

OCURRENCIA DE HONGOS Y ETIOLOGÍA DE LA SECADERA DE LA FRESA CON DIFERENTES SISTEMAS DE MANEJO AGRONÓMICO

FUNGI PREVALENCE AND ETIOLOGY OF STRAWBERRY DRY WILT UNDER DIFFERENT CROP MANAGEMENT SYSTEMS

Luis F. Ceja-Torres¹, Gustavo Mora-Aguilera^{2*}, Daniel Téliz², Antonio Mora-Aguilera², Prometeo Sánchez-García³, Carlos Muñoz-Ruíz¹, Bertha Tlalpal-Bolaños⁴ y Rodolfo De La Torre-Almaraz⁵

¹CIIDIR-IPN-U-Michoacán. C.P. 59510. Jiquilpan, Michoacán. (lfceja@colpos.mx). ²Fitopatología (morag@colpos.mx) y ³Suelos. Colegio de Postgraduados. C.P. 56230. Montecillo, Estado de México.

⁴Parasitología Agrícola. Universidad Autónoma Chapingo. C.P. 56230. Chapingo, Estado de México. ⁵FES-IZTACALA, UNAM. C.P. 54090. Tlalnepantla, Estado de México.

RESUMEN

En México, la secadera de la fresa (*Fragaria x ananassa*) se ha asociado con un complejo fungoso demostrándose únicamente la implicación de *Fusarium oxysporum* (Fox). Por tanto, en el presente estudio se determinó la asociación de hongos y pseudohongos con la enfermedad en diferentes sistemas de manejo agronómico y se verificó la patogenicidad. Dos muestreos se realizaron en el ciclo 2002/03 y tres en 2003/04 en 16 localidades del Valle de Zamora, Michoacán, México. Se sembraron 2640 secciones de raíces y 365 de coronas necróticas y 400 secciones de tejido asintomático en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) y uno selectivo con antibióticos y fungicida PCNB (PARPH). Fox, *F. solani* (Fso), *Cylindrocarpon* sp. (Cyl), *Pythium aphanidermatum* (Pyt), *Phytophthora* sp. (Phy), *Rhizoctonia fragariae* (Rhi), *Verticillium albo-atrum* (Ver) y *Colletotrichum* sp. (Col) se asociaron a la secadera. Fox fue la especie más frecuente ($p \leq 0.05$) y la única que aumentó de floración a fructificación de 47 a 62% en raíz y 77 a 83% en corona. En plantaciones con acolchado plástico y riego por goteo (A+G), Fox disminuyó 18% respecto a suelo sin acolchado con riego por gravedad, mientras que Cyl aumentó 15% en A+G ($p \leq 0.05$). El suelo arcilloso y franco arcilloso contrastó en la detección de Fox (46.8 y 12.4%) y Rhi (9.1 y 43.7%). Síntomas de marchitez con necrosis en raíz, corona y muerte general se reprodujeron con inoculaciones individuales de Fox (100%), Pyt (100%), Phy (100%), Rhi (60%) y combinaciones de Fox con Rhi (100%), Pyt (100%) y Cyl (100%). Este es el primer reporte que implica a *Phytophthora* sp., *P. aphanidermatum* y *R. fragariae* como patógenos causales de secadera en México. La identificación morfológica de Fox y Rhi se confirmó por secuenciación de la región intergénica del rADN.

Palabras clave: *Fragaria*, complejo fungoso, acolchado plástico.

INTRODUCCIÓN

En México, las enfermedades de la raíz causadas por hongos y pseudohongos son las principales limitantes fitosanitarias del cultivo de la fresa

*Autor responsable.

Recibido: Junio, 2007. Aprobado: Enero, 2008.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 42: 451-461. 2008.

Abstract

In México, strawberry dry wilt (*Fragaria x ananassa*) has been associated with a fungus complex in which only the implication of *Fusarium oxysporum* (Fox) is evident. Therefore, in the present study the association of fungi and pseudofungi with the disease was determined in different systems of agronomical management, and pathogenicity was verified. Two samplings were made in the 2002/03 season and three in 2003/04 in 16 localities of the Valley of Zamora, Michoacán, México, where 2640 sections of roots and 365 of necrotic crowns were sown, along with 400 sections of asymptomatic tissue in potato-dextrose-agar (PDA) culture medium and a selective medium with antibiotics and PCNB (PARPH) fungicide. Fox, *F. solani* (Fso), *Cylindrocarpon* sp. (Cyl), *Pythium aphanidermatum* (Pyt), *Phytophthora* sp. (Phy), *Rhizoctonia fragariae* (Rhi), *Verticillium albo-atrum* (Ver) and *Colletotrichum* sp. (Col) were associated with the dry wilt. Fox was the most frequent species ($p = 0.05$) and the only one that showed an increase from flowering to fructification of 47 to 62% in root and 77 to 83% in crown. In plantations with plastic mulch and drip irrigation (A + G), Fox decreased by 18% with respect to unmulched soil with gravity irrigation, whereas Cyl increased by 15% in A + G ($p = 0.05$). The clay and clay loam soil contrasted in the detection of Fox (46.8 and 12.4%) and Rhi (9.1 and 43.7%). Symptoms of wilting with necrosis in root and crown and general death were reproduced with individual inoculations of Fox (100%), Pyt (100%), Phy (100%), Rhi (60%) and combinations of Fox with Rhi (100%), Pyt (100%) and Cyl (100%). This is the first report that implies *Phytophthora* sp., *P. aphanidermatum* and *R. fragariae* as causal pathogens of dry wilt in México. The morphological identification of Fox and Rhi was confirmed by sequencing of the intergenic region of the rDNA.

Key words: *Fragaria*, fungal complex, plastic mulch.

INTRODUCTION

In México, the diseases of the root caused by fungi and pseudofungi are the principal phytosanitary limitations of the strawberry crop (*Fragaria x ananassa* Duch.), dry wilt being outstanding, which

(*Fragaria x ananassa* Duch.) destacando la secadera la cual consiste en un marchitamiento y muerte gradual de la planta (Mendoza-Zamora y Romero-Cova, 1989; Castro y Dávalos, 1990; Quintero *et al.*, 1998). La enfermedad se ha asociado con nueve organismos sobresaliendo cuatro especies de *Fusarium*, *Verticillium dahliae*, *Rhizoctonia solani* y *Phytophthora* sp. (Castro y Dávalos, 1990; Mendoza, 1992; Quintero *et al.*, 1998). A la fecha, sólo se ha demostrado la patogenicidad de *F. oxysporum* (Martínez-Barrera y Castro-Mendoza, 1976; Castro y Dávalos, 1990), lo que es una limitante para el manejo efectivo de la secadera. Además, no hay estudios epidemiológicos que aporten una base racional para el control. Considerando la hipótesis de que la secadera es causada por un complejo de organismos que pueden tener una frecuencia y distribución diferencial en función al manejo del cultivo y textura del suelo, se desarrolló este trabajo con el objetivo de determinar la etiología de la secadera en la principal región fresera de Michoacán, México. La base fue un muestreo regional para medir el efecto inductivo del manejo agronómico y textura del suelo en la ocurrencia de la enfermedad para aportar criterios sólidos en un programa de manejo integrado del cultivo.

