

ETIOLOGÍA Y EPIDEMIOLOGÍA DE LA NECROSIS DE FLORES Y FRUTOS JUVENILES DEL PAPAYO (*Carica papaya* L.) EN GUERRERO, MÉXICO

ETIOLOGY AND EPIDEMIOLOGY OF FLOWERS AND YOUNG FRUITS NECROSIS IN PAPAYA (*Carica papaya* L.) IN GUERRERO, MÉXICO

Alfonso Vásquez-López¹, Elías Hernández-Castro², J. Antonio Mora-Aguilera³, Cristian Nava-Díaz³, Francisco Sánchez-García²

¹Centro Interdisciplinario de Investigación para el Desarrollo Integral Regional, Unidad Oaxaca. Instituto Politécnico Nacional. Hornos 1003, 71230. Santa Cruz Xoxocotlán, Oaxaca.

²Universidad Autónoma de Guerrero. Km 2.5 Carretera Iguala-Tuxpan, 40000. Iguala, Guerrero. ³Fitosanidad-Fitopatología. Campus Montecillo. Colegio de Postgraduados. 56230. Montecillo, Estado de México. (bremia43@gmail.com).

RESUMEN

La necrosis floral, pudrición y caída de frutos juveniles del papayo (*Carica papaya* L.) son enfermedades con incidencia alta y reducen la productividad de huertos comerciales en Huamuxtitlán, Guerrero, México. El objetivo del presente estudio fue determinar la etiología y epidemiología de estas enfermedades. De flores y frutos necróticos se aislaron *Cladosporium* sp. y *Fusarium* spp., y en proporción menor *Alternaria* sp. y *Colletotrichum* sp. Las especies *Fusarium equiseti*, *F. chlamydosporum*, *Cladosporium cladosporioides* y *Alternaria alternata* provocaron necrosis y caída floral 8 d después de la inoculación (ddi) y necrosis, pudrición y caída de frutos juveniles 15 ddi. *Colletotrichum gloeosporioides* provocó lesiones necróticas en 30 % de las flores inoculadas y no causó síntomas en frutos. La dinámica poblacional de esporas de *Alternaria* spp. y *Fusarium* spp. en el aire se estudió en una plantación de papayo cv. Maradol de marzo del 2007 a marzo del 2008; las esporas de ambos hongos se encontraron de mayo a octubre, aunque el número mayor se capturó en mayo y septiembre. Las esporas de *Fusarium* spp. fueron más abundantes en horario nocturno (20:00 a 04:00 h) y las de *Alternaria* spp. entre las 12:00 y 14:00 h. *Fusarium equiseti*, *F. chlamydosporum*, *Cladosporium cladosporioides* y *Alternaria alternata* son agentes patógenos de la necrosis de flores y pudrición y caída de frutos juveniles del papayo en Huamuxtitlán, Guerrero, México. Los propágulos de *Alternaria* spp. y *Fusarium* spp. están dispersos en el ambiente de la zona de estudio de mayo a octubre.

Palabras clave: *Carica papaya*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium chlamydosporum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata*, dinámica poblacional.

* Autor responsable ♦ Author for correspondence.

Recibido: enero, 2012. Aprobado: octubre, 2012.

Publicado como ARTÍCULO en *Agrociencia* 46: 757-767. 2012.

ABSTRACT

Flower necrosis, rot, and dropping of young fruits of the papaya (*Carica papaya* L.) are diseases with high incidence and which reduce productivity of commercial groves in Huamuxtitlán, Guerrero, Mexico. The objective of the present study was to determine the etiology and epidemiology of these diseases. *Cladosporium* sp. and *Fusarium* spp. were isolated from necrotic flowers and fruits, and in a smaller proportion, *Alternaria* sp. and *Colletotrichum* spp. The species *Fusarium equiseti*, *F. chlamydosporum*, *Cladosporium cladosporioides* and *Alternaria alternata* caused necrosis and flower abortion 8 d after inoculation (dai) and necrosis, rot and dropping of young fruits 15 dai. *Colletotrichum gloeosporioides* provoked necrotic lesions in 30 % of the inoculated flowers but did not cause symptoms in fruits. The population dynamic of spores of *Alternaria* spp. and *Fusarium* spp. in the air was studied in a plantation of papaya cv. Maradol from March 2007 to March 2008; the spores of both fungi were found from May to October, although the highest number was captured in May and September. The spores of *Fusarium* spp. were most abundant during the night hours (20:00 to 04:00 h) and those of *Alternaria* spp. between 12:00 and 14:00 h. *Fusarium equiseti*, *F. chlamydosporum*, *Cladosporium cladosporioides* and *Alternaria alternata* are pathogenic agents of the necrosis of flowers and dropping of young fruits of papaya in Huamuxtitlán, Guerrero, México. The propagules of *Alternaria* spp. and *Fusarium* spp. are dispersed in the environment of the study zone from May to October.

