, C., H. Lozoya, M. Rosas, E. Pérez-Silva, 1999. *Trametes versicolor* Pilát causante de la pudrición blanca del manzano. **Rev. Mex. Mic.** **15**: 49-58
- Mendoza-Zamora C. 1992. **Fungicidas sistémicos y su modo de acción**. Depto.de Parasitología, UACH. Chapingo, Edo. de México.
- Nobles, M.K., 1948. Studies in forest pathology. VI. Identification of cultures of wood-rotting fungi. **Can. J. Res. C.** **26**: 281-431
- Romero, C.S., 1988. **Hongos fitopatógenos**. Dirección de Patronato. Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo. Edo. de México.
- Wade, S.C., 1968. The influence of mineral nutrition on the susceptibility of apple trees to infection by *Trametes versicolor*. **Aust. J. Exp. Agric. Anim. Husb.** **8**:436-439.
- Wagener, W.W. & R.W. Davidson, 1954. Heart rots in living trees. **Bot. Rev.** **20**:61-134.



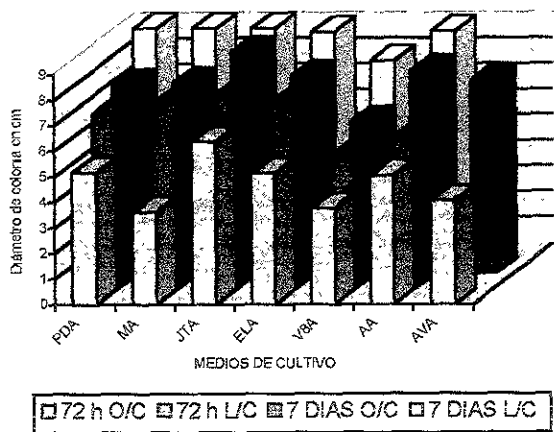


Fig. 1. Efecto de la obscuridad continua y luz continua sobre el desarrollo de *T. versicolor* en diferentes medios de cultivo.

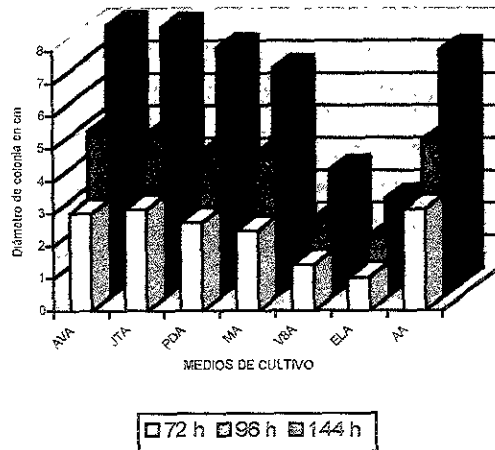


Fig. 2. Efecto de la alternancia luz/obscuridad en el desarrollo de *T. versicolor* en diferentes medios de cultivo

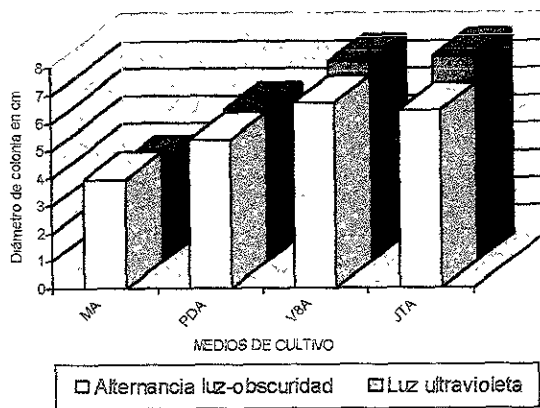


Fig. 3 Efecto de la alternancia luz/obscuridad y luz ultravioleta en el desarrollo de *T. Versicolor* a las 144 hr.

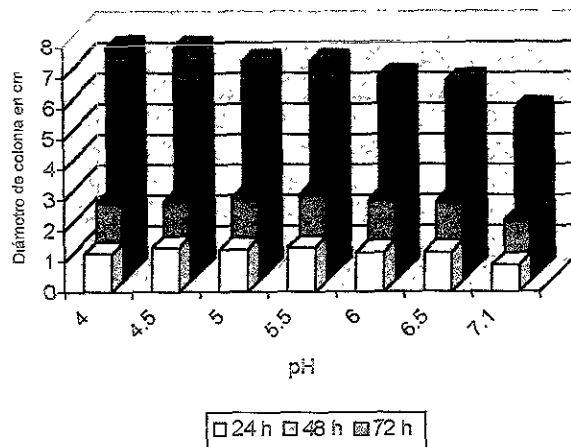


Fig. 4. Efecto del pH en el crecimiento *in vitro* de *T. versicolor* en medio de cultivo PDA

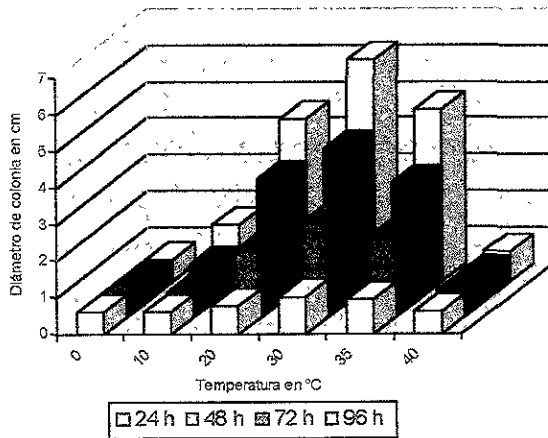


Fig. 5. Efecto de la temperatura en el crecimiento *in vitro* de *T. versicolor*.

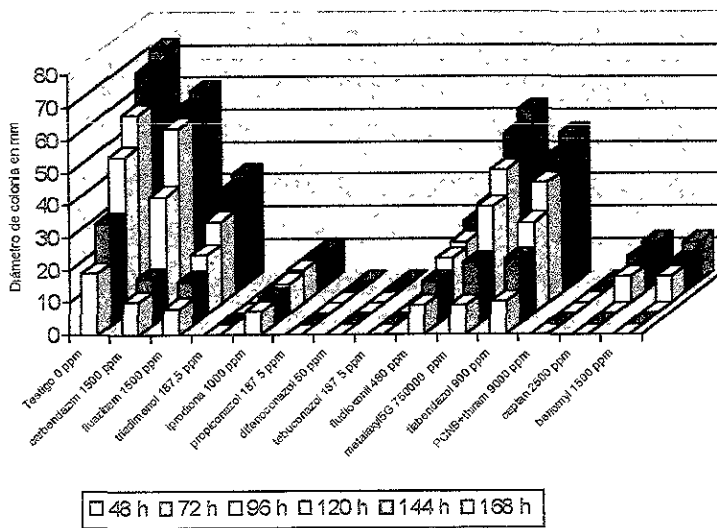


Fig. 6. Efecto de control *in vitro* de diferentes fungicidas sobre *T. versicolor*.

### CAPITULO III

---

#### MANEJO INTEGRADO DE LA PUDRICION BLANCA DEL MANZANO (*Trametes versicolor*)

(L.: FR.) Pilát

---

CECILIO MENDOZA ZAMORA<sup>1</sup>, HÉCTOR LOZOYA SALDAÑA<sup>2</sup>, MANUEL ROSAS  
ROMERO<sup>3</sup> Y EVANGELINA PÉREZ SILVA<sup>4</sup>.

<sup>1</sup>Departamento. de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. 56230 Chapingo, México.

<sup>2</sup>Departamento. de Fitotecnia, Universidad Autónoma Chapingo. 56230 Chapingo, México.

<sup>3</sup>Seminis Vegetable Seeds, Inc. 37437 State Highway 16, Woodland, CA. 95616

<sup>4</sup>Laboratorio de Micología. Instituto de Biología de la UNAM. Apartado. Postal 70-233, Coyoacán, México, D.F. 04510

#### ABSTRACT

INTEGRATED MANAGEMENT OF WHITE ROOT ROT IN APPLE TREES (*T. VERSICOLOR*). *Rev. Mex. Mic.* 16:pp-pp (2000). In order to quantify damage reduction by *Trametes versicolor* in apple trees. treatments involving only pruning and solarization, as well as the addition of manure, alfalfa, lime and fungicides to the soil were implemented for two consecutive growing seasons. Pruning and lime promoted a better growth development, as long as the soil pH did not exceed 7.0. Pruning and triadimenol or PCNB-thiram induced similar results. Pruning-solarization, pruning-alfalfa and pruning-manure, did not reduce damage; however, the aspect of the trees was

improved when fungicide was included. The best combination for the objective was pruning-triadimenol. Pruning-PCNB-thiram was identified as a second choice. Pruning and lime may as well be satisfactory, provided the previously mentioned restriction.

**Key words:** Integrated management *Trametes versicolor*

### Resumen

Con el fin de cuantificar la reducción del daño por *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilát en manzano, se aplicaron tratamientos que involucraron prácticas, solas o en combinación, de poda y solarización, así como la incorporación al suelo de estiércol, alfalfa, cal y fungicidas, y la combinación de algunos de estos, durante dos ciclos consecutivos de producción. La combinación de poda y cal promovieron un mejor desarrollo del árbol, siempre y cuando la cantidad de cal no aumente el pH del suelo a más de 7.0. La poda y la aplicación de triadimenol o de PCNB + Thiram indujeron resultados similares. La poda con solo solarización, o con alfalfa o con estiércol, no redujo los daños. No obstante, el aspecto del árbol mejora cuando se aplica fungicida. La mejor combinación para el objetivo propuesto fue podar y aplicar triadimenol, con una segunda opción de podar y agregar PCNB + thiram. Podar y aplicar cal también da resultados satisfactorios, aunque con la restricción mencionada.