MATERIALES Y MÉTODOS

Muestreo regional

En 1414 ha de fresa se muestrearon 16 localidades del Valle de Zamora, Michoacán. Se recolectaron 500 plantas enfermas y 20 asintomáticas en cinco muestreos efectuados durante floración y fructificación en los ciclos de cultivo 2002/03 y 2003/04. El tamaño de muestra por cada muestreo fue 100 plantas con síntomas de secadera cantidad obtenida por ponderación con valores relativos de textura del suelo, superficie plantada, y manejo predominante (Cuadro 1). La textura se determinó en el laboratorio de Física de Suelos del Colegio de Postgraduados. Los cálculos se realizaron mediante la ecuación (Mora-Aguilera, 2000):

$$n_i = N \frac{(Sw_i)(Tw_i)(Mw_i)}{\sum_{i=1}^4 (Sw_i Tw_i Mw_i)}$$

donde, n_i = número de unidades (plantas) de muestreo por módulo de riego- i (tamaño de muestra), e $i=1, \dots, 4$; N = número total de unidades, definido por la capacidad de procesamiento en laboratorio; Sw_i = ponderación por la superficie del módulo- i , y $w=1, \dots, 3$; Tw_i = ponderación por la textura del suelo del módulo- i , y $w=1, \dots, 2$; Mw_i = ponderación por el manejo del módulo- i , y $w=1, \dots, 2$.

Las localidades muestreadas en cada módulo de riego fueron: módulo I) Zamora, Tamándaro, Jacona, Romero de Torres y Estancia

consists of wilting and gradual death of the plant (Mendoza-Zamora and Romero-Cova, 1989; Castro and Dávalos, 1990; Quintero *et al.*, 1998). The disease has been associated with nine organisms, with four outstanding species of *Fusarium*, *verticillium dahlia*, *Rhizoctonia solani* and *Phytophthora* sp. (Castro and Dávalos, 1990; Mendoza, 1992; Quintero *et al.*, 1998). Until now, only the pathogenicity of *F. oxysporum* has been demonstrated (Martínez-Barrera and Castro-Mendoza, 1976; Castro and Dávalos, 1990), which is a limitation for the effective management of dry wilt. Furthermore, there are no epidemiological studies that offer a rational base for its control. Considering the hypothesis that dry wilt is caused by a complex of organisms that can have a differential frequency and distribution as a function of crop management and soil texture, the present work was developed with the objective of determining the etiology of dry wilt in the principal strawberry region of Michoacán, México. This work was based on a regional sampling to measure the inductive effect of agronomical management and soil texture on the occurrence of the disease, to supply solid criteria in an integral management program of the crop.

MATERIALS AND METHODS

Regional sampling

In 1414 ha of strawberry, 16 localities were sampled in the Valley of Zamora, Michoacán. In five samplings, 500 diseased plants were collected along with 20 asymptomatic plants, carried out during flowering and fructification in the crop seasons 2002/03 and 2003/04. The size of the sample for each sampling was 100 plants with symptoms of dry wilt, amount obtained by weighting with relative values of soil texture, planted surface and predominant management (Table 1). The texture was determined in the laboratory of Soil Physics of the Colegio de Postgraduados. The calculations were made by means of the following equation (Mora-Aguilera, 2000):

$$n_i = N \frac{(Sw_i)(Tw_i)(Mw_i)}{\sum_{i=1}^4 (Sw_i Tw_i Mw_i)}$$

where, n_i = number of units (plants) of sampling per irrigation module- i (sample size), e $i=1, \dots, 4$; N = total number of units, defined by the capacity of processing in the laboratory; Sw_i = weighting by the surface of the module- i , and $w=1, \dots, 3$; Tw_i = weighting by the soil texture of the module- i , and $w=1, \dots, 2$; Mw_i = weighting by the management of the module- i , and $w=1, \dots, 2$.

The localities sampled in each irrigation model were: module I) Zamora, Tamándaro, Jacona, Romero de Torres and Estancia de

Cuadro 1. Tamaño de muestra y factores de ponderación para la recolección de plantas con secadera en cuatro módulos de riego del Distrito de Desarrollo No. 088, Michoacán, México.**Table 1. Sample size and weighting factors for the collection of plants with dry wilt in four irrigation modules of Development District No. 088, Michoacán, México.**

Módulo de riego	Superficie (ha)	Textura de suelo	Manejo agronómico	Producto de factores	Tamaño de muestra	Número de huertos
I	500 (3) [†]	A (2)	A (2)	3×2×2=12	54	10
II	305 (2)	A (2)	T (1)	2×2×1= 4	18	4
III	309 (2)	FA (1)	A (2)	2×1×2= 4	18	4
IV	300 (1)	A (2)	T (1)	1×2×1= 2	10	3
Total	1414			22	100	21

[†]Factores de ponderación de acuerdo a superficie: 1=1-300, 2=301-400, 3>400 ha. Textura de suelo: 1=franco arcilloso (FA); 2=arcilloso (A); manejo, 1=riego por gravedad (T), 2=acolchado con riego por goteo (A+G) o acolchado sin riego por goteo (A-G). En cada factor, el valor mayor de ponderación se otorgó por la importancia relativa en la inducción de la enfermedad.

de Amézcua; módulo II) Aquiles Serdán, La Ladera, Ojo de Agua y Atacheo; módulo III) El Llano, Los Cerritos, Villafuerte y Ario de Rayón; módulo IV) La Saucedá, La Rinconada y Atecurario.

Amézcua; module II) Aquiles Serdán, La Ladera, Ojo de Agua and Atacheo; module III) El Llano, Los Cerritos, Villafuerte and Ario de Rayón; module IV) La Saucedá, La Rinconada and Atecurario.

Caracterización cultural, morfológica y molecular

Los hongos y pseudohongos aislados se purificaron mediante cultivos monospóricos y por punta de hifa en agua-agar al 2% seguido de una inducción reproductiva en PDA y jugo V8-agar a 28±2 °C. La identificación se hizo con las claves de Nelson *et al.* (1983), Sneh *et al.* (1991), Erwin y Ribeiro (1996) y Crous (2002). Por la frecuencia alta de *F. oxysporum* y la hipótesis de que *R. fragariae* (hongo no consignado previamente en México) participa en el complejo patogénico, la identificación de estos organismos se confirmó molecularmente por amplificación y secuenciación de la región intergenética transcripcional (ITS) del gene rADN 18S desde DNA micelial.

La extracción de ADN de cada aislamiento se hizo adaptando el protocolo de Delaporta *et al.* (1983). La PCR se hizo con los oligonucleotidos ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') e ITS5 (5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3'). Se usó la mezcla de reacción descrita por White *et al.* (1990), con el siguiente programa de amplificación: 1 ciclo 95 °C, 1 min; 30 ciclos a 95 °C, 1 min; 57 °C, 1 min; 72 °C, 1 min; 1 ciclo a 72 °C, 12 min. Los productos de 700 pb fueron purificados por el método de Wizar (Promega, EE.UU.) y secuenciados en un Genetic Analyzer Modelo 3100 del Laboratorio de Bioquímica Molecular de la FES-IZTACALA-UNAM. Las secuencias obtenidas se compararon y alinearon con las disponibles en la base de datos del Banco de Genes del NCBI, EE.UU., usando BLAST y Clustal W de DNASTAR Ver. 3.1 (DNASTAR, Inc.).