Key words: *Carica papaya*, *Fusarium equiseti*, *Fusarium chlamydosporum*, *Cladosporium cladosporioides*, *Alternaria alternata*, population dynamic.

INTRODUCCIÓN

El papayo (*Carica papaya* L.) es un cultivo con importancia económica alta en las zonas tropicales y subtropicales de México. En 2010, México ocupó el primer lugar como país exportador y quinto como productor mundial (FAOSTAT, 2010); sin embargo, el cultivo enfrenta enfermedades severas principalmente de etiología fungosa (De los Santos *et al.*, 2000; Rodríguez *et al.*, 2001; Tapia *et al.*, 2008) que reducen la productividad de los huertos comerciales y la calidad de la fruta. En plantaciones comerciales de papayo en el estado de Guerrero se presenta necrosis de flores y pudrición y caída de frutos juveniles; antes de este estudio su etiología no se había determinado con precisión. En la zona centro del estado de Veracruz, estas enfermedades se atribuyen principalmente a *Colletotrichum gloeosporioides*, pero también se asocian a *Corynespora cassicola*, *Ascochyta caricae*, *Lasioidiplodia theobromae* (De los Santos *et al.*, 2000), *Chalara* sp., *Cercospora* sp., *Mycosphaerella* sp., *Phoma* spp., *Alternaria alternata*, *Stemphyllium* sp., *Fusarium solani*, *F. oxysporum*, *Guignardia* sp., *Monilia* sp., y *Rhizopus stolonifer* (Morton, 1987), sin que su patogenicidad esté confirmada. Además, es necesario conocer aspectos epidémicos de estas enfermedades para desarrollar estrategias sostenibles para un manejo táctico adecuado.

Cada epidemia tiene un comportamiento específico y su dinámica espacio-temporal está determinada por las características del patosistema y condiciones ambientales. Los estudios epidemiológicos requieren al menos monitoreo de esporas y variables climáticas, como componentes básicos (Campbell y Maden, 1991; Van Maanen y Xu, 2003). El primero permite generar modelos de predicción de dispersión de esporas en función de la etapa fenológica del cultivo; y podrían conocerse frecuencias y horas de liberación de esporas, rutas de transporte del inóculo, inicio y severidad de la enfermedad, umbrales de riesgo, determinación y comparación de estrategias de manejo del cultivo; además, ayuda a calendarizar prácticas culturales y aplicación racional de productos químicos en periodos de incidencia baja de inóculo (Frenguelli, 1998; Van Niekerk *et al.*, 2010).

El monitoreo de esporas se ha efectuado en trigo (*Triticum aestivum*) (Rossi *et al.*, 2002), arroz (*Oryza sativa*) (Pico y Rodolfi, 2002), mango (*Mangifera indica*) (Mora *et al.*, 2003), manzana (*Malus domestica*)

INTRODUCTION

The papaya (*Carica papaya* L.) is a crop of high economic importance in the tropical and subtropical zones of Mexico. In 2010, Mexico occupied first place as exporting country and fifth as world producer (FAOSTAT, 2010); however, the crop faces severe diseases, mainly of fungous etiology (De los Santos *et al.*, 2000; Rodríguez *et al.*, 2001; Tapia *et al.*, 2008) that reduce productivity of the commercial plantations and fruit quality. In commercial papaya plantations in the state of Guerrero there is flower necrosis and rot and young fruit drop; prior to this study its etiology had not been determined with precision. In the central zone of the state of Veracruz, these diseases are mainly attributed to *Colletotrichum gloeosporioides*, but are also associated with *Corynespora cassicola*, *Ascochyta caricae*, *Lasioidiplodia theobromae* (De los Santos *et al.*, 2000), *Chalara* sp., *Alternaria alternata*, *Stemphyllium* sp., *Monilia* sp., and *Rhizopus stolonifer* (Morton, 1987), although their pathogenicity has not been confirmed. Furthermore, it is necessary to know epidemic aspects of these diseases to develop sustainable strategies for an adequate management tactic.