Palabras claves: Manejo integrado, *Trametes versicolor*.

## Introducción

*Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilát ataca raíces, tallo y ramas del manzano en algunas zonas de México. Los síntomas en tallo y ramas incluyen ampollamientos y cuarteaduras, corteza papelosa, una capa micelial blanquecina y pudrición blanca de la madera bajo la corteza, con muerte regresiva de ramas y la muerte del árbol. En el estado de Puebla, se cultivan 9,248 has de manzano que representan el 12.6% de la superficie cultivada a nivel nacional y la principal zona productora de este frutal es el municipio de Zacatlán, donde *Trametes versicolor* ha sido reportado como uno de los principales patógenos del cultivo (Mendoza-Zamora *et al.*, 1999a). Los posibles factores que predisponen la enfermedad son: la nutrición pobre del suelo, el clima severo, la poda, las heridas en el árbol, el pH y el manejo del cultivo (Bergdahl & French, 1985; Wade, 1968; Kile, 1976, y Covey, 1990). Por otra parte, Mendoza-Zamora *et al.* (1999b) señalan que *in vitro* el hongo crece mejor en un rango de pH ácido de 4.0 a 4.5 y sugieren que esta característica puede usarse para definir algunas medidas de control del hongo en el suelo, incorporándose sustancias que neutralicen o alcalinicen el suelo y así intentar reducir la capacidad de desarrollo de *T. versicolor* y el daño a las raíces; el mismo reporte menciona que el crecimiento de *T. versicolor* fue inhibido 100% *in vitro* por los fungicidas sistémicos triadimenol, propiconazol, difenoconazol y tebuconazol y por la mezcla de fungicidas de contacto PCNB – thiram.

Para reducir los daños se sugiere también manejar los huertos de tal forma que el crecimiento de los árboles cese antes del invierno, balancear la nutrición. Los cortes de poda deben hacerse al ras y quedar en ángulo para minimizar la acumulación de agua en esas superficies (Covey, 1990 y

Anónimo, 1991). Por otra parte se sugiere no eliminar completamente las ramas superiores del árbol, ya que las ramas inferiores quedan expuestas a quemaduras de sol por donde posteriormente penetra *T. versicolor* (Anónimo, 1991).

Además de los métodos tradicionales de manejo de enfermedades con origen en el suelo, se ha empleado la solarización para reducir las poblaciones de patógenos en el suelo y de esa forma, Szejnberg *et al.* (1987) reportan el control de *Rosellinia necatrix* patógeno del manzano.

En general, no existen métodos de control específicos para *T. versicolor*, pero se sugiere extraer y quemar árboles muertos, podar ramas, hacer cirugía en troncos, y sellar heridas con pintura y fungicida; no causar heridas innecesarias en la parte aérea, no dañar la raíz en tiempo de sequía, además de evitar el agobio de la planta dándole la humedad y fertilización adecuadas (Agrios, 1986; Buttler & Jones, 1955; Walker, 1975).

En estudios previos, se ha observado que la recuperación de los árboles es mayor cuando se poda y se solariza, o cuando se poda y aplica al suelo paja de cebada, alfalfa y un fungicida (Solís y Flores, 1992; González, 1992; Bonilla y Macías, 1994).

Tanto en el suelo como en las ramas una vez que ha penetrado *T. versicolor* es difícil su erradicación y con una sola medida de control es imposible eliminarlo. Además, se desconocen todos los factores que predisponen la aparición y desarrollo de la enfermedad, pues en experimentos anteriores en el mismo sitio se han observado resultados en ocasiones contradictorios. Por lo anterior y al observar importantes pérdidas en esta zona manzanera de Zacatlán, Puebla, se decidió realizar el presente ensayo de manejo integral del problema que tuvo

por objetivo identificar las medidas que reduzcan los efectos de algunos de los factores involucrados en la enfermedad y cotejar los resultados obtenidos en estudios previos.

### **Materiales y métodos.**

El ensayo se instaló en un huerto de producción comercial de manzana de la var. rayada, en el municipio de Zacatlán, ubicado en la parte noroeste media del estado de Puebla, entre los 19° 50' y 20° 18' de latitud norte y 99° 55' y 99° 12' de longitud oeste, a una altitud entre 2,045 y 2200 msnm, con temperatura media anual de 16°C y humedad relativa entre 60-65; presencia de 175 días de neblina y 900 -1,200 mm de precipitación anual, así como 11-13 heladas por año. Los suelos son pesados, con gran cantidad de materia orgánica y pH ligeramente ácido. Se seleccionó un huerto con daños severos de la enfermedad y prácticamente improductivo.

Se evaluaron los siguientes tratamientos durante los ciclos 1995 y 1996: testigo con poda; poda + solarización (6 m<sup>2</sup> de polietileno/árbol); poda + fungicida 1 al suelo (F1 = Triadimenol 18 ml/árbol); poda + alfalfa achicalada (6.5 kg/árbol); poda + solarización + F1; poda + alfalfa achicalada + F1; poda + cal agrícola (CaO) 6 kg/árbol; poda + fungicida 2 (F2 = PCNB + thiram 62.5 ml/árbol); poda + F2 + solarización; poda + estiércol de bovino (8 kg/árbol) + F1 y un testigo sin podar y sin incorporar ningún material al suelo.

Los tratamientos, con excepción de la poda, fueron aplicados en marzo (1995) y en febrero (1996) en la etapa de estado de yema e inicio de aparición de las hojas; los fungicidas se incorporaron con 18 litros de agua por árbol; la alfalfa, la cal y el estiércol se incorporaron con

azadón. mezclándolos con el suelo: el periodo de solarización fue de 80 días en 1995 y 45 días en 1996; la poda se realizó en febrero de 1995 y en enero de 1996.

El diseño experimental utilizado fue bloques al azar con cuatro repeticiones. donde cada unidad experimental estuvo constituida por un árbol de más de 15 años de edad. Los parámetros evaluados durante 1995 fueron: longitud y diámetro de brotes. efectuándose seis evaluaciones (a intervalos de 15 días, excepto la sexta realizada 30 días después de la quinta) para cada caso tomando 40 brotes al azar por tratamiento en cada evaluación. Asimismo, se muestreó el suelo de cada tratamiento para realizar análisis químico y medir su pH. Durante 1996, se evaluó seis veces (a intervalos de 15 días, excepto la sexta evaluación realizada 30 días después de la quinta) la longitud de 40 brotes y tres veces (a intervalos de 40 días) el diámetro de los mismos; los brotes fueron marcados en la primera evaluación; además, se evaluó el vigor de cada árbol al final del ciclo, previo a la cosecha, con la siguiente escala: 0 = excelente (0% de síntomas aéreos, SA); 1 muy bueno (hasta 10% de SA); 2 = bueno (hasta 20% de SA); 3 = regular (hasta 30% de SA); 4 = malo (hasta 50% de SA); 5 = muy malo (hasta 70% de SA) y 6 = árbol muerto. También se evaluó previo a la cosecha, el porcentaje de corteza papelosa en ramas, tomando al azar trozos de 1.0 m, de una edad de 2 años, de 10 ramas/árbol, de los cuatro puntos cardinales de la parte media del árbol, con la siguiente escala: 0=rama sana: 1 = menos de 6.25% de la rama con síntomas de corteza papelosa (CP); 2 = hasta 12.5% de CP; 3 = hasta 25% de CP; 4 = hasta 50% de CP y 5 = más del 50% de CP. Asimismo, se evaluó el peso de 10 frutos por unidad experimental (árbol) y el diámetro de los mismos; además, se analizó químicamente el suelo. Las lecturas de longitud, diámetro de brotes y frutos, aspecto del árbol y muestra de rendimiento fueron sometidas a un análisis de varianza y a la prueba de comparación de medias de Tukey ( $\alpha =$



0.05). Los datos de corteza papelosa fueron transformados a porcentajes de infección con la fórmula de Townsend y Heuberger (1943), y se les aplicó el mismo análisis de varianza y la misma prueba de comparación de medias con el paquete de análisis estadístico SAS®.

Para una interpretación más práctica de los datos de longitud y diámetro de brotes en 1995 se incluye sólo el análisis conjunto de las dos últimas evaluaciones (5ª y 6ª). Para el año 1996 se discute sólo la última evaluación, es decir, la 6ª evaluación para longitud de brotes y la 3ª evaluación para el diámetro de los mismos.