Frecuencia de hongos y pseudohongos

Las plantas recolectadas se procesaron en laboratorio sembrándose 2640 fracciones de raíces y 365 secciones de coronas necróticas en PDA y PARPH (Quintero *et al.*, 1998). De plantas asintomáticas se

Cultural, morphological and molecular characterization

The isolated fungi and pseudofungi were purified by means of monosporic cultures and by hypha tip in agar-agar at 2% followed by a reproductive induction in PDA and V8 juice-agar at 28±2 °C. Identification was made with the codes of Nelson *et al.* (1983), Sneh *et al.* (1991), Erwin and Ribeiro (1996) and Crous (2002). Because of the high frequency of *F. oxysporum* and the hypothesis that *R. fragariae* (fungus not previously consigned in México) participates in the pathogenic complex, the identification of these organisms was molecularly confirmed by amplification and sequencing of the transcriptional intergenic region (ITS) of the gene rDNA 18S from mycelial DNA.

The extraction of DNA from each isolate was made by adapting the protocol of Delaporta *et al.* (1983). The PCR was made with the oligonucleotides ITS4 (5'-TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC-3') and ITS5 (5'-GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G-3'). The reaction mixture described by White *et al.* (1990) was used, with the following amplification program: 1 cycle 95 °C, 1 min; 30 cycles at 95 °C, 1 min; 57 °C, 1 min; 72 °C, 1 min; 1 cycle at 72 °C, 12 min. The products of 700 pb were purified by the Wizar method (Promega, U.S.A.) and were sequenced in a Genetic Analyzer Model 3100 of the Molecular Biochemistry Laboratory of the FES-IZTACALA-UNAM. The obtained sequences were compared and aligned with those available in the data base of the Gene Bank of the NCBI, U.S.A., using BLAST and Clustal W of DNASTAR Ver. 3.1 (DNASTAR, Inc.).

Frequency of fungi and pseudofungi

The collected plants were processed in the laboratory, sowing 2640 root fractions and 365 sections of necrotic crowns in PDA and PARPH (Quintero *et al.*, 1998). From asymptomatic plants, 200

procesaron 200 fracciones de raíces y 200 de coronas. Mediante pruebas de *t* ($p \leq 0.05$) se comparó la frecuencia de aislamientos por especie (SAS Institute, 1988).

Ensayos de patogenicidad

Se hicieron tres ensayos de patogenicidad con los organismos aislados e identificados *F. oxysporum* (Fox), *F. solani* (Fso), *R. fragariae* (Rhi), *Cylindrocarpon* sp (Cyl), *V. albo-atrum* (Ver), *Colletotrichum* sp. (Col), *Phytophthora* sp. (Phy) y *P. aphanidermatum* (Pyt). **Ensayo 1:** Un disco de PDA (diámetro 1 cm) con micelio de Fox y Pyt de 8 d, se colocó sobre la corona de tres plántulas de fresa CP 96-3 *in vitro*; los testigos recibieron un disco de PDA sin micelio. Las plántulas se incubaron en laboratorio con luz y oscuridad natural y temperatura ambiente (22 ± 2 °C). **Ensayo 2:** Plantas de fresa CP 96-3 de 8 a 12 hojas, producidas *in vitro* y trasplantadas en tierra estéril en macetas de 11×9 cm, fueron inoculadas como ya se indicó. Tres plantas (una por maceta) fueron inoculadas con Fox, Cyl y Pyt; y cinco con Phy, Rhi, Col, Ver y Fso. Para cada una de las siguientes combinaciones: Fox + Cyl, Fox + Pyt y Fox + Rhi se inocularon tres plantas. **Ensayo 3:** Cinco plantas en estado de amacollamiento de la variedad Camarosa, certificadas como sanas por el Departamento de Agricultura de EE.UU., se inocularon con 1 g de granos de sorgo (*Sorghum bicolor*) esterilizados y colonizados con *F. oxysporum* (Wang y Jeffers, 2000). Un mismo número de plantas testigo se inocularon con 1 g de granos de sorgo estéril sin micelio. En el segundo y tercer ensayo las plantas se mantuvieron en invernadero a capacidad de campo con temperaturas entre 15 °C y 35 °C. Los organismos que indujeron los síntomas de secadera fueron reaislados para verificar su identidad y cumplir con los postulados de Koch.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Muestreo regional

En las 16 localidades muestreadas se detectó la secadera asociada con complejos fungosos, lo cual concordó con lo reportado para Guanajuato, Michoacán, Edo. de México y Sinaloa (Mendoza-Zamora y Romero-Cova, 1989; Castro y Dávalos, 1990; Quintero *et al.*, 1998). La frecuencia promedio de cada tipo de aislamiento en raíz y corona fue similar en cada localidad, excepto en Fox y Cyl, los cuales se detectaron en mayor cantidad ($p \leq 0.05$) en corona y raíz (Cuadro 2).

Caracterización cultural, morfológica y molecular

Del total de aislamientos de raíz (2640) y corona (365) se identificaron y caracterizaron ocho especies fungosas: 1) *F. oxysporum* Snyder y Hansen produjo colonias rosa púrpura que tornaron violeta, microconidios ovoides y hialinos producidos en fíalides

root fractions were processed, as well as 200 from crowns. By means of *t* tests ($p \leq 0.05$), the frequency of isolates per species was compared (SAS Institute, 1988).

Assays of pathogenicity

Three assays of pathogenicity were made with the isolated and identified organisms *F. oxysporum* (Fox), *F. solani* (Fso), *R. fragariae* (Rhi), *Cylindrocarpon* sp (Cyl), *V. albo-atrum* (Ver), *Colletotrichum* sp. (Col), *Phytophthora* sp. (Phy) and *P. aphanidermatum* (Pyt). **Assay 1:** A disc of PDA (diameter 1 cm) with mycelia of Fox and Pyt of 8 d, was placed over the crown of three strawberry seedlings CP 96-3 *in vitro*; the controls received a disc of PDA without mycelia. The seedlings were incubated in the laboratory with natural light and darkness and room temperature (22 ± 2 °C). **Assay 2:** Strawberry plants CP 96-3 of 8 to 12 leaves, produced *in vitro* and transplanted in sterile soil in pots measuring 11×9 cm, were inoculated as was previously indicated. Three plants (one per pot) were inoculated with Fox, Cyl and Pyt; and five with Phy, Rhi Col, Ver and Fso. For each of the following combinations: Fox + Cyl, Fox + Pyt and Fox + Rhi, three plants were inoculated. **Assay 3:** Five plants in the sprouting stage of the Camarosa variety, certified as healthy by the U.S. Department of Agriculture, were inoculated with 1 g of sorghum grains (*Sorghum bicolor*), sterilized and colonized with *F. oxysporum* (Wang and Jeffers, 2000). The same number of control plants were inoculated with 1 g of sterile sorghum grains without mycelia. In the second and third assays, the plants were maintained in the greenhouse at field capacity with temperatures ranging between 15 °C and 35 °C. The organisms which induced the symptoms of dry wilt were re-isolated to verify their identity and comply with the postulates of Koch.