Every epidemic has a specific behavior and its space-time dynamic is determined by the characteristics of the pathosystem and environmental conditions. Epidemiological studies require at least the monitoring of spores and climatic variables, as basic components (Campbell and Maden, 1991; Van Maanen and Xu, 2003). The first permits the generation of prediction models of spore dispersal as a function of the phenological stage of the crop; and frequencies and hours of spore release could be known, along with transport routes of the inoculum, onset and severity of the disease, risk thresholds, determination and comparison of crop management strategies. It also helps to schedule cultural practices and rational application of chemical products in periods of low incidence of the inoculum (Frenguelli, 1998, 1998; Van Niekerk *et al.*, 2010).

Spore monitoring has been carried out in wheat (*Triticum aestivum*) (Rossi *et al.*, 2002), rice (*Oryza sativa*) (Pico and Rodolfi, 2002), mango (*Mangifera indica*) (Mora *et al.*, 2003), apple (*Malus domestica*) (Bannon *et al.*, 2009), potato (*Solanum tuberosum*) (Skelsey *et al.*, 2009) and grape (*Vitis vinifera*) (Van

(Bannon *et al.*, 2009), papa (*Solanum tuberosum*) (Skelsey *et al.*, 2009) y uva (*Vitis vinifera*) (Van Niekerk *et al.*, 2010). Su importancia y factibilidad de investigación en campo está determinada, ya que las esporas impactan directamente en el desarrollo de la enfermedad. El objetivo del presente estudio fue evaluar la etiología y la epidemiología de la necrosis de flores y pudrición y caída de frutos juveniles en un huerto de papayo en Huamuxtitlán, Guerrero, México.

MATERIALES Y MÉTODOS

Etiología

Sitio de estudio y aislamiento de hongos

En Huamuxtitlán, Guerrero (17° 48' N y 98° 33' O, 895 m de altitud) se recolectaron 20 flores con necrosis, 20 frutos juveniles con necrosis y pudrición y 20 flores y frutos asintomáticos de plantas de papayo cv. Maradol en noviembre y diciembre del 2007. El material vegetal se lavó con agua, se desinfectó con hipoclorito de sodio a 1.0 % durante 5 min, se lavó tres veces con agua destilada estéril, se secó con toallas de papel absorbente, se sembró en medio de cultivo papa-dextrosa-agar (PDA) (BD Bioxon®, Becton Dickinson de México) e incubó 5 d a 25 °C con luz blanca. Las colonias fungosas formadas se purificaron por cultivos monoconidiales.

Prueba de patogenicidad

La patogenicidad de los hongos aislados de tejidos enfermos se verificó en flores y frutos asintomáticos en enero del 2008. Cada aislamiento se consideró un tratamiento y la unidad experimental fue una flor o fruto. Cada hongo se inoculó en 15 flores y en 15 frutos juveniles asintomáticos; se usaron 10 flores y 10 frutos sanos como testigos (aspersión con agua destilada estéril). El inóculo se preparó por cultivo de los hongos en PDA a 25 °C con luz blanca por 15 d y de cada uno se preparó una solución con 1×10^3 conidios mL⁻¹. Previo a la inoculación, las unidades experimentales se desinfectaron con hipoclorito de sodio a 1.0 % por 2 min y enjuagaron con agua destilada estéril y cada una se asperjó con 3 mL de la solución inoculante y cubrió durante los primeros 3 d con una bolsa plástica desinfectada con alcohol. La incidencia de la enfermedad se calculó con la ecuación $Ii = \sum ni / Ni$, donde: Ii = incidencia de enfermedad en el momento i ; ni = número de unidades experimentales enfermas en el momento i ; Ni = población total de flores o frutos experimentales. Las evaluaciones se hicieron 3, 5, 8 y 15 d después de la inoculación (ddi).