## **Resultados y discusión.**

### **Primer ciclo.**

**Longitud de brotes.** En todas las evaluaciones se observó que la poda estimuló una brotación más vigorosa del árbol, tal como lo señala Calderón (1983). Comparativamente, el testigo sin poda mostró la menor longitud de brotes, sin embargo, al incluir fungicida, estiércol, cal, o al solarizar se obtuvieron mejores brotes que donde sólo se hizo la poda, excluyendo de esto al tratamiento de poda más alfalfa, el cual obtiene longitudes menores que el testigo con sólo poda; pero en general todos los tratamientos donde se podó y en los que además se aplicó algún componente de control, son estadísticamente iguales y sólo difieren del testigo sin poda (Cuadro 1), el cual presentó 9.2 cm de longitud, mientras que el tratamiento con sólo poda obtiene 43.96 cm, lo cual demuestra los beneficios de realizar esta práctica; Lo anterior se confirma en los tratamientos que además de poda incluyeron algún factor de control y que obtienen longitudes desde 49.67 a 45.14 cm, exceptuando a poda + alfalfa que obtiene 39.12 cm (tratamiento 4,

Cuadro 1) y que es menor al testigo con poda (43 96 cm). La variación en longitudes dentro del primer grupo depende de los efectos del componente de control incorporado al suelo: de esta forma, se observó que al adicionar cal, aplicar los fungicidas PCNB + thiram y el triadimenol al suelo, así como el uso de la solarización en combinación con los fungicidas mencionados y la alfalfa con el triadimenol ofrecen resultados aceptables, observándose diferencias en longitudes de brotes de 2.72 a 5.71 cm comparado con el testigo podado. De lo anterior se deduce que los materiales incorporados ayudan a reducir los daños del patógeno y/o su incorporación favorece la nutrición del árbol, por lo que esto se manifiesta en un mayor crecimiento de los brotes. La posible explicación para la respuesta de cada material incorporado es la siguiente: al incorporar cal, el suelo se neutralizó (7.0), lo que no favoreció el desarrollo del hongo, ya que según Mendoza-Zamora *et al.* (1999b), *T. versicolor* crece mejor en pH ácido y, por lo tanto, con poblaciones más bajas del hongo habrá un menor daño al árbol; asimismo, de acuerdo a Tisdale y Nelson (1987) favoreció la disponibilidad de fosfatos, ya que según estos autores, la adición de cal a suelos con pH bajo inactiva al hierro y al aluminio, aumentando así el nivel de fósforo disponible para las plantas, por lo que se observó un mayor crecimiento de los brotes. Los mismos autores señalan que si el pH es mayor a 6.5 no se debe adicionar cal porque se disminuye la disponibilidad de algunos microelementos, y en nuestro caso el pH inicial era de 6.4, por lo cual si se obtuvo una ligera respuesta.

Los fungicidas PCNB + thiram y triadimenol *in vitro* obtienen una inhibición total de *T. versicolor* (Mendoza-Zamora *et al.*, 1999b); sin embargo, al adicionar estos fungicidas al suelo solos, se observa que sus efectos son mínimos, ya que comparando éstos con el testigo con sólo poda se observa sólo un aumento en la longitud de brotes de 5.69 cm para PCNB + thiram y de 4.35 cm para el triadimenol. La explicación de su respuesta es que, en general, el comportamiento

de los fungicidas en el suelo según Sinha *et al.* (1988) depende de la adsorción, difusión, volatilización, lixiviación, degradación química y microbial, fotodegradación y de la absorción por la planta; la interacción de estos factores determina su efectividad y residualidad en el suelo. Por otra parte, Frissel (1961) citado por Sinha *et al.* (1988), indica que todos los compuestos son fuertemente adsorbidos a pH bajos, por lo que, considerando que el pH al momento de aplicarse los fungicidas estaba entre 6.0 y 6.4 en los tratamientos donde se aplicaron éstos, se deduce que hubo adsorción y por esta razón no se detectó un control significativo de la enfermedad, ya que en el caso del PCNB – thiram no son fácilmente lixiviados (Munnecke, 1961; Helling *et al.* 1974). Por lo que se deduce que un factor importante en el no control, fue la adsorción a las arcillas minerales y a la materia orgánica, que son agentes importantes de adsorción (Sinha *et al.*, 1988). Aunque se sabe que el PCNB se degrada lentamente en el suelo (Caseley, 1968; Wang y Broadbent, 1972) y que por esa razón debería ofrecer un mejor control, es posible que éste no se diera debido a la posible adsorción citada. Si se comparan los efectos de los dos fungicidas, se observa, que aunque no existen diferencias estadísticas significativas se obtienen mejores resultados con el tratamiento PCNB + thiram, porque está formulado para aplicarse al suelo, mientras que el triadimenol es una formulación para follaje, por lo que en el suelo es más fácilmente adsorbido por la materia orgánica.

Los tratamientos con únicamente solarización lograron brotes mayores en sólo 1.29 cm respecto al testigo con poda, lo que es el resultado, según Ramírez (1996), de que esta práctica incrementa la temperatura del suelo, con lo cual se reducen las poblaciones del patógeno y se promueve el crecimiento del árbol; sin embargo, aplicada sola induce brotes de menor longitud que cuando ésta se combina con fungicidas, lo cual demuestra un efecto aditivo de control de estos y la poca efectividad de la práctica de sólo solarizar en esta región.

Por otra parte, la incorporación de alfalfa sola no ofrece beneficios en la longitud de brotes. Incluso éstos son menores que los del testigo con poda, lo cual puede deberse a que la alfalfa acidificó ligeramente el suelo (Cuadro 3), y con ello posiblemente benefició al patógeno. Aunque no es el único tratamiento que bajo el pH, probablemente la alfalfa también pudo haber modificado la humedad del suelo. tal como lo reporta Merwin *et al.* (1992) quienes indican que en manzano se incrementaron las enfermedades al aplicarse paja que retuvo mayor humedad. Asimismo, Bandyopadhyay *et al.* (1982) opinan que los mejoradores tienen un gran contenido de carbohidratos y otros nutrientes que probablemente sirven como base alimenticia para la multiplicación e incremento de la virulencia de el patógeno, por lo que se incrementa su potencia para causar más enfermedad.

Cuando se aplican los fungicidas, en el tratamiento ya solarizado, se observa que los resultados son prácticamente iguales que si sólo se aplicaran los fungicidas. En base a lo anterior, es más recomendable, hasta este momento, aplicar los fungicidas PCNB + thiram y triadimenol, ya que al solarizar se incrementarían los costos.

Con la aplicación de únicamente triadimenol y cuando éste fue aplicado con alfalfa, se observó una respuesta similar en la longitud de brotes, por lo que sería conveniente, por los costos adicionales de la alfalfa, que sólo se aplicara el fungicida. La alfalfa sola tampoco dió resultados satisfactorios.

El tratamiento de poda + estiércol + triadimenol, provocó longitudes de brotes sólo 1.18 cm más grandes que los que presentó el testigo con poda, y menores a los que se obtuvieron con la

aplicación de triadimenol. Es posible que el estiércol afecte la acción del fungicida, ya que, según Yadav (1980) citado por Sinha *et al.* (1988), la incorporación de éste al suelo conduce a un marcado decremento en el potencial de control de los fungicidas. La explicación según lo indican Bandyopadhyay *et al.* (1982) es que el estiércol contiene una gran cantidad de sustancias húmicas que tienen una alta capacidad de formar complejos con los químicos orgánicos; Singh (1984), reportó que altas cantidades de estiércol redujeron marcadamente la eficacia del fungicida carbendazim.

En general, para este parámetro en el primer ciclo de evaluación se encontró que todos los tratamientos que involucraron poda son estadísticamente iguales, superando ampliamente al testigo sin poda; sin embargo, la poda + alfalfa obtuvo longitudes de brotes menores al testigo con poda. De los tratamientos con poda sobresalen numéricamente la poda + cal, poda - PCNB - thiram, poda + triadimenol, poda + solarización + triadimenol y poda + alfalfa - triadimenol. En estos dos últimos, las diferencias son mínimas comparados con la poda + triadimenol, por lo que sería conveniente el uso de este tratamiento, además de los ya mencionados poda + cal y poda + PCNB + thiram.

**Diámetro de brotes.** Se observó que todos los tratamientos que fueron podados, además de aquellos en los que se incorporó algún componente de control, obtienen brotes de mayor diámetro, resultando estadísticamente iguales entre sí, y solo difiriendo del testigo sin poda (Cuadro 1). Sin embargo, por no incluirse en otro grupo de igualdad estadística, destacan los tratamientos con poda + triadimenol, poda + cal y poda + solarización + PCNB + thiram, los cuales están incluidos en los mejores tratamientos detectados para el parámetro longitud de brotes. La cal al incrementar el pH a 7.0 redujo la capacidad de desarrollo de *T. versicolor*, ya

que de acuerdo con Mendoza-Zamora *et al.* (1999b) este patógeno desarrolla mejor en pH ácido: asimismo, según Tisdale y Nelson (1987) la aplicación de cal en suelos con valores bajos de pH produce un incremento en el vigor de las plantas al aumentar el nivel de fósforo disponible, por lo cual se obtuvieron brotes con un diámetro mayor.

Respecto a los fungicidas triadimenol y PCNB + thiram, aunque posiblemente gran parte de ellos quedó adsorbida a la materia orgánica del suelo, el resto ejerció efecto de control disminuyendo el crecimiento del patógeno y en consecuencia hubo menor daño en raíces, dando la oportunidad de mayor absorción de agua y nutrientes, aunque ambos acidifican ligeramente el suelo. *In vitro* Mendoza-Zamora *et al.* (1999b) demostraron que estos fungicidas inhiben totalmente el desarrollo del hongo, pero como en el suelo existen muchos factores que pueden afectar su eficiencia, tal como lo señalan Sinha *et al.* (1988), el control obtenido no es total.

Nuevamente el tratamiento de poda + alfalfa y poda + estiércol + triadimenol obtuvieron los menores diámetros (Cuadro 1), por las razones expuestas en el parámetro anterior, además del testigo sin podar, lo cual coincide en gran parte con los resultados de longitud de brotes.