RESULTS AND DISCUSSION

Regional sampling

In the 16 localities that were sampled, the presence of dry wilt was detected associated with fungal complexes, which coincided with what was reported for Guanajuato, Michoacán, State of México and Sinaloa (Mendoza-Zamora and Romero-Cova, 1989; Castro and Dávalos, 1990; Quintero *et al.*, 1998). The average frequency of each type of isolate in root and crown was similar in each locality, except in Fox and Cyl, which were detected in a higher quantity ($p \leq 0.05$) in crown and root (Table 2).

Cultural, morphological and molecular characterization

Of the total of root (2640) and crown (365) isolates, eight fungal species were identified and characterized: 1) *F. oxysporum* Snyder and Hansen produced purple pink colonies that turned violet, ovoid microconidia

Cuadro 2. Porcentaje promedio de hongos y pseudohongos aislados de plantas de fresa con síntomas de secadera en 16 localidades del Valle de Zamora, Michoacán, México. Ciclos 2002/03 y 2003/04.**Table 2. Average percentage of fungi and pseudofungi isolated from strawberry plants with symptoms of dry wilt in 16 localities of the Valley of Zamora, Michoacán, México. Seasons 2002/03 and 2003/04.**

Localidades	Fox		Fso		Rhi		Cyl		Ver		Col		Phy		Pyt	
	R [†]	C	R	C	R	C	R	C	R	C	R	C	R	C	R	C
Tamándaro	60 [‡]	54	5	5	8	8	16	13	0	0	0	0	23	30	5	0
Jacona	43	40	0	0	6	8	25	5	1	0	0	0	7	25	10	8
Los Cerritos	44	70	1	5	12	20	23	5	5	0	0	0	0	0	2	0
Villafuerte	42	69	0	0	0	10	35	0	0	0	0	0	0	10	0	6
Ario de Rayón	70	76	4	0	2	16	8	3	0	0	0	0	23	10	6	10
El Llano	42	85	6	0	3	5	3	0	5	0	0	0	31	26	0	0
La Ladera	50	60	4	0	8	0	21	0	3	0	0	0	7	0	6	13
Ojo de agua	42	73	1	0	13	10	35	0	5	0	0	0	8	10	0	0
Atacheo	49	64	5	5	11	6	17	15	4	6	0	0	8	13	4	0
A. Serdán	55	73	0	5	23	13	13	10	0	0	0	0	0	22	12	5
R. de Torres	57	65	6	0	7	20	19	5	8	0	0	0	18	30	2	0
Zamora	66	100	5	0	11	0	7	0	3	0	5	0	18	0	2	0
Atecucario	59	90	5	0	5	10	13	0	3	0	0	0	0	0	18	23
La Rinconada	52	70	3	0	9	10	26	10	3	0	0	0	17	16	0	0
La Saucedá	54	80	8	0	0	0	20	20	0	0	0	0	3	0	3	0
E. de Amézcua	48	75	5	5	0	5	24	15	0	0	0	0	20	30	3	0
Promedio	52	71	4	2	7	9	21	6	3	0.4	0.3	0	11	14	5	4

[†]R= Aislamientos de raíz; C= aislamientos de corona.

[‡]Porcentajes calculados para hongos en PDA y pseudohongos (Phy y Pyt) en PARPH.

cortas, macroconidios ligeramente curvados con 3 a 5 septos, 21 a 43 μm de longitud y 3 a 5 μm de ancho y clamidosporas terminales o intercalares. 2) *F. solani* Snyder y Hansen formó crecimientos miceliales blancos, microconidios de 6 a 16 μm , macroconidios de 28 a 36 μm y clamidosporas solas o apareadas. 3) *R. fragariae* Husain y McKeen exhibió colonias blancas, con ramificaciones desarrolladas en ángulo recto (90°) e hifas binucleadas con diámetro promedio de 8.4 μm (Figura 1A). 4) *Cylindrocarpon* sp. presentó colonias café oscuro, de crecimiento lento, conidióforos cortos y macroconidios cilíndricos, generalmente con 1 a 3 septos y 37 a 63 μm de longitud. 5) *V. albo-atrum* Reinke y Berthier produjo colonias blanco amarillentas o cremosas, hifas ramificadas en verticilo y conidios unicelulares generalmente ovoides. No se observaron clamidosporas o microesclerocios que lo diferencian de *V. dahliae* (Maas, 1998). 6) *Colletotrichum* sp. formó colonias blanco rosadas y conidios unicelulares, ovoides o cilíndricos e incoloros o de color salmón cuando se observaron unidos en masas. 7) *Phytophthora* sp. exhibió colonias blancas; algunas cepas produjeron oogonios con anteridios paráginos y otras que no produjeron estructuras sexuales sólo formaron esporangios globosos sin papila o semipapilados. 8) *Pythium aphanidermatum* presentó micelio blanco, abundante y de crecimiento rápido; las oosporas fueron apleróticas

and hyalines produced in short phialides, slightly curved macroconidia with 3 to 5 septa, 21 to 43 μm in length and 3 to 5 μm in width and terminal or intercalary chlamydospores. 2) *F. solani* Snyder and Hansen formed white mycelia growths, microconidia of 6 to 16 μm , macroconidia of 28 to 36 μm and single or coupled chlamydospores. 3) *R. fragariae* Husain and McKeen exhibited white colonies, with branches developed at a right angle (90°) and binucleate hyphae with an average diameter of 8.4 μm (Figure 1A). 4) *Cylindrocarpon* sp. presented dark brown colonies, of slow growth, short conidiophores and cylindrical macroconidia, generally with 1 to 3 septa and 37 to 63 μm length. 5) *V. albo-atrum* Reinke and Berthier produced cream colored or yellowish white colonies, hypha branched in verticils and unicellular conidia that were generally ovoid. No chlamydospores or microsclerotia were observed that distinguish it from *V. dahlia* (Maas, 1998). 6) *Colletotrichum* sp formed pinkish white colonies and unicellular, ovoid or cylindrical and colorless or salmon colored conidia when they were observed united in masses. 7) *Phytophthora* sp. exhibited white colonies; some strains produced oogoniae with paraginous antheridia and others that did not produce sexual structures, but only formed globular sporangia or sporangia without papillae or that are semipapillate. 8) *Pythium aphanidermatum*