Niekerk *et al.*, 2010). Its importance and viability of investigation in the field was determined, given that the spores impact directly on the development of the disease. The objective of the present study evaluate determine the etiology and the epidemiology of flower necrosis and rot and dropping of young fruits in a papaya grove in Huamuxtitlán, Guerrero, México.

MATERIALS AND METHODS

Etiology

Study site and isolation of fungi

In Huamuxtitlán, Guerrero (17° 48' N and 98° 33' W, 895 m altitude) 20 flowers with necrosis and rot were collected, and 20 asymptomatic flowers of papaya plants cv. Maradol in November and December of 2007. The plant material was washed with water, disinfested with sodium hypochlorite at 1.0 % during 5 min, washed three times with sterile distilled water, dried with absorbent paper towel, sown in potato-dextrose-agar (PDA) culture medium (BD Bioxon®, Becton Dickinson of México) and incubated 5 d at 25 °C with white light. The fungal colonies that formed were purified by monoconidial cultures.

Pathogenicity test

The pathogenicity of the fungi isolated from diseased tissues was verified in asymptomatic fruits and flowers in January of 2008. Each isolate was considered a treatment and the experimental unit was a flower or fruit. Each fungus was inoculated in 15 flowers and in 15 asymptomatic young fruits; 10 flowers and 10 healthy fruits were used as controls (aspersion with sterile distilled water). The inoculum was prepared by cultivation of the fungi in PDA at 25 °C with white light for 15 d and from each one a solution was prepared with 1×10^3 conidia mL⁻¹. Prior to inoculation, the experimental units were disinfested with sodium hypochlorite at 1.0 % for 2 min and rinsed with sterile distilled water and each one was sprayed with 3 mL of the inoculant solution and covered during the first 3 d with a plastic bag disinfested with alcohol. The incidence of the disease was calculated with the equation $Ii = \sum ni / Ni$, where: Ii = incidence of disease at the moment i ; ni = number of diseased experimental units at the moment i ; Ni = total population of experimental fruits or flowers. The evaluations were made 3, 5, 8 and 15 d after inoculation (dai).

Caracterización morfológica y molecular de fitopatógenos

Colonias monoconidiales de los hongos patógenos se cultivaron durante 10 d en PDA al 2 % (BD Bioxon®), a 25 °C, luz blanca e identificaron con las claves taxonómicas para género de Barnett y Hunter (2006). Las especies de *Fusarium* se identificaron con las claves de Booth (1971), Burgess *et al.* (1994) y Nelson *et al.* (1983). La especie de *Alternaria* se identificó con la clave de Rotem (1994).

El ADN de los hongos se extrajo con la técnica de Ahrens y Seemüller (1992). La amplificación de las regiones ITS1 e ITS2 de los genes ribosomales (rRNA) se efectuó por PCR con los iniciadores universales ITS4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) e ITS5 (GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G). El producto amplificado se purificó con el juego de reactivos Wizard (Promega®) y secuenció con el analizador genético® modelo 3100. Las secuencias obtenidas se analizaron con el programa Lasergene® 2001, V5 (DNASTAR®, Inc.) y alinearon con la base de datos del Banco de Genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2009), USA (www.ncbi.nlm.nih.gov/). De los valores generados, sólo se consideraron las secuencias con valor más alto para su comparación con las secuencias en estudio.

Epidemiología

La densidad de esporas de *Alternaria* spp. y *Fusarium* spp. en el aire se estudió en una plantación comercial de papayo en Huamuxtitlán, Guerrero, de marzo de 2007 a marzo de 2008. Las esporas se capturaron con una trampa volumétrica de esporas tipo Burkard (Gadoury y MacHardy, 1983), modificada por Mora (2000), instalada a 1.8 m de altura y ajustada para succionar 2.9 L de aire min⁻¹. Las esporas succionadas se impactaron sobre cinta adhesiva transparente colocada alrededor de un tambor mecánico giratorio con 7 d de periodicidad. Las cintas adhesivas se examinaron con un microscopio compuesto y cuantificaron las esporas capturadas en intervalos de 2 h. Los resultados se expresaron en número de esporas por semana. El análisis de datos y cálculo de coeficiente de correlación entre la densidad de esporulación de ambos géneros se realizaron con el paquete estadístico Calc (Open Office™ 2.4 Sun Microsystems).