**Diámetro de frutos, vigor y presencia de follaje.** El análisis estadístico no detectó diferencias significativas en este parámetro; sin embargo, los diámetros de frutos mayores se obtuvieron en los tratamientos poda + cal, poda + triadimenol, poda + PCNB + thiram, y poda + solarización + PCNB + thiram, con 5.74, 5.72, 5.70 y 5.55 cm, respectivamente, los cuales coinciden como los mejores tratamientos en los parámetros anteriormente discutidos. Los diámetros menores se detectaron en la poda + estiércol + triadimenol y en poda + alfalfa, tal como se observó en longitud de brotes.

Respecto al vigor y aspecto no se encontraron diferencias estadísticas significativas entre tratamientos. debido posiblemente a que la escala empleada no fue la adecuada, por los rangos establecidos y por el tamaño de muestra. que fue solo el árbol que conformaba cada repetición. Sin embargo. los porcentajes de infección más bajos se detectaron en los tratamientos que involucraron poda - cal y poda + solarización + PCNB + thiram, ambos con 17.5%, seguido entre otros de la poda + triadimenol, poda + solarización + triadimenol con 20.0% y estos seguidos de la poda + PCNB + thiram y del testigo podado, Los tratamientos que presentaron mas síntomas aéreos fueron el testigo sin poda y los podados que incluyeron estiércol + triadimenol y sólo alfalfa, con 30.0, 25.0 y 25.0%, respectivamente. Por otra parte, en la evaluación visual de presencia de follaje al final del año, se observó que el testigo sin poda estaba defoliado, mientras que la mayoría de los podados presentaban follaje aún, pero destacan, por la abundancia de éste, los tratados con poda + cal, poda + triadimenol y poda + solarización + triadimenol, lo cual concuerda también con los mejores tratamientos detectados en los parámetros anteriores.

## **Segundo ciclo.**

**Longitud de brotes:** Se observó que todos los tratamientos con poda son estadísticamente iguales con longitudes entre 76.8 y 58.4 cm, mientras que el testigo sin poda obtuvo sólo 23.0 cm de longitud promedio (Cuadro 2); lo anterior debido a que la poda estimula la brotación al reducir el número de yemas vegetativas y el vigor del árbol se destina a éstas, además, de que no podar provoca envejecimiento prematuro de los árboles, cosechas alternas y de mala calidad (Alvarez, 1988). La poda en árboles con daño en raíces y ramas, tiene como objetivo en este caso, la

eliminación de ramas enfermas y de algunas sanas, para establecer un equilibrio hídrico y nutricional entre la parte aérea y la raíz. ya que al existir raíces enfermas habrá menor absorción de agua y nutrientes. cantidad que no podrá sostener toda la brotación. por lo que es necesario dirigir el vigor a un menor número de brotes.

Por otra parte, la adición al suelo de algún componente de control tiene el objetivo de reducir las poblaciones del hongo. En este estudio, se observa que aunque estos tratamientos son estadísticamente iguales a los demás tratamientos con poda, destacan numéricamente los de poda + cal, poda + alfalfa + triadimenol, poda + triadimenol y poda + solarización + triadimenol, que tuvieron brotes de 11.95, 5.5, 4.62 y 1.2 cm mayores que el testigo con poda. Asimismo, poda + alfalfa continuó siendo menor que el testigo con poda, y en este ciclo se ubican con promedios menores también la solarización y los que involucraron al fungicida PCNB + thiram (Cuadro 2).

El efecto de la cal, ya ha sido explicado, y aunque mostró la mayor longitud de brotes, se observó que casi al final del ciclo el follaje presentaba síntomas de fitotoxicidad, esto probablemente debido a que el pH se incrementó hasta 7.86 (Cuadro 3) y con esto, según Tisdale y Nelson (1987) habrá indisponibilidad de microelementos, que se manifiestan como deficiencia y de acuerdo con los mismos autores si el pH es aumentado por la adición de cantidades excesivas de cal, la disponibilidad de fosfatos será disminuida, no obstante, en el Cuadro 4 se observa que existieron altas cantidades disponibles; también, los mismos autores señalan que no debe adicionarse cal si el suelo tiene pH mayor de 6.5 por que hay posibilidades de que disminuya la disponibilidad de algunos microelementos.



La alfalfa sola induce menores longitudes de brotes que cuando se aplica con el triadimenol, debido posiblemente al efecto de control del fungicida, el cual además por si solo y conjuntamente con la solarización obtiene resultados prometedores. La solarización sola presentó longitudes menores a las del testigo con sólo poda, por lo que se deduce que el control lo ejerce el triadimenol al reducir las poblaciones del hongo en el suelo y como resultado reduce los daños a la raíz y permite así una mayor absorción de agua y nutrientes, lo que se manifiesta en una mayor longitud de brotes.

Por otra parte, se observa que los tratamientos que incluyeron PCNB + thiram, en este ciclo, no presentan la misma respuesta que en el ciclo anterior, posiblemente debido a que los diferentes fungicidas, según Sinha *et al* (1988) actúan mejor dentro de un rango específico de temperatura, humedad y pH del suelo, por lo que en este caso, es posible que este fungicida haya sido afectado por la menor humedad que se presentó en este ciclo; mientras que el factor pH podría descartarse como el causante de esta disminución en control, debido a que en este ciclo la adición del fungicida lo acidificó más (Cuadro 3) acercándose más al pH de 5.4 que señala Kataria y Grover (1976) como el óptimo para que el PCNB obtenga su mejor control y aunque este fungicida acidificó el suelo, el pH no llegó al rango de 4.0 a 5.5 que señala Mendoza-Zamora *et al.* (1999b) como óptimo para el desarrollo del hongo, por lo que debe ser otro el factor causante de la disminución en control.

Al comparar los efectos de los dos fungicidas evaluados en ambos ciclos y aunque en los dos son estadísticamente iguales, se puede deducir que aunque en el primer ciclo con el PCNB + thiram se obtienen controles ligeramente mayores al triadimenol, en este segundo ciclo, éste supera al PCNB, debido a que al haber menor humedad, el triadimenol funcionó mejor, ya que

Deall (1990) señala que con mayor precipitación la formulación 250 concentrado emulsionable de éste es menos efectiva. de ahí que con menor precipitación obtenga un mayor control que el PCNB – thiram.

Debido al efecto similar que se observa en los tratamientos de poda + triadimenol comparado con poda + alfalfa + triadimenol y poda + solarización + triadimenol, se sugiere el uso del primer tratamiento. ya que con la incorporación de alfalfa o con la solarización se incrementarían los costos y el aumento en control al aplicarlos no es significativo.

**Diámetro de brotes.** Los mejores tratamientos, de los que se incorporó un factor de control, fueron la poda + cal, poda + alfalfa + triadimenol, poda + triadimenol y la poda + solarización + triadimenol que son estadísticamente iguales al testigo con poda (Cuadro 2). Los resultados obtenidos con el tratamiento a base de cal, pueden deberse a que además de poner disponibles los fosfatos que mejoran el vigor del árbol, también provocó que la descomposición de los residuos vegetales y la degradación de la materia orgánica del suelo fueran más rápidos al favorecer la nitrificación, porque los organismos responsables de esta, requieren grandes cantidades de calcio activo, tal como lo señala Tisdale y Nelson (1987), lo cual se comprueba en el análisis del Cuadro 4. donde se observa que el tratamiento con cal presenta sólo 5.16% de materia orgánica. mientras que los demás tratamientos presentan entre un 10.9 y 14.4%; como resultado de lo anterior, los tratamientos con cal obtuvieron longitudes y diámetros mayores. La adición de cal promovió también una mayor capacidad de intercambio catiónico (Cuadro 4) que favoreció la retención de los cationes (fósforo, potasio, magnesio, calcio y sodio) quedando estos disponibles para la planta.

La solarización de acuerdo con Ramírez (1996) incrementa la concentración de nitrógeno en forma de nitratos ( $\text{NO}_3$ ) y el nitrógeno amoniacal hasta seis veces. lo que pudo ayudar a que el tratamiento que incluyó solarización + triadimenol obtuviera diámetros de brotes aceptables

Por otra parte, la alfalfa incorporada, ya para este ciclo, posiblemente intensificó la actividad microbiana del suelo y esto, junto con los productos de su descomposición pudieron afectar al patógeno, ya que se ha demostrado que el heno de alfalfa reduce las poblaciones de algunos patógenos (Cook y Baker, 1983; Cook *et al.*, 1978); por lo que el uso de enmiendas orgánicas se ha aceptado como una forma de control biológico. Este efecto, conjuntamente con el del fungicida triadimenol facilitó el crecimiento y vigor de los brotes; pero los efectos de la solarización y alfalfa en adición al del fungicida, no son suficientes para que los tratamientos con ellos sean estadísticamente diferentes al del fungicida triadimenol solo, por lo cual, es mejor hasta este momento el empleo de sólo el fungicida, ya que la solarización y la alfalfa incrementarían los costos y sus beneficios no son significativos.

Cuando se aplica sólo alfalfa o sólo se solariza, los diámetros son menores que los del testigo con poda: de lo cual se deduce que el efecto de estas prácticas no influyen significativamente en el control del patógeno, por lo que se reitera que lo más adecuado a corto plazo es la poda con la aplicación al suelo del fungicida, sin descartarse que a largo plazo pueda influir positivamente la incorporación de la alfalfa o incluso del estiércol; mientras que la solarización puede no ser aplicable al presentarse en la región muchos días nublados o bien el tiempo de solarización en este ciclo no fue el adecuado, ya que se redujo a sólo 45 días.