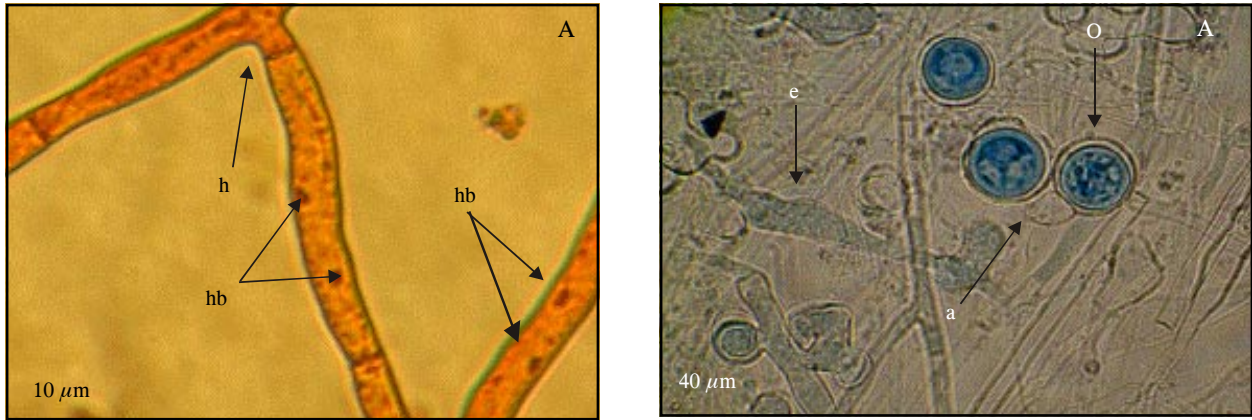


Figura 1. Microfotografías (40X) de *Rhizoctonia fragariae*: (A): hifas en ángulo recto de 90° (h) e hifas binucleadas (hb) y *Pythium aphanidermatum*; (B): oosporas apleróticas en oogonios (o) con anteridios (a) en forma de campana y esporangios (e) filamentosos inflados.

Figure 1. Microphotographs (40X) of *Rhizoctonia fragariae*: (A): hypha at a right angle of 90° (h) and binucleate hypha 8hb) and *Pythium aphanidermatum*; (B): aplerotic oospores in oogons (o) with bell shaped antheridia (a) and inflated filamentous sporangia (e).

en oogonios esféricos, con anteridios en forma de campana; los esporangios filamentosos e inflados tuvieron tamaño variable (Figura 1B).

Las secuencias de dos aislados de Fox, 100% homólogos entre sí (números de acceso: DQ979012 y DQ452072), tuvieron una homología de 99% y valor de similitud de 959 con la mayoría de las secuencias de *Fusarium oxysporum*, raza F-H 6.5, disponibles en el Genbank. Las secuencias de dos aislados de Rhi, 100% homólogos entre sí (números de acceso: DQ979011 y DQ452073), tuvieron una homología de 98% y un valor de similitud de 1151 con la mayoría de las secuencias del teleomorfo de *Rhizoctonia fragariae* del grupo de anastomosis AG-A. Las secuencias fueron depositadas en el banco de genes del NCBI con los números de acceso referidos.

Para asociación con la secadera, sólo Fox se había reportado en Michoacán (Téliz *et al.*, 1986; Mendoza, 1992). Por tanto, Fso, Rhi, Cyl, Ver y Pyt se suman a *F. verticillioides*, *F. rigidiuscula*, *V. dahliae* y *R. solani* reportados para ese Estado (Téliz *et al.*, 1986; Mendoza, 1992). Otras especies, *F. roseum*, *Phoma* sp., *Ascochyta* sp. y *Alternaria* sp., reportadas para Guanajuato no se encontraron en este trabajo (Mendoza-Zamora y Romero-Cova, 1989; Castro y Dávalos, 1990; Quintero *et al.*, 1998). Esta diversidad de organismos asociados a una enfermedad de la raíz es comprensible ya que pueden aislarse organismos saprobióticos del rizoplaneo, algunos de ellos no patogénicos (Quilambaqui-Jara *et al.*, 2004). Además, la asociación de nuevas especies con la secadera se podría explicar por la importación de material vegetativo para siembra correspondiente a nuevas variedades de EE.UU. Este podría ser el caso

presented mycelia that were white, abundant and of rapid growth; the oospores were aplerotic in spherical oogonia, with bell shaped antheridia; the filamentous and inflated sporangia had variable size (Figure 1B).

The sequences of two isolates of Fox, 100% homologous to each other (access numbers: DQ979012 and DQ452072), had a homology of 99% and similarity value of 959 with the majority of the sequences of *Fusarium oxysporum*, race F-H 6.5, available in the Genebank. The sequences of the two isolates of Rhi, 100% homologous to each other (access numbers: DQ979011 and DQ452073), had a homology of 98% and a similarity value of 1151 with most of the sequences of the teleomorph of *Rhizoctonia fragariae* of the group of anastomosis AG-A. The sequences were deposited in the gene bank of the NCBI with the referred access numbers.

For association with dry wilt, only Fox had been reported in Michoacán (Téliz *et al.*, 1986; Mendoza, 1992). Therefore Fso, Rhi, Cyl, Ver and Pyt are included with *F. verticillioides*, *F. rigidiuscula*, *V. dahliae* and *R. solani* reported for that State (Téliz *et al.*, 1986; Mendoza, 1992). Other species, *F. roseum*, *Phoma* sp., *Ascochyta* sp. and *Alternaria* sp., reported for Guanajuato, were not found in the present work (Mendoza-Zamora and Romero-Cova, 1989; Castro and Dávalos, 1990; Quintero *et al.*, 1998). This diversity of organisms associated to a root disease is understandable, given that saprobiotic organisms can be isolated from the rhizoplane, some of which are not pathogenic (Quilambaqui-Jara *et al.*, 2004). Furthermore, the association of new species with dry wilt could be explained by the importation of plant

de *V. albo-atrum* reportado en ese país (Maas, 1998) y que figuró por primera vez en este estudio.

Frecuencia de hongos y pseudohongos

Los hongos más frecuentes fueron Fox, Cyl y Pyt con 182, 155 y 82% para el ciclo de cultivo 2002/03 y 656, 256 y 82% para el ciclo 2003/04 (Cuadro 3). Los menos frecuentes fueron Rhi, Fso, Col y Ver (2 a 49%). Con excepción de Fox, las frecuencias de los organismos decrecieron de floración a fructificación, probablemente debido a diferencias en la densidad de inóculo en cada estado fenológico (Castro y Dávalos, 1990) o debido a cambios en la susceptibilidad de la planta por efecto de la variedad, edad o competencia entre organismos con predominancia de Fox. En el ciclo 2003/04 fue evidente la mayor presencia de Fox en corona (67 a 83%) que en raíz (47 a 62%), mientras que Cyl fue más frecuente en esta última (22 a 52%) (p≤0.05) (Cuadro 3). Fox y Cyl exhibieron crecimiento vigoroso en PARPH, por lo que es posible que hayan limitado el crecimiento adecuado de los pseudohongos. Aunque se esperaba una variabilidad marcada en la detección de microorganismos entre ciclos

material for sowing corresponding to new varieties from the U.S.A. This could be the case of *V. albo-atrum* reported there (Maas, 1998) and which appeared for the first time in this study.