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Etiología

Hongos aislados

De pétalos necróticos se aislaron a *Cladosporium* sp. (75 %) y *Fusarium* spp. (70 %) y en proporción menor a *Alternaria* sp. (35 %) y *Colletotrichum* sp.

Morphological and molecular characterization of phytopathogens

Monoconidial colonies of the pathogenic fungi were cultivated during 10 d in PDA at 2 % (BD Bioxon®) at 25 °C, white light and identified with the taxonomic keys for genus of Barnett and Hunter (2006). The species of *Fusarium* were identified with the keys of Booth (1971), Burgess *et al.* (1994) and Nelson *et al.* (1983). The species of *Alternaria* was identified with the key of Rotem (1994).

The DNA of the fungi was extracted with the technique of Ahrens and Seemüller (1992). The amplification of the regions ITS1 and ITS2 of the ribosomal genes (rRNA) was carried out by PCR with the universal primers ITS4 (TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC) and ITS5 (GGA AGT AAA AGT CGT AAC AAG G). The amplified product was purified with the set of reagents Wizard (Promega®) and was sequenced with the genetic analyzer® model 3100. The sequences obtained were analyzed with the program Lasergene® 2001, V5 (DNASTAR®, Inc.) and aligned with the data base of the Gene Bank of the National Center for Biotechnology Information (NCBI, 2009), USA (www.ncbi.nlm.nih.gov/). Of the values generated, only the sequences with highest value are considered for their comparison with the sequences under study.

Epidemiology

The density of spores of *Alternaria* spp. and *Fusarium* spp. in the air was studied in a commercial papaya plantation in Huamuxtitlán, Guerrero, from March of 2007 to March of 2008. The spores were captured with a Burkard type volumetric spore trap (Gadoury and MacHardy, 1983), modified by Mora (2000), installed at 1.8 m height and adjusted to suction 2.9 L of air min⁻¹. The suctioned spores were impacted on transparent adhesive tape placed around a revolving mechanical drum with 7 d of periodicity. The adhesive tapes were examined with a composed microscope and the spores were quantified, captured in intervals of 2 h. The results were expressed in number of spores per week. The analysis of data and calculation of the coefficient of correlation between the sporulation density of both genera was made with the statistical package Calc (Open Office™ 2.4 Sun Microsystems).

RESULTS AND DISCUSSION

Etiology

Isolated fungi

Isolations were made from necrotic petals of *Cladosporium* sp. (75 %) and *Fusarium* spp. (70 %)

(20 %). De órganos reproductores enfermos se aisló a *Cladosporium* sp. (65 %), *Fusarium* spp. (35 %) y *Alternaria* sp. (25 %). En sépalos necróticos se encontró a *Cladosporium* sp. (15 %) y *Alternaria* sp. (25 %). De frutos necrosados se aisló a *Cladosporium* sp. (65 %) y *Fusarium* spp. (50 %) y de la sección basal de frutos asintomáticos se aisló a *Cladosporium* sp. (85 %), *Alternaria* sp. (40 %) y *Fusarium* spp. (20 %). En la pulpa de los frutos enfermos se encontró a *Cladosporium* sp. (45 %) y *Fusarium* spp. (25 %).

Prueba de patogenicidad

Fusarium spp., *Cladosporium* sp. y *Alternaria* sp. necrosaron parcialmente los pétalos 30, 20 y 15 % de las flores experimentales inoculadas a 3 y 5 ddi la necrosis de pétalos fue completa. Después de 8 d estos hongos indujeron pudrición y abscisión floral en 90, 75 y 52 % de las flores inoculadas. *Colletotrichum* sp. indujo pequeñas lesiones necróticas en sólo 30 % de las flores a 8 ddi.