Asimismo, se concluye que la poda es benéfica, pero por sí sola no soluciona el problema de la enfermedad, por lo cual es necesario además, aplicar el fungicida para reducir la población del hongo en el suelo y subir el pH entre 6.5 y 7.0, y mantenerlo en ese rango para evitar que se incremente la población del patógeno.

El fungicida sistémico triadimenol, según Scheinpflug & Kuck (1987) penetra rápidamente a los tejidos de la raíz, es traslocado acropetalamente en el apoplasto y tiene un espectro de acción que incluye a los patógenos del suelo, entre los que se encuentran algunos basidiomicetos, en los cuales afecta la biosíntesis del ergosterol, componente de la membrana celular fungosa (Andrade, 1989; Mendoza-Zamora, 1992) con lo que se afecta la permeabilidad de las membranas, la actividad de la enzima quitina sintetasa y, por lo tanto, el crecimiento y reproducción del patógeno; producto de lo anterior, se manifiesta una brotación más vigorosa al evitarse los daños en las raíces, debido a la presencia del fungicida en éstas, con lo cual seguramente se presentó una mayor absorción de agua y nutrientes inorgánicos, manifestándose en brotes más grandes y de mayor diámetro. Por los resultados obtenidos con los fungicidas, se puede deducir que éstos fueron adsorbidos a la materia orgánica del suelo, que sus dosis y la cantidad de agua con la que se aplicaron no fueron las adecuadas, o que es posible que se requiera otra aplicación, ya que una sola aplicación es insuficiente para proteger todo el periodo activo del árbol, ya que en estudios en otros cultivos se ha observado que después de 90 días se reduce notablemente la concentración del triadimenol (Deall, 1990). Los mejores tratamientos detectados en este parámetro coinciden con aquellos que obtuvieron mayor longitud de brotes.

**Corteza papelosa.** Los tratamientos que permitieron los menores porcentajes de corteza papelosa fueron poda + solarización + triadimenol, poda + alfalfa + triadimenol, poda + cal, poda + alfalfa,

poda + PCNB + thiram, poda + estiércol + triadimenol y poda + solarización (Cuadro 2), destacando los primeros tres, en los cuales se incluye el triadimenol y la cal, factores que han sobresalido en los parámetros anteriormente citados.

En general, parte de la respuesta es debido a la poda, de ramas dañadas; sin embargo, la combinación de poda + cal, poda mas el fungicida triadimenol con solarización o alfalfa dieron la mejor respuesta, lo que indica que el fungicida por su efecto de control directo y la cal al modificar el pH con todas sus consecuencias, ayudaron al control del patógeno. La poda y la adición de mejoradores del suelo o los fungicidas permitieron un mayor vigor de la planta, el cual evitó la presencia de mayores daños, ya que se ha observado (Bergdahl y French, 1985; Wade, 1968; Whitney, 1967; Covey, 1990) que los árboles debilitados por diferentes causas son más afectadas por el patógeno que los árboles más vigorosos.

**Diámetro, pesos de frutos y vigor del árbol.** En relación al diámetro de frutos, peso de los mismos y vigor, todos los tratamientos son estadísticamente iguales y no se observa congruencia en los resultados de los tres parámetros. Sin embargo, en cuanto al diámetro destacan poda + triadimenol, poda + PCNB +thiram, poda + solarización, poda + alfalfa + triadimenol y poda + solarización + PCNB + thiram con 7.11, 7.08, 7.07, 7.03 y 6.91 cm, respectivamente; mientras que el menor diámetro corresponde a poda + estiércol + triadimenol con 6.5 cm.

Respecto al peso de frutos, existe mayor uniformidad, obteniendo en los mejores tratamientos pesos entre 1494 y 1342 g, encontrándose como los más bajos a los dos testigos y al de poda + estiércol + triadimenol (1132 g) y a la poda + alfalfa con sólo 1079 g, ambos con menor peso que los testigos.

El aspecto y vigor aparente del árbol en este ciclo mejoró comparado con el ciclo anterior, ya que en este segundo, el rango del porcentaje de síntomas aéreos (marchitez, defoliación, color del follaje y muerte de ramas) fue de 5.0 a 22.5%, mientras que en el ciclo anterior fue de 17.5 a 30%, lo que indica que para este ciclo los tratamientos influyeron más en el vigor de los árboles; sin embargo, aún no se detectaron diferencias estadísticas; lo notable en este parámetro fue que el tratamiento de poda + cal, aunque mostró brotes de mayor longitud y diámetro, al final de este ciclo el follaje presentaba atizonamientos o necrosis intervenales y marginales, lo que provocó la defoliación parcial de los árboles, por lo que aparece con daños aéreos considerables (22.5%) disminuyendo el vigor aparente y quedando con un aspecto igual a la del testigo sin poda, esto debido a que al incorporar la cal el pH se incrementó más de lo necesario (Cuadro 3) provocando que disminuirá la disponibilidad de algunos microelementos (Tisdale y Nelson, 1987), por lo que el daño observado se debe a la aplicación de la cal y a sus consecuencias y no a un posible incremento en el daño del patógeno; consecuentemente, las cantidades que se deben aplicar deben ser sólo las suficientes para mantener el pH entre 6.5 y 7.0

Los tratamientos que favorecieron un mejor aspecto en este ciclo fueron poda + solarización, poda + PCNB + thiram, poda + solarización + triadimenol y poda + alfalfa.

**Efecto de los tratamientos en el pH del suelo, materia orgánica y otros componentes del suelo.** Los tratamientos con solarización disminuyeron ligeramente el pH, mientras que la incorporación de cal lo incrementó, y los demás tratamientos lo mantuvieron en valores similares en las tres evaluaciones (Cuadro 3). El efecto más notable fue el de la cal, la cual al aplicarse según Tisdale y Nelson (1987) y lograr neutralizar el pH (7.0) produce un aumento en el

crecimiento de brotes, al poner disponibles los fosfatos, lo cual sucedió en el ciclo 1995, pero al aplicarse de nuevo en 1996, incrementó el pH a 7.86 y esto provocó, según los mismos autores, una disminución en la disponibilidad de fosfatos y otros microelementos, ya que estos últimos están más disponibles a la planta cuando disminuye el pH. por ejemplo, la solubilidad del aluminio, hierro y magnesio aumenta cuando aumenta la acidez; por lo que en el ciclo 1996, los árboles mostraron menos vigor.

La solarización, disminuyó el pH paulatinamente (Cuadro 3). Este efecto de la solarización, posiblemente ayudó a que algunos microelementos, como lo señalan Tisdale y Nelson (1987), estuvieran más disponibles y esto favoreció el desarrollo de brotes; el bloqueo de fosfatos al bajar el pH no sucedió según el análisis final del suelo, donde observamos que la cantidad de fósforo en los tratamientos con solarización es similar a la encontrada en otros tratamientos, con excepción del que incluyó cal; asimismo, en los tratamientos solarizados se incrementó el nitrógeno inorgánico (nitratos y amonio), (Cuadro 4).

Por otra parte, Tisdale y Nelson (1987) indican que al adicionar cal se favorece la nitrificación y se degrada más rápido la materia orgánica, lo cual aquí se constató al observar (Cuadro 4) que en el tratamiento con cal se detecta la menor cantidad de materia orgánica (5.16%), mientras que todos los demás tratamientos están en el rango de 10.99 a 14.43%. También en el Cuadro 4 se observa que en el tratamiento con cal se obtuvieron 19.74 ppm de fósforo, lo cual confirma lo mencionado por Tisdale y Nelson (1987), respecto a la no disponibilidad del fósforo cuando el pH se eleva, ya que los demás tratamientos presentan una cantidad de fósforo muy inferior, en el rango de 1.03 a 3.35 ppm, lo que indica que en estos sí estuvo disponible y fue tomado por las plantas. La no disponibilidad de fósforo provocó en el tratamiento con cal que este presentará un

menor vigor en 1996 que en 1995 cuando sí estuvo disponible y el árbol se manifestó con mayores brotes y mejor vigor en el mismo tratamiento y por razones obvias se observa un incremento notable en ppm de calcio (7484.15). comparado con el rango de 1570.49 a 2255.74 ppm que presentan los otros tratamientos. También se incrementó ligeramente la capacidad de intercambio catiónico, superando a la de los otros tratamientos

La alfalfa por su parte, incrementó el nitrógeno inorgánico cuando fue aplicada con triadimenol, también incrementó las concentraciones de calcio y magnesio en mayor proporción cuando se aplicó con el fungicida que cuando se aplicó sola, mientras que el estiércol aumentó la materia orgánica, el calcio y el magnesio (Cuadro 4).

En general, después de dos ciclos de evaluación se observó que los tratamientos que promueven un mayor desarrollo del árbol son la poda + cal, poda + triadimenol, poda + solarización + PCNB + thiram, poda + solarización + triadimenol, poda + PCNB + thiram, y poda + alfalfa + triadimenol; sin embargo, el efecto de incluir en estos a la solarización y a la alfalfa es mínimo comparado con aquellos que sólo involucran algún fungicida, por lo que no es recomendable a corto plazo la inclusión de estos dos factores, además del estiércol, ya que incrementarían los costos. Posiblemente, si se evalúa un mayor número de ciclos y se analiza el incremento y beneficio de los organismos benéficos, y los cambios en el suelo, cuando se incorporan las enmiendas o cuando se solarice, se decida que es conveniente su utilización; pero lo observado en este estudio indica que estos no ofrecieron resultados prometedores, por lo que es mejor la utilización de los tratamientos poda + cal, siempre que la cantidad adicionada al suelo no aumente el pH arriba de 7.0, y los tratamientos poda + triadimenol y poda + PCNB + thiram.