Frequency of fungi and pseudofungi

The most frequent fungi were Fox, Cyl and Pyt with 182, 155 and 82% for the 2002/03 growing season and 656, 256 and 82% for the 2003/04 season (Table 3). The least frequent were Rhi, Fso, Col and Ver (2 to 49%). With the exception of Fox, the frequencies of the organisms decreased from flowering to fructification, probably due to differences in the density of the inocula present in each phenological stage (Castro and Dávalos, 1990) or due to changes in the susceptibility of the plant from the effect of the variety, age or competition among organisms with predominance of Fox. In the 2003/04 growing season, it was evident that the presence of Fox was higher in the crown (67 to 83%) than in the root (47 to 62%), whereas Cyl was more frequent in root (22 to 52%) (p≤0.05) (Table 3). Fox and Cyl exhibited vigorous growth in PARPH, therefore they may have limited the adequate growth of the

Cuadro 3. Porcentaje promedio de hongos y pseudohongos aislados de plantas de fresa con síntomas de secadera, en el Valle de Zamora, Michoacán, México. Ciclos 2002/03-2003/04.
Table 3. Average percentage of fungi and pseudofungi isolated from strawberry plants with symptoms of dry wilt, in the Valley of Zamora, Michoacán, México. Seasons 2002/03-2003/04.

Orga- nismos aislados	Papa dextrosa agar								PARPH [†]								
	Raíz (%)				Corona (%)				Raíz (%)				Corona (%)				TA [§]
	O [‡]	F	A	M	O	F	A	M	O	F	A	M	O	F	A	M	
Ciclo de cultivo 2002/03																	
Fox	43	-	60	-	-	-	59	-	20	-	0	-	-	-	-	-	82
Fso	6	-	18	-	-	-	25	-	0	-	0	-	-	-	-	-	49
Cyl	38	-	8	-	-	-	11	-	68	-	30	-	-	-	-	-	155
Rhi	13	-	7	-	-	-	0	-	0	-	0	-	-	-	-	-	20
Ver	0	-	4	-	-	-	0	-	0	-	0	-	-	-	-	-	4
Pyt	0	-	0	-	-	-	0	-	12	-	70	-	-	-	-	-	82
Col	0	-	3	-	-	-	5	-	0	-	0	-	-	-	-	-	8
Ciclo de cultivo 2003/04																	
Fox	47	53	-	62a [¶]	77	67	-	83a	28	34	-	53a	39	48	-	65a	656
Fso	1	0	-	0c	1	0	-	0b	0	0	-	0c	0	0	-	0c	2
Cyl	15	33	-	26b	6	8	-	0b	32	52	-	22ab	21	29	-	12b	256
Rhi	17	2	-	7bc	10	6	-	3b	0	0	-	0c	0	0	-	0c	45
Ver	0	4	-	3c	0	0	-	0b	0	0	-	0c	0	0	-	0c	7
Pyt	6	0	-	0c	2	0	-	0b	6	3	-	6c	6	3	-	8bc	40
Phy	0	0	-	0c	0	0	-	0b	16	8	-	18bc	18	18	-	16bc	94

[†]Medio de cultivo a base de pimaricina, ampicilina, rifamicina, penta-cloro-nitro-benceno (PCNB) e himexazol.

[‡]O= Muestreo realizado en octubre (floración); F= febrero, A= abril y M= mayo (fructificación).

[§]Porcentaje total de aislamientos.

[¶]Medias con distinta literal en una columna, son estadísticamente diferentes (Tukey, p≤0.05).

de producción debido a la selección de diferentes plantaciones y técnicas de laboreo del suelo, los resultados fueron consistentes entre ambos ciclos con excepción de Fso y Pyt. La frecuencia alta de Fox concordó con reportes para Irapuato (68%) y Zamora (70%) (Téliz *et al.*, 1986; Mendoza-Zamora y Romero-Cova, 1989; Castro y Dávalos 1990). Similarmente, la frecuencia baja de Ver y Rhi coincidió con reportes de Téliz *et al.* (1986) para *V. dahliae* en el Valle de Zamora y de *R. solani* en Irapuato, Guanajuato (36%) y Zamora, Michoacán (24%) (Téliz *et al.*, 1986; Mendoza-Zamora y Romero-Cova, 1989). De plantas asintomáticas se aislaron con valores totales a Fox (75%), Cyl (17%), Rhi(16%), Phy (9%), y Pyt (5%), lo cual sugiere la necesidad de un nivel alto de infección para la expresión de la enfermedad o que la detección ocurrió durante el proceso de incubación.

Los sistemas de manejo influyeron en la abundancia de los organismos asociados con mayor frecuencia a la secadera. Fox fue más predominante en suelo con acolchado y riego por goteo aunque Cyl fue el único significativamente diferente ($p \leq 0.05$) (Figura 2).

La temperatura puede determinar la frecuencia de las especies y suprimir diferencialmente sus poblaciones (Michereff *et al.*, 2005). El acolchado puede contribuir a la inocuidad y certificación del cultivo bajo la modalidad de buenas prácticas agrícolas (BPA); sin embargo, modifica la humedad, temperatura y ventilación del suelo, por lo que su potencial inductivo o restrictivo al parasitismo debe estudiarse (Mbagwu, 1991). En suelos arcillosos (Cuadro 4), hubo también mayores poblaciones de Fox (46.8%) y Cyl (38.7%), posiblemente debido a la capacidad del suelo para retener más humedad, lo cual favorece el desarrollo de estos hongos (Michereff *et al.*, 2005).

Otros factores que afectan la sobrevivencia del inóculo como la frecuencia de riego, compactación y contenido nutricional, no fueron evaluados. Rhi tuvo mayor abundancia en suelo con textura franco arcillosa (43.7%); este hongo es más agresivo en suelos moderadamente húmedos, condición común en suelos francos o arenosos (Michereff *et al.*, 2005).

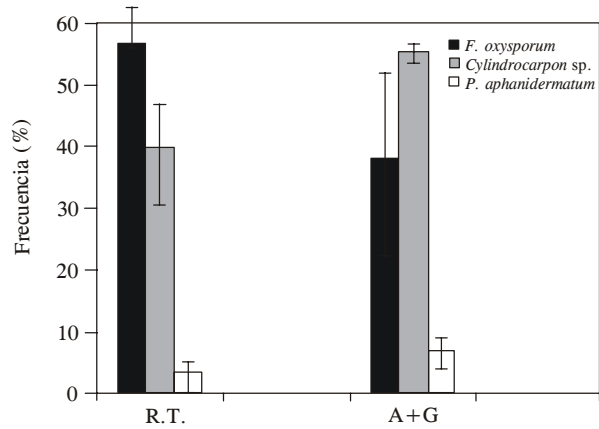


Figura 2. Frecuencia (%) de *F. oxysporum*, *Cylandrocarpon sp.* y *P. aphanidermatum* en 650 aislamientos de raíz de fresa con síntomas de secadera, cultivada con riego tradicional por gravedad (R.T.) y acolchado plástico con goteo (A+G) en el Valle de Zamora, Michoacán, México. Ciclo 2002/03.