Fusarium spp., *Cladosporium* sp. y *Alternaria* sp. mostraron patogenicidad en frutos juveniles. *Fusarium* spp. indujo 5 ddi lesiones necróticas en 20 % de los frutos y 8 ddi estas áreas se pudrieron; mientras que 15 ddi 75 % de los frutos detuvieron su crecimiento y tornaron amarillentos. *Cladosporium* sp. 8 ddi promovió la formación de anillos necróticos en la sección media de los frutos y 15 ddi se observó pudrición seca en 60 % de frutos. *Alternaria* sp. desarrolló micelio 3 ddi en 38 % de los frutos y 15 ddi 25 % de las unidades experimentales presentó necrosis y deshidratación (Figura 1). *Colletotrichum* sp. no indujo síntomas en frutos pequeños. Las flores y frutos testigos permanecieron asintomáticos.

Caracterización morfológica y molecular de fitopatógenos

Con base en las características morfológicas reportadas por Booth (1971), Nelson *et al.* (1983) y Burgess *et al.* (1994) se identificaron dos especies patógenas de *Fusarium*: *F. equiseti* (Corda) Sacc. y *F. chlamydosporum* Wollenw & Reinking. El aislamiento de *Cladosporium* sp. se identificó como *C. cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries, con base en lo reportado por Watanabe (2002). El aislamiento patógeno de *Alternaria* sp. se identificó como *A. alternata* (Fr.) Keissler según las claves de Rotem

and in a smaller proportion, *Alternaria* sp. (35 %) and *Colletotrichum* sp. (20 %). From diseased reproductive organs, isolations were made of *Cladosporium* sp. (65 %), *Fusarium* spp. (35 %) and *Alternaria* sp. (25 %). In necrotic sepals, *Cladosporium* sp. (15 %) and *Alternaria* sp. (25 %) were found. From necrotic fruits, isolates were made of *Cladosporium* sp. (65 %) and *Fusarium* spp. (50 %) and from the basal section of asymptomatic fruits, isolates were made of *Cladosporium* sp. (85 %), *Alternaria* sp. (40 %) and *Fusarium* spp. (20 %). In the pulp of the diseased fruits *Cladosporium* sp. (45 %) and *Fusarium* spp. (25 %) were found.

Pathogenicity test

Fusarium spp., *Cladosporium* sp. and *Alternaria* sp. produced partial necrosis in the petals in 30, 20 and 15 % of the inoculated experimental flowers at 3 dai. and at 5 dai the necrosis of petals was complete. After 8 d these fungi induced rot and floral abscission in 90, 75 and 52 % of the inoculated flowers. *Colletotrichum* sp. induced small necrotic lesions in only 30 % of the flowers at 8 dai.

Fusarium spp., *Cladosporium* sp. and *Alternaria* sp. presented pathogenicity in young fruits. *Fusarium* spp. induced at 5 dai necrotic lesions in 20 % of the fruits and at 8 dai these areas rotted; while at 15 dai 75 % of the fruits detained their growth and turned yellowish. *Cladosporium* sp. at 8 dai promoted the formation of necrotic rings in the mid section of the fruits and at 15 dai dry rot was observed in 60 % of the fruits. *Alternaria* sp. developed mycelia at 3 dai in 38 % of the fruits and 15 at dai 25 % of the experimental units presented necrosis and dehydration (Figure 1). *Colletotrichum* sp. did not induce symptoms in small fruits. The control flowers and fruits remained asymptomatic.

Morphological and molecular characterization of phytopathogens

Based on the morphological characteristics reported by Booth (1971), Nelson *et al.* (1983) and Burgess *et al.* (1994), two pathogenic species of *Fusarium* were identified: *F. equiseti* (Corda) Sacc. and *F. chlamydosporum* Wollenw & Reinking. The isolation of *Cladosporium* sp. was identified as *C. cladosporioides* (Fresen.) G.A. de Vries, based on what



Figura 1. Flores y frutitos de papayo (*Carica papaya*) con síntomas de necrosis y pudrición. A) Planta de papayo con flores necróticas por infección natural. B) Flores sanas y con necrosis (infección natural). C y D) Frutitos asintomáticos y sintomáticos con detención de crecimiento, anillos cloróticos, necrosis, deformación y pudrición por infección natural. E-H) Flores 8 d después de inoculadas (ddi) con *Fusarium equiseti*, *F. chlamydosporum*, *Alternaria alternata* y *Cladosporium cladosporioides*, respectivamente. I-L) Frutos 8 ddi con *F. equiseti*, *F. chlamydosporum*, *A. alternata* y *C. cladosporioides*, respectivamente. M) Desaparición severa de una sección del estrato de fructificación por infecciones fungosas tempranas en Huamuxtitlán, Guerrero, México. 2008.