- , S.G Jones. 1955. **Plant Pathology**. McMillan. Co. Great Britain.
- É.A., 1983. **La poda de los árboles frutales**. Limusa. México. D.F.
- C. 1968. The loss of three chloronitrobenzene fungicides from the soil. **Bull. Environ. m. & Toxicol.** 3:180-193
- J., M.G. Boosalis. B. Doupnik, 1978. Influence of crop residues on plant disease. In: Residue Management Systems. **Am. Soc. Agron. Spec. Publ. 31**, Madison, WI.
- R.J., K.E. Baker, 1983. **The nature and practice of biological control of plant pathogens**. APS Press, St. Paul. Minnesota.
- , R.P. Jr., 1990. Wood rots. In: Jones A.L. & H.S. Aldwinckle (eds.), **Compendium of apple and pear disease**. APS Press, St. Paul, Minn.
- .. M.W., 1990. Studies on the control of coffee rust (*Hemileia vastatrix*) with Bayfidan® (R. In Zimbabwe. **Pflanzenschutz-Nachrichten Bayer 43**:203-216.
- izález, R.I., 1992. **Métodos de control de las pudriciones de raíz y tronco del manzano (*Malus pumilla*, Mill). en Zacatlán, Puebla, México**. Tesis profesional Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México.
- elling. C.S., D.G. Dennison, D.D. Kaufman, 1974. Fungicide movement in soil. **Phytopathology 64**:1091-1100.
- Kataria. H.R., R.K. Grover, 1976. Some factors affecting the control of *Rhizoctonia solani* by systemic and non-systemic fungicides. **Ann. Appl. Biol.** 82:267-271.
- Kile, G.D., 1976. The effect of season of pruning and of time since pruning upon changes in apple sapwood and its susceptibility to invasion by *Trametes versicolor* **Phytopathol. Z.**, 87:231-240.
- Mendoza-Zamora. C., 1992. **Fungicidas sistémicos y su modo de acción**. Depto. de Parasitología Agrícola, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México.

- a-Zamora C., H. Lozoya, M. Rosas, E. Pérez. 1999a. *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilát. ante de la pudrición blanca del manzano. **Revista Mexicana de Micología 15**: 49-58
- za-Zamora C., H. Lozoya, E. Pérez, M. Rosas. 1999b. Comportamiento y control *in vitro* *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Pilát. **Revista Mexicana de Micología 15**: 41-48.
- in. I.A., W.F. Wilcox, W.C. Stiles, 1992. Influence of orchard ground management on the development of *Phytophthora* crown and root rots of apple. **Plant Disease 76**:199-205.
- necke, D.F. 1961. Movement of non volatile diffusible fungicides through columns of soil, **mytopathology 51**:593-599.
- írez. V.J., 1996. **La solarización del suelo: un método sencillo para controlar patógenos y malas hierbas**. Universidad Autónoma de Sinaloa, Culiacán, México.
- neinpflug, H., K.W. Kuch, 1987. Sterol biosynthesis inhibiting Piperazine, Pyridine, Pyrimidine and azole fungicides. In: H.L. Lyr (ed.), **Modern selective fungicide, properties, applications, mechanisms of action**. Longman group.UK Ltd. London.
- ingh. P., 1984. **Effect of some soil factors on uptake, persistence, adsorption and disease controlling potential of carbendazim**. Ph. D. Thesis, G.B. Pant University of Agriculture and Technology, Pantnagar, India.
- Sinha, A.P., K. Singh, A.N. Muckhopadhyay, 1988. **Soil fungicides**. Vol. II. CRC. Press. Inc. Florida, U.S.A.
- Solis. A.H., F. Flores. 1992. **Manejo integrado de las enfermedades radicales del manzano en Zacatlán, Puebla, México**. Tesis profesional, Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México.
- Sztejnberg, A., S. Freeman, Y. Chet, J. Katan, 1987. Control of *Rosellinia necatrix* in soil and in apple orchard by solarization and *Trichoderma harzianum*. **Plant. Dis.** 71:365-369.

- lale, S.L., W.L. Nelson, 1987. **Fertilidad de los suelos y fertilizantes**. UTEHA, S.A México.
- ansend, G.R., J.W. Heuberger, 1943. Methods for estimating losses caused by diseases in fungicide experiments. **Plant Disease Reporter** 27:340-343.
- ade, S.C., 1968. The influence of mineral nutrition on the susceptibility of apple trees to infection by *Trametes versicolor* Aust. **Exp. Agric. Anim. Husb.** 8:436-439.
- alker, J.C., 1975. **Patología vegetal**. Omega. Barcelona, España.
- ang, C.H. & F.E. Broadbent, 1972. Kinetics of losses of PCNB and DCNA in three California soils. **Soil. Sci. Soc. Am. Proc.** 36:742-745.
- Whitney, R.D., 1967. Comparative susceptibility of large and small spruce roots to *Polyporus tomentosus*. **Can. J. Bot.**, 45:2227-2229.

Cuadro 1. Comparación de los promedios de longitud de diámetro de brotes de manzano obtenidos en la quinta y sexta evaluaciones<sup>1</sup>. Zacatlán, Puebla, México. 1995.

Tratamientos	Longitud brotes(cm)		Diámetro de brotes <sup>2</sup> (cm)	
7. P+ Cal	49.67	a*	.630	a*
8. P- F2	49.65	a	.537	a b
5. P + Sol + F1	48.70	a	.575	a b
6. P + A + F1	48.69	a	.561	a b
3. P + F1	48.31	a	.632	a
9. P+ Sol + F2	46.68	a	.628	a
2. P + Sol	45.25	a	.591	a b
10. P + E + F1	45.14	a	.518	a b
1. TCP	43.96	a	.558	a b
4. P + A	39.12	a	.503	a b
11. TSP	9.20	b	.465	b

P = poda, TCP = testigo con sola poda, TSP = testigo sin poda, Sol = solarización F1 = fungicida triadimenol (Bayfidan 250 C E), F2 = mezcla de fungicidas PCNB + thiram, Cal = óxido de calcio, E = estiércol de bovino, A = alfalfa achicalada. \*Medias de tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ). 1 = datos promedios de la quinta y sexta evaluación realizadas a los 120 y 150 días después de la aplicación de tratamientos. 2 = mediciones realizadas en la parte media del brote

Cuadro 2. Comparación de medias de longitud, diámetro de brotes de manzano y porcentaje del área de ramas con corteza papelosa. Zacatlán, Puebla México. 1996.

Tratamientos	Longitud de brotes (cm) (sexta evaluación) <sup>2</sup>		Diámetro de brotes (cm) <sup>1</sup> (3ª evaluación) <sup>3</sup>		Media de infección % Corteza papelosa <sup>4</sup>
7 P + Cal	76.825	a*	.839	a*	5.00 a*
6. P + A + F1	70.375	a	.813	a	4.00 a
3 P - F1	69.500	a	.812	a	7.50 a b
5 P - Sol + F1	66.075	a	.786	a	3.00 a
10. P - E + F1	65.325	a	.735	a b	6.00 a
1. TCP	64.875	a	.752	a	11.50 a b
4. P - A	64.575	a	.726	a b	6.00 a
2. P + Sol	62.250	a	.718	a b	7.00 a
9 P - Sol + F2	60.450	a	.728	a b	7.50 a b
8 P - F2	58.475	a	.724	a b	6.00 a
11. TSP	23.000	b	.547	b	22.00 b

P = poda; TCP = testigo con sola poda, TSP = testigo sin poda; Sol = solarización, F1 = fungicida triadimenol, F2 = mezcla de fungicidas PCNB + thiram; Cal = óxido de calcio; E = estiércol de bovino, A = alfalfa achicalada. \*Medias de tratamientos con la misma letra son estadísticamente iguales, según la prueba de Tukey ( $\alpha = 0.05$ ); 1 = mediciones hechas en la parte media del brote; 2, 3, 4 = lecturas realizadas 170 días después de la aplicación de tratamientos

Cuadro 3. pH comparativo de tres lecturas en los tratamientos para el control de *T. versicolor*. Zacatlán, Puebla, México. 1995-1996.

Tratamiento	(1) Marzo 1995 pH	(2) Diciembre 1995 pH	(3) Diciembre 1996 pH
1. TCP	6.31	6.08	6.25
2. P - Sol	6.53	6.36	5.94
3. P + F1	6.01	6.26	5.96
4. P + A	6.52	6.19	6.10
5. P + Sol + F1	6.31	5.88	5.62
6. P + A + F1	6.40	6.20	5.84
7. P + Cal	6.43	7.00	7.86
8. P - F2	6.15	6.28	6.19
9. P - Sol + F2	6.48	6.38	5.72
10. P - E + F1	6.34	6.43	6.32
11. TSP	6.71	6.59	6.13

(1) Antes de aplicación de tratamientos por primera vez; (2) lectura 9 meses después de la aplicación, (3) lectura final; (P) = poda, TCP = testigo con solo poda; TSP = testigo sin poda, Sol = solarización, F1 = fungicida triadimenol; F2 = mezcla de fungicidas PCNB - thiram; Cal = óxido de calcio, E = estiércol de bovino; A = alfalfa achicalada.