Figure 2. Frequency (%) of *F. oxysporum*, *Cylandrocarpon sp.* and *P. aphanidermatum* in 650 isolates of root of strawberry with symptoms of dry wilt, cultivated with traditional gravity irrigation (R.T.) and plastic mulch with drip (A + G) in the Valley of Zamora, Michoacán, México. Season 2002/03.

pseudofungi. Although a marked variability was expected in the detection of microorganisms between production cycles due to the selection of different plantations and soil cultivation techniques, the results were consistent between the two cycles with the exception of Fso and Pyt. The high frequency of Fox coincided with reports for Irapuato (68%) and Zamora (70%) (Téliz *et al.*, 1986; Mendoza-Zamora and Romero-Cova, 1989; Castro and Dávalos, 1990). Similarly, the low frequency of Ver and Rhi coincided with reports of Téliz *et al.* (1986) for *V. dahlia* in the Valley of Zamora and of *R. solani* in Irapuato, Guanajuato (36%) and Zamora, Michoacán (24%) (Téliz *et al.*, 1986; Mendoza-Zamora and Romero-Cova, 1989). From asymptomatic plants, total values were obtained from isolates of Fox (75%), Cyl (17%),

Cuadro 4. Porcentaje promedio de hongos y pseudohongos aislados de plantas de fresa en floración y con síntomas de secadera en dos texturas de suelo. Valle de Zamora, Michoacán, México. Ciclo 2002/03.

Table 4. Average percentage of fungi and pseudofungi isolated from strawberry plants in flower and with symptoms of dry wilt in two soil textures. Valley of Zamora, Michoacán, México. Season 2002/03.

Textura de suelo	Fox		Cyl		Rhi		Pyt	
Franco arcillosa	12.4	(11.8) [†]	33.3	(0.0)	43.7	(14.71)	21.7	(21.3)
Arcillosa	46.8	(6.7)	38.7	(10.8)	9.1	(11.6)	11.2	(7.3)

[†]Porcentaje promedio de aislamientos y desviación estándar (en paréntesis) obtenidos de dos localidades con suelo franco arcillosa y cinco con suelo arcilloso.

Ensayos de patogenicidad

En el primer ensayo, Fox y Pyt fueron patogénicos y causaron 100% de mortalidad a 6 d de la inoculación, aunque los síntomas de marchitez se expresaron desde el día 3. En el segundo ensayo, los síntomas típicos fueron inducidos en 100% de las plantas por Fox, Pyt, Phy, Fox + Pyt, Fox + Rhi y Fox + Cly, y en 60% en Rhi. Inicialmente se presentó necrosis en raíz y corona y la secadera se observó entre 5 a 8 d después de la inoculación. Ninguna de las inoculaciones combinadas con Fox modificó la expresión del daño, ya que el tipo, severidad y velocidad de síntomas fueron similares a los causados por cada patógeno inoculado por separado. En California, EE.UU., *V. albo-atrum* causa la marchitez de la fresa y *Cylindrocarpon* sp. es considerado un patógeno poco agresivo al causar la pudrición negra de raíz en asociación con *Pythium* sp., *R. fragariae* e *Idriella lunata* (Hancock, 1999; Douglas, 2000). En estas pruebas Ver y Cyl, al igual que Col y Fso, no reprodujeron la enfermedad por lo que denotan actividad saprofitica. Este supuesto se ha demostrado para aislamientos de *F. solani* (Quilambaqui-Jara *et al.*, 2004). Sin embargo, no se descarta que las condiciones experimentales como la densidad de inóculo y método de inoculación utilizados influyeran en estos resultados. Esta posibilidad es mayor para Cyl ya que su alta frecuencia en campo permite hipotetizar que este organismo, considerado poco agresivo (Hancock, 1999; Douglas, 2000), interactúe en la fase inicial de la enfermedad con Fox. Esto podría explicar su mayor presencia en raíz que en corona y que al final, en fructificación, no haya predominado (Cuadro 2 y 3).

En el tercer ensayo, 100% de la plantas del cultivar Camarosa iniciaron los síntomas a los 23 d y se marchitaron 30 d después de la inoculación con Fox. La corteza de la raíz mostró necrosis y la corona presentó lesiones café oscuro en tejido vascular. El periodo de incubación excedió aproximadamente 23 d respecto a los otros ensayos, lo cual puede atribuirse más al método de inoculación que al genotipo o edad de las plantas. Este periodo podría ser el más representativo en condiciones de campo. Si se considera que la mayor incidencia de secadera ocurre durante la segunda fase de fructificación, se podría sugerir que el período crítico de infección sucede aproximadamente un mes antes de este evento fenológico, lo cual es importante para determinar el inicio de un programa efectivo de control. En los tres ensayos, los hongos que causaron enfermedad fueron reaislados y comparados morfológicamente con los inoculados, cumpliéndose los postulados de Koch. Las plantas testigo no manifestaron síntomas.

Rhi (16%), Phy (9%), and Pyt (5%), which suggests the need of a high level of infection for the expression of the disease or that detection occurred during the incubation process.

The management systems influenced the abundance of the organisms associated with highest frequency to dry wilt. Fox was more predominant in soil with plastic mulch and drip irrigation, although only Cyl was significantly different ($p \leq 0.05$) (Figure 2).

Temperature can determine the frequency of the species and differentially suppress their populations (Michereff *et al.*, 2005). The plastic mulch may contribute to the innocuousness and certification of the crop under the modality of good agricultural practices (GAP); however, it modifies moisture, temperature and ventilation of the soil, thus its inductive or restrictive potential toward parasitism should be studied (Mbagwu, 1991). In clay soils (Table 4), there were also populations of Fox (46.8%) and Cyl (38.7%) possibly due to the capacity of the soil to retain more moisture, which favors the development of these fungi.

Other factors that affect the survival of the inocula should be considered, such as irrigation frequency, compacting and nutritional content, were not evaluated. Rhi had major abundance in soils with clay loam soil (43.7%). This fungus is more aggressive in moderately moist soils, a common condition in loam or sandy soils (Michereff *et al.*, 2005).

Pathogenicity assays

In the first assay, Fox and Pyt were pathogenic and caused 100% mortality 6 d after inoculation, although the symptoms of wilting were expressed after day 3. In the second assay, the typical symptoms were induced in 100% of the plants by Fox, Pyt, Phy, Fox + Pyt, Fox + Rhi and Fox + Cly, and in 60% in Rhi. Necrosis appeared initially in root and crown, and dry wilt was observed between 5 and 8 d after inoculation. None of the inoculations combined with Fox modified the expression of the damage, given that the type, severity and velocity of symptoms were similar to those caused by each separately inoculated pathogen. In California, U.S.A., *V. albo-atrum* causes dry wilt of strawberry and *Cylindrocarpon* sp. is considered a non-aggressive pathogen when it causes black root rot in association with *Pythium* sp., *R. fragariae* and *Idriella lunata* (Hancock, 1999; Douglas, 2000). In these tests, Ver and Cyl, as with Col and Fso, did not reproduce the disease, thus they denote saprophytic activity. This assumption has been demonstrated for isolates of *F. solani* (Quilambaqui-Jara *et al.*, 2004). However, there is a possibility that the experimental conditions such as the density of the inoculum and the inoculation method

CONCLUSIONES

La secadera de la fresa se encontró distribuida en todas las localidades muestreadas del Valle de Zamora, Michoacán.

Fso, Cyl, Ver, Col, Fox, Phy, Pyt y Rhi se asociaron con la secadera; sin embargo, únicamente Fox, Phy, Pyt y Rhi fueron patogénicos. *P. aphanidermatum* y *R. fragariae* se reportan por primera vez en fresa en México. Además, se confirmó la identidad taxonómica de los aislados de Fox Y Rhi por secuencia del gen rADN 18S. 4).