Figure 1. Flowers and young fruits of papaya (*Carica papaya*) with symptoms of necrosis and rot. A) Papaya plants with necrotic flowers due to natural infection. B) Healthy flowers and with necrosis (natural infection). C and D) Asymptomatic and symptomatic young fruits with growth retardation, chlorotic rings, necrosis, deformation and rot by natural infection. E-H) Flowers 8 d after inoculation (dai) with *Fusarium equiseti*, *F. chlamydosporum*, *Alternaria alternata* and *Cladosporium cladosporioides*, respectively. I-L) Fruits 8 dai with *F. equiseti*, *F. chlamydosporum*, *A. alternata* and *C. cladosporioides*, respectively. M) Severe disappearance of a section of the fructification strata due to early fungal infections in Huamuxtitlán, Guerrero, México. 2008.

(1994) y Watanabe (2002). Las secuencias genéticas experimentales mostraron identidad con *F. equiseti* (99 %, DQ026008), *F. chlamydosporum* (100 %, AJ853773), *C. cladosporioides* (99 %, AY361964) y *A. alternata* (99 %, EU807867) y están depositadas en el Banco de Genes del National Center for Biotechnology Information (NCBI), USA.

Así, *F. equiseti*, *F. chlamydosporum*, *C. cladosporioides* y *A. alternata* son los agentes causales de la necrosis de flores y pudrición y caída de frutos juveniles de papayo en Huamuxtitlán, Guerrero. Una sintomatología similar en la zona centro de Veracruz se atribuyó a *C. gloeosporioides*, ya que puede causar manchas necróticas, muerte y abscisión de flores y manchas oscuras o rosadas en frutos pequeños (De Los Santos *et al.*, 2000). Sin embargo, la capacidad patogénica o epifítica de *C. gloeosporioides* se manifiesta principalmente en frutos maduros en los que causa antracnosis (Cia *et al.*, 2007); esta enfermedad también puede ser inducida en papayo por *C. capsici* (Tapia *et al.*, 2008). En frutos inmaduros, *C. gloeosporioides* puede causar infecciones latentes, sin manifestar su potencial patogénico, debido a que los frutos juveniles contienen concentraciones altas de compuestos fungistáticos a la especie, principalmente de naturaleza fenólica y producción baja de etileno (Prusky, 1996). En el presente estudio no se detectó a *C. gloeosporioides* en frutitos de papayo, aunque no se descarta la posibilidad que pueda estar en otras regiones productoras de México. *Fusarium equiseti*, *F. chlamydosporum*, *C. cladosporioides* y *A. alternata* no estaban reportados como agentes patógenos de flores y frutos del papayo. *Alternaria alternata* está asociado con la pudrición basal de frutos maduros de papaya (APS, 2011), pero puede causar muerte descendente de brotes vegetativos tiernos en cítricos (*Citrus* spp.) (Marín *et al.*, 2006) y necrosis de flores de zapote mamey (*Pouteria sapota*) (Vásquez, 2008). *Cladosporium* sp. y *Fusarium* spp. están asociado con la pudrición interna de frutos de papayo en madurez comercial (APS, 2011; Chávez *et al.*, 2011); *C. cladosporioides* causa manchas foliares en papayo (Chen *et al.*, 2009), pero su efecto en flores y frutitos no se había reportado.

En plantaciones comerciales de papayo la necrosis de flores y pudrición y caída de frutos juveniles generalmente son minimizados, pero en este estudio los daños pueden fluctuar entre 30 y 60 % y en algunos casos causar la desaparición de estratos completos de

was reported by Watanabe (2002). The pathogenic isolation of *Alternaria* was identified as *A. alternata* (Fr.) Keissler according to the keys of Rotem (1994) and Watanabe (2002). The experimental genetic sequences presented identity with *F. equiseti* (99 %, DQ026008), *F. chlamydosporum* (100 %, AJ853773), *C. cladosporioides* (99 %, AY361964) and *A. alternata* (99 %, EU807867) and are deposited in the Gene Bank of the National Center for Biotechnology Information (NCBI), USA.