Cuadro 4. Análisis del suelo después de dos años de tratamiento. Zacatlán, Pue.

TRAT.	MO %	N-INORG ppm	P ppm	Na ppm	K ppm	Ca ppm	Mg ppm	CIC mcg/100g
1 TCP	13.74	11.2	1.03	42	778	1859.02	79.53	56.54
2 P + Sol	13.74	15.4	2.98	42	768	1773.77	80.43	52.40
3 P + F1	13.05	12.6	3.23	44	722	1570.49	65.71	53.78
4 P - A	13.74	12.6	2.01	56	916	1921.31	101.2	57.23
5 P - Sol - F1	13.05	30.1	1.76	52	712	1645.90	66.31	57.92
6 P + A + F1	10.99	35.0	1.27	100	1728	2059.02	102.52	55.16
7 P - Cal	5.16	11.9	19.74	52	852	7484.15	92.76	59.99
8 P - F2	11.68	7.0	1.76	40	586	1367.21	55.04	52.40
9 P - Sol + F2	11.34	14.7	1.64	44	762	1265.57	59.10	55.85
10 P - E + F1	14.43	13.3	2.25	48	838	2255.74	167.07	53.09
11 TSP	10.99	8.4	3.35	42	694	1626.23	69.16	50.33

TCP = testigo con solo poda; TSP = testigo sin poda, Sol = solarización, F1 = Fungicida triadimenol; F2 = mezcla de fungicidas PCNB + Thiram; Cal = óxido de calcio; E = estiércol de bovino, A = alfalfa achicalada.

## DISCUSIÓN GENERAL

El Manzano es un frutal que se cultiva en diversas partes del país. destacando por la superficie dedicada a este. los estados de Chihuahua, Durango y Puebla. En todas las regiones donde se cultiva. el manejo agronómico del mismo es variable, así por ejemplo, en el norte del país. el frutal recibe podas de sanidad, de producción, se fertiliza y recibe riego, además de control de plagas y enfermedades, y el destino de la producción es la exportación o el consumo nacional directo; mientras que en las zonas productoras de Puebla y Veracruz se cultivan variedades de menor calidad, y el cultivo, en general, está totalmente desatendido, no es podado con regularidad. es de temporal y no se fertiliza, ni se le controlan las plagas y enfermedades, por lo cual, la producción aún cuando se considere buena, tiene como fin la industria.

En las diferentes zonas productoras, debido al clima y al manejo del frutal, las plagas y las enfermedades que predominan en cada región pueden ser diferentes y tanto el clima como los problemas fitosanitarios pueden reducir la vida productiva de los árboles; por ejemplo, las principales plagas en la región de Chihuahua son la palomilla de la manzana (*Cydia pomonella* (L.)) y el pulgón lanígero (*Eriosoma lanigerum* Haus.) y la enfermedad más importante son la cenicilla (*Podosphaera leucotricha* (Ell. & Ev.) E.S. Salmon) y el tizón de fuego (*Erwinia amylovora* (Burr.) Wislow *et al.*); mientras que en las regiones de Zacatlán y Libres. Puebla y Huayacocotla. Veracruz, las principales plagas son el pulgón lanígero (*E lanigerum*) y el frailecillo (*Macroductylus* spp.) y las enfermedades son la roña (*Venturia inaequalis* (Cooke) Wint.), cenicilla (*P leucotrica*), cánceres de ramas (*Nectria cinnabarina* (Tode) Fr.) y *Valsa* sp.), mal de hilachas (*Corticium koleroga* (Cooke) Höhn.) y pudriciones de raíz y tallo, tales como

*Trametes versicolor* (L. Fr ) Pilát y *Rosellinia necatrix* Prill. (Mendoza, 1993; Mendoza-Zamora *et al.*, 1999a) Para el desarrollo de estas enfermedades es determinante la humedad ambiental, y aunque en esta última región existe una mayor precipitación y humedad relativa más alta, manifestada evidentemente por muchos días con neblina, lo que favorece la penetración de los patógenos a la planta y su posterior desarrollo, asimismo, en esta región generalmente los árboles padecen estrés nutricional y no se practican podas sanitarias, condiciones que permiten el incremento de las enfermedades, por estas razones hay mayor diversidad y severidad de las plagas y enfermedades, de lo que se deduce que el manejo del huerto es uno de los principales factores que permiten que en esta última región el cultivo no sea productivo

Se identificó morfológicamente a *T. versicolor* como agente causal de la pudrición blanca del manzano, esta identificación fue complementada con espectrofotometría y por la producción externa de fenoloxidasas, lo cual dá la certeza de la identificación y coincide con lo reportado por otros autores (Covey *et al.*, 1981; Davidson *et al.*, 1938; Dilley & Covey, 1981; Fergus, 1960, Gilbertson & Ryvardeen, 1987; Kirk & Kelman, 1965; Nobles, 1965, Ryvardeen, 1991), los síntomas de corteza papelosa y pudrición blanca, entre otros, concuerdan con los reportados por Dilley & Covey (1981), Bergdahl & French (1985) y Covey *et al.* (1981) Por otra parte, el hongo se observó en una distribución amplia en las zonas de estudio y se prevee un incremento en incidencia y daños debido a la edad de los árboles y al manejo del cultivo

En los estudios *in vitro* se demostró (Mendoza-Zamora, 1999b) que el hongo puede crecer adecuadamente en diversos medios de cultivo, donde destacan PDA, MA y AVA, creciendo mejor en luz continúa. Respecto al pH se observó que crece adecuadamente entre 4 y 5.5, destacando el rango de 4 a 4.5, las temperaturas adecuadas para su desarrollo estan entre 20 y

35°C, lo cual indica que por este factor y el pH el hongo puede encontrarse en otras regiones frutícolas del país. Este patógeno fue inhibido *in vitro* por fungicidas del grupo de los triazoles y por la mezcla PCNB + thiram. Con base en el estudio de fungicidas y con el conocimiento del pH se definieron algunas de las prácticas de control evaluadas en el campo.

Se ha demostrado que *Trametes versicolor* aunque es considerado como un patógeno oportunista de heridas, es el causante de muerte descendente y pudriciones blancas de raíz, ramas y tallos en el manzano (Covey, 1990), atacando generalmente árboles maduros (Dilley & Covey, 1980; Kile & Wade, 1974), aunque Dilley & Covey (1981) y Covey *et al.* (1981) los han reportado atacando árboles jóvenes, todo lo anterior, también fue observado en las zonas muestreadas de las regiones de Zacatlán y Libres, Puebla y en Huayacocotla, Veracruz.

En los patógenos que penetran por heridas, tal como *T. versicolor* (Covey, 1990) aunque se desconoce con exactitud los factores que lo predisponen, Sinclair *et al.* (1987) señalan que los árboles dañados mecánicamente (podas y labores de cultivo) o por el frío y estresados por falta de agua son atacados y colonizados por este hongo; asimismo, Covey (1990) indica que es probable que también intervengan otros organismos pioneros para destruir las sustancias inhibitoras producidas por el árbol, y así pueda establecerse el patógeno, en el establecimiento de la enfermedad Kile (1976) señala la importancia de la época de la poda y el tiempo en que la herida queda susceptible al patógeno; mientras que Bergdahl & French (1985) señalan que para la aparición de la enfermedad influyen las heridas de la poda y otras provocadas por diversos factores, además de las deficiencias nutricionales y los cambios ambientales bruscos, además de estos, se ha observado que interactúan con la enfermedad la temperatura, la humedad ambiental y la del suelo y el pH del mismo, la presencia de algas y líquenes en las ramas y las deficiencias



nutricionales. Esto fue constatado ya que en las regiones donde se efectuó el estudio, se observó podas mal realizadas y sin que las heridas causadas por esta reciban tratamiento, heridas provocadas por las labores de otro cultivo, ya que generalmente el manzano se asocia con maíz, las cuales tampoco son protegidas, al no realizar podas y no evitar la presencia de algas y líquenes, que se desarrollan en árboles mal manejados, la presencia de estos puede provocar heridas por las cuales penetra el patógeno. También en las zonas de estudio se constató que el manzano no es fertilizado y aunado a que se asocia con otro cultivo el cual extrae también nutrientes del suelo, existe una nutrición deficiente de los árboles, los cuales por esa razón están más expuestos al ataque de diversos patógenos, entre ellos *T. versicolor*. Asimismo, los cambios ambientales bruscos tales como sequía al principio del año y excesos de humedad en la época de lluvias, favorecen el debilitamiento del árbol y ofrecen condiciones adecuadas para el desarrollo de la enfermedad.