Considerando la frecuencia alta y distribución regional extensiva de *F. oxysporium* y que fue el único que aumentó su presencia al final de los dos ciclos de cultivo, se postula a este hongo como el de mayor aptitud parasítica pudiendo formar complejos con Phy, Pyt y Rhi.

El control debe considerar el monitoreo de Fox y el manejo del cultivo ya que el acolchado con riego por goteo indujo su menor frecuencia, mientras que el suelo arcilloso lo incrementó, indistintamente del tipo de riego.

LITERATURA CITADA

- Castro, F. J., y P. Dávalos. 1990. Etiología de la secadera o pudrición de la raíz y corona de la fresa en Irapuato, Gto. Rev. Mex. Fitopatol. 8: 80-86.
- Crous, P. W. 2002. Taxonomy and Pathology of *Cylindrocladium* (*Calonectria*) and *Allied* Genera. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. pp: 52-53.
- Delaporta, S.L., J. Woods, and J.B. Hicks. 1983. A plant DNA minipreparation version II. Plant Mol. Biol. Reporter 1: 19-21
- Douglas, G. W. 2000. Manejo integral de enfermedades en la fresa. In: Memoria del Primer Simposium Internacional de la Fresa. Zamora, Michoacán. pp: 122-133.
- Erwin, D. C., and O. K. Ribeiro. 1996. *Phytophthora* Diseases Worldwide. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. pp: 96-124.
- Hancock, J. F. 1999. Strawberries. Michigan State University, USA. CABI Publishing. pp: 169-171.
- Maas J. L. 1998. Compendium of Strawberry Diseases. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. Second Edition. pp: 44-57.
- Martínez-Barrera, R., y R. Castro-Mendoza. 1976. Identificación del agente causal de la secadera de la fresa en Zamora, Michoacán. In: Memoria del VII Congreso Nacional de Fitopatología. México, D.F. pp: 43-44.
- Mbagwu, J. S. C. 1991. Influence of different mulch materials on soil temperature, soil water content and yield of three Cassava cultivars. J. Sci. Food Agric. 4:569-577.
- Mendoza Z., C. 1992. Enfermedades fungosas de hortalizas y fresa. In: Manejo fitosanitario de las hortalizas en México. Centro de Entomología y Acarología. Chapingo, México. pp: 273-288.
- Mendoza-Zamora, C., y S. Romero-Cova. 1989. Enfermedades de la fresa *Fragaria chiloensis* var. *ananassa* en Villa Guerrero, Edo. de México. III: Identificación e incidencia de los hongos que atacan corona y raíz. Rev. Mex. Fitopatol. 7:140-146.
- Michereff, S. J., L. A. M. Peruch, e D. E. G. T. Andrade. 2005. Manejo integrado de doencas radiculares. In: Ecología e Mane-

used influenced these results. This possibility is greater for Cyl, given that its high frequency in the field makes it possible to hypothesize that this organism, considered to have low aggressiveness (Hancock, 1999; Douglas, 2000), interacts in the initial phase of the disease with Fox. This could explain its higher presence in root than in crown, and that at the end, in fructification, it has not predominated (Table 2 and 3).

In the third assay, 100% of the plants of the Camarosa cultivar began to show symptoms at 23 d and wilted 30 d after inoculation with Fox. The cortex of the root showed necrosis and the crown presented dark brown lesions in vascular tissue. The incubation period exceeded by approximately 23 d with respect to the other assays, which could be attributed more to the inoculation method than to the genotype or age of the plants. This period could be the most representative under field conditions. If it is considered that the highest incidence of dry wilt occurs during the second phase of fructification, it could be suggested that the critical period of infection occurs approximately one month prior to this phenological event, which is important for determining the start of an effective control program. In the three assays, the fungi that caused disease were re-isolated and morphologically compared with the inoculates, thus satisfying the postulates of Koch. The control plants did not present symptoms.

CONCLUSIONS

Strawberry dry wilt was found distributed in all of the localities sampled in the Valley of Zamora, Michoacán.

Fso, Cyl, Ver, Col, Fox, Phy, Pyt and Rhi were associated with dry wilt; however, only Fox, Phy, Pyt and Rhi were pathogenic. *P. aphanidermatum* and *R. fragariae* are reported for the first time in strawberry in México. Furthermore, the taxonomic identity of the isolates of Fox and Rhi was confirmed by sequencing of the gene rDNA 18S, 4.

Considering the high frequency and extensive regional distribution of *F. oxysporum*, and that it was the only fungus that increased its presence at the end of the two crop cycles, it is postulated that this fungus has the highest parasitic aptitude, having the capacity to form complexes with Phy, Pyt and Rhi.

The control should consider the monitoring of Fox and the crop management, given that the plastic mulch with drip irrigation induced its lowest frequency, whereas clay soil increased it, regardless of the type of irrigation.

End of the English version—



- jo de Patógenos Radiculares em Solos Tropicais. Michereff, S. J., D. E. G. T. Andrade, e M. Menezes (eds). Universidade Federal Rural de Pernambuco. Brasil. pp: 367-388.
- Mora-Aguilera, G. 2000. El muestreo en la sanidad: Principios y aplicaciones. *In: Principios de Salud Animal y Fitosanidad*. Cibrian T., J. E., y S. Anaya R. (comps). Colegio de Postgraduados. Montecillo, Edo. de México. pp: 103-124.
- Nelson, P. E., T. A. Toussoun, and W. F. O. Marasas. 1983. *Fusarium Species: An Illustrated Manual for Identification*. The Pennsylvania State University Press. University Park and London. pp: 142-150.
- Quilambaqui-Jara, M., E. Zavaleta-Mejía, G. Mora-Aguilera, F. Delgadillo-Sánchez, y A. Marín-Jarillo. 2004. Patogenicidad de tres especies de *Fusarium* asociadas con el declinamiento del espárrago (*Asparagus officinalis* L.) en Guanajuato, México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 22: 30-36.
- Quintero, J. R., R. S. García, S. Montoya, y F. Estrada. 1998. Etiología de las enfermedades del cultivo de la fresa (*Fragaria* spp.) en Sinaloa. *In: Memorias del XXV Congreso Nacional de Fitopatología*. Guanajuato, Gto. 84 p.
- SAS Institute. 1988. *SAS User's Guide: Statistics*. Release 6.03 Edition. SAS Institute, Inc. Cary, N.C. USA. 1028 p.
- Sneh, B., L. Burpee, and A. Ogoshi. 1991. *Identification of Rhizoctonia Species*. The American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. pp: 39-42.
- Téliz, D., A. Mendoza, y J. Sandoval. 1986. Enfermedades de la fresa en México. *Rev. Mex. Fitopatol.* 4:1-12.
- Wang, B., and S.N. Jeffers. 2000. *Fusarium* root and crown rot: A disease of container-grown hosts. *Plant Dis.* 84:980-988.
- White, T. J., T. Bruns, S. Lee, and J. Taylor. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *In: Innis, M. A., D. H. Gelfand, J. J. Sninsky, and T. J. White (eds). PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, San Diego, USA. pp: 315-322.