En esta investigación, el manejo de los árboles incluyó la poda y la incorporación de enmiendas y fungicidas al suelo, así como la solarización, tal como se ha recomendado para este y otros patógenos (Sztejnberg *et al.*, 1987, Covey, 1990, Anónimo, 1991; Bonilla y Macías, 1994). Después de dos ciclos de evaluación se encontró que la poda y la adición de mejoradores al suelo o los fungicidas permitieron un mayor vigor de la planta, el cual evitó mayores daños, ya que de acuerdo con Bergdahl & French (1985), Wade (1968), Whitney (1967) y Covey (1990), los árboles debilitados por diferentes causas son más afectados por el patógeno que los árboles más vigorosos. La aplicación de cal en el primer ciclo favoreció el desarrollo del árbol al aumentar el pH hasta 7.0 y poner disponibles los fosfatos; sin embargo, en el segundo ciclo, al volver a aplicarse, incrementó el pH a 7.86 y esto provocó, según Tisdale & Nelson (1987), una disminución en la disponibilidad de fosfatos y otros microelementos, por lo que los árboles

mostraron menos vigor. Aunque en algunos de los mejores tratamientos se involucra a la solarización, su empleo no es recomendable por sus costos, y porque por sí sola no obtiene buenos resultados, lo mismo sucede con la incorporación de estiércol y la alfalfa; por lo que es mejor la utilización de poda + cal, siempre que la cantidad adicionada al suelo no aumente el pH arriba de 7.0, y los tratamientos poda + triadimenol y poda + PCNB + thiram.

En Estados Unidos, Anónimo (1991) considera que *T. versicolor* causa una enfermedad de poca importancia que ocurre en árboles viejos en la mayoría de las zonas productoras de ese país; pero en las regiones de nuestro estudio, debido al manejo de los huertos, es una enfermedad más importante. Actualmente, no existen muchas alternativas para el control de esta enfermedad, por lo que es mejor prevenirla manejando adecuadamente el huerto. El control biológico del patógeno no está estudiado, solo se reporta que en *Chondrostereum purpureum*, otro agente causal de pudrición de madera, la aplicación de *Trichoderma viride* Pers ex. Fr en las heridas ha logrado cierto éxito (Covey, 1990)

Por lo anterior, se recomienda que para el control de la enfermedad los huertos se deben manejar de tal forma que el crecimiento de los árboles cese antes del invierno, esto se logra balanceando la nutrición (Covey, 1990; Anónimo, 1991), evitar daños al árbol por otras labores de cultivo, no asociar otros cultivos con el manzano, realizar podas sanitarias y de producción, sin eliminar muchas ramas superiores del árbol, ya que las inferiores quedan expuestas a quemaduras de sol, por donde penetra *T. versicolor*; los cortes de poda deben hacerse al ras y quedar en ángulo para minimizar la acumulación de agua en esas superficies, los cortes más largos se deben efectuar paralelos a la rama que permanece y no deben realizarse en el verano, todos los cortes de poda deben protegerse con fungicidas (Covey, 1990) para evitar heridas por

otros organismos, es conveniente controlarlos. Una vez detectada la enfermedad, es necesario podar las partes dañadas o hacer cirugía, sellar heridas y quemar las ramas o árboles eliminados, evitar el estrés de humedad y nutricional, dándole la humedad y fertilización adecuada (Agrios, 1986; Walker, 1975). También es conveniente incorporar al suelo cal en tal cantidad que el pH se mantenga entre 6.8 y 7.0 y cuando sea necesario, aplicar fungicidas al suelo en una cantidad de agua suficiente para que entren en contacto con las raíces. En general, la enfermedad puede ser evitada, pero no eliminada cuando ya se estableció, manteniendo un buen vigor de los árboles.

De lo anterior se recomienda manejar adecuadamente los árboles, evitar estrés hídrico y nutricional, evitar heridas innecesarias y sellar las heridas de poda, así como incorporar al suelo enmiendas orgánicas que mejoren el vigor del árbol, la nutrición y la estructura del suelo e incrementen las cantidades de organismos antagonistas al patógeno, e incorporar cal en suelos que lo requieran para mantener el pH entre 6.8 y 7.0. En futuras investigaciones, es conveniente estudiar a los organismos antagonistas presentes y la posibilidad de incrementarlos al incorporar determinados sustratos al suelo; así como el estudio de agentes de control biológico con eficacia contra *T. versicolor* y que puedan aplicarse en la parte aérea del árbol. También es conveniente definir por cada región cuáles son los factores que predisponen la aparición y establecimiento de la enfermedad.

## LITERATURA CITADA

Agrios, G.N., 1986. **Fitopatología**. Limusa, México, D.F.

Anónimo, 1991. **Integrated pest management for apples & pears**. University of California, Publication 3340. U.S.A.

- Bergdahl, D.R., D.W. French. 1985. Association of wood decay fungi with decline & mortality of apple trees in Minnesota. **Plant Dis.** **69**:887-890
- Bonilla, J.E., P. Macias. 1994. **Manejo integrado de las enfermedades radicales del manzano (*Malus pumila* Mill.) en Zacatlán, Puebla.** Tesis Profesional. Univesidad Autónoma Chapingo. Chapingo. Edo. de México.
- Covey, R.P., H.J. Larsen, T.J. Fitzgerald, M.A. Dilley, 1981. *Coriolus versicolor* infection of young apple trees in Washington State. **Plant Dis.** **65**:280
- Covey, R.P. Jr.. 1990. Wood Rots. In: Jones, A.L. & H.S. Aldwinckle (eds.), **Compendium of apple and pear disease.** APS Press. St. Paul Minnesota.
- Davidson, R.W., W.A. Campbell, D.J. Blaisdell, 1938. Differentiation of wood-decaying fungi by their reactions on gallic or tannic acid medium. **J. Agr. Res.** **57**:683-695
- Dilley, M.A., R.P. Covey Jr., 1980. Survey of wood decay and associated hymenomycetes in central Washington apple orchards. **Plant Dis.** **64**:560-561
- Dilley, M.A., R.P. Covey Jr., 1981. Association of *Coriolus versicolor* with a dieback disease of apple trees in Washington State. **Plant Dis.** **65**:77-78

Fergus. C.L. . 1960. **Illustrated genera of wood decay fungi.** Burgess Publishing Co.  
Minneapolis

Gilbertson. R.L.. L. Ryvarden, 1987. **North American polypores. Vol. 2. Fungi flora.**  
Grónlands Grafiske. Oslo. Norway.

Kile. G.D., 1976. The effect of season of pruning and of time since pruning upon changes in  
apple sapwood and its susceptibility to invasion by *Trametes versicolor*. **Phytopathol. Z.**  
**87:231-240**

Kile, G.D., G.C. Wade. 1974. *Trametes versicolor* on apple. I. Host-pathogen relationship.  
**Phytopathol. Z. 81:328-338**

Kirk, T.K., A. Kelman, 1965. Lignin degradation as related to the phenoloxidases of selected  
wood-decaying Basidiomycetes. **Phytopathology 55:739-745**

Mendoza, Z.C.. 1993. Diagnóstico de enfermedades fungosas. Depto. de Parasitología Agrícola.  
Universidad Autónoma Chapingo. Chapingo, Edo. de México.

Mendoza-Zamora, C., H. Lozoya, M. Rosas, E. Pérez., 1999a. *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát  
causante de la pudrición blanca del manzano. **Revista Mexicana de Micología 15:49-58**

Mendoza-Zamora. C., H. Lozoya, E. Pérez. M. Rosas, 1999b. Comportamiento y control *in vitro*  
de *Trametes versicolor* (L.:Fr.) Pilát **Revista Mexicana de Micología 15:41-48**

- Nobles, M.K., 1965. Identification of cultures of wood-inhabiting Hymenomycetes. **Can. J. Bot.** 43:1097-1139
- Ryvarden, M.K., 1965. **Genera of polypores. Nomenclature and taxonomy. Synopsis fungorum.** Gronlands Grafiske. Oslo, Norway.
- Sinclair, W.A., H.H. Lyon, W.T. Johnson, 1987. **Diseases of trees and shrubs.** Cornell University Press.
- Sztejnberg, A., S. Freeman, Y. Chet, J. Katar, 1987. Control of *Rosellinia necatrix* in soil and in apple orchard by solarization and *Trichoderma harzianum*. **Plant Dis.** 71:365-369
- Tislade, S.L., W.L. Nelson, 1987. **Fertilidad de los suelos y Fertilizantes.** UTEHA, S.A. México.
- Wade, S.C., 1968. The influence of mineral nutrition on the susceptibility of apple trees to infection by *Trametes versicolor*. **Aust. Exp. Agric. Anim. Husb.** 8:436-439
- Walker, J.C., 1975. **Patología vegetal.** Omega. Barcelona, España.
- Whitney, R.D., 1967. Comparative susceptibility of large and small spruce roots to *Polyporus tomentosus*. **Can. J. Bot.** 45:2227-2229

## CONCLUSIONES GENERALES.

- 1 A través de diferentes formas de identificación se concluye que el agente causal de la pudrición blanca del manzano es *Trametes versicolor* (L :Fr.) Pilát.
- 2 Los síntomas típicos de la enfermedad son ampollamiento en ramas, corteza papelosa, pudrición blanca y muerte de árboles
- 3 El patógeno se encontró ampliamente distribuido en Zacatlán y Libres, Puebla y en Huayacocotla, Veracruz, con incidencias hasta de 90% en plantaciones mayores de 35 años de edad y con un evidente manejo deficiente
4. *Trametes versicolor* no fue exigente para su desarrollo *in vitro*, pues creció bien en diversos medios y no fue mayormente afectado por amplitudes de pH y temperatura.
5. Las prácticas culturales tuvieron mas influencia positiva sobre el desarrollo del hospedante que en la supresión del patógeno.
- 6 La mejor combinación para mejorar el aspecto del árbol fue podar y aplicar el fungicida triadimenol o podar y aplicar la mezcla de PCNB + thiram. Podar y aplicar cal da resultados satisfactorios, aunque con la restricción mencionada.