Thus, *F. equiseti*, *F. chlamydosporum*, *C. cladosporioides* and *A. alternata* are the causal agents of flower necrosis and rot and dropping of young papaya fruits in Huamuxtitlán, Guerrero. A similar symptomatology in the central zone of Veracruz was attributed to *C. gloeosporioides*, given that it can cause necrotic spots, death and abscission of flowers and dark or pink spots in small fruits (De Los Santos *et al.*, 2000). However, the pathogenic or epiphytic capacity of *C. gloeosporioides* is manifested mainly in mature fruits in which it causes anthracnose (Cia *et al.*, 2007); this disease can also be induced in papaya by *C. capsici* (Tapia *et al.*, 2008). In immature fruits, *C. gloeosporioides* can cause latent infections, without manifesting its pathogenic potential, due to the fact that the young fruits contain high concentrations of compounds that are fungistatic to the species, principally of phenolic nature and with low ethylene production (Prusky, 1996). In the present study *C. gloeosporioides* was not detected in young papaya fruits, although there is the possibility that it may be present in other producing regions of México. *Fusarium equiseti*, *F. chlamydosporum*, *C. cladosporioides* and *A. alternata* were not reported as pathogenic agents of flowers and fruits of papaya. *Alternaria alternata* is associated with the basal rot of mature papaya fruits (APS, 2011), but it can cause descendent death of young vegetative shoots in citrus (*Citrus* spp.) (Marín *et al.*, 2006) and necrosis in flowers of mamey (*Pouteria sapota*) (Vásquez, 2008). *Cladosporium* sp. and *Fusarium* spp. are associated with the internal rotting of papaya fruits in commercial maturity (APS, 2011; Chávez *et al.*, 2011); *C. cladosporioides* causes foliar spots in papaya (Chen *et al.*, 2009), but its effect in flowers and young fruits has not been reported.

In commercial papaya plantations necrosis of flowers and rot and dropping of young fruits are generally minimized, although in this study the

fructificación (Figura 1M), cuando el control es ausente o inefectivo y las condiciones ambientales son favorables. Esta investigación mostró que la enfermedad es relevante y debe atenderse oportunamente.

Epidemiología

En el aire se encontraron esporas de *Alternaria* spp. y *Fusarium* spp. de mayo a octubre del 2007 durante las 24 h del día. En este periodo se capturaron, en promedio, 217 esporas de *Fusarium* spp./semana; pero se capturaron 429 esporas en una semana de junio y 548 en una semana de septiembre (Figura 2). *Alternaria* spp. liberó en promedio 48 esporas/semana de mayo a octubre, aunque la mayor liberación fue en mayo (241 esporas/semana). Después de octubre la cantidad disminuyó significativamente, hasta cero entre enero y marzo de 2008 (Figura 2). La dispersión de esporas de *Fusarium* spp. incrementó en la noche. La densidad conidial menor (172 esporas) se registró de las 14:00 a las 16:00 h y a partir de ese momento el número incrementó hasta un nivel máximo (558 esporas) entre las 02:00 y 04:00 h (Figura 3). En contraste, *Alternaria* spp. exhibió mayor esporulación diurna; el número máximo (172 esporas) se cuantificó de 12:00 a 14:00 h y la menor cantidad (45 propágulos conidiales) de las 20:00 a 22:00 h (Figura 3). La correlación del número de esporas/semana entre *Alternaria* spp. y *Fusarium* spp.

damages may fluctuate between 30 and 60 % and in some cases cause the disappearance of complete strata of fructification (Figure 1), when control is absent or ineffective and the environmental conditions are favorable. This research showed that the disease is relevant and should be attended opportunely.

Epidemiology

Spores of *Alternaria* spp. and *Fusarium* spp. were found in the air from May to October 2007, during the 24 h of the day. In this period an average of 217 spores of *Fusarium* spp./week were captured; but 429 spores were captured in one week of June and 548 in one week of September (Figure 2). *Alternaria* spp. released an average of 48 spores/week from May to October, although the highest release was in May (241 spores/week). After October the amount decreased significantly, until zero between January and April of 2008 (Figure 2). The dispersal of spores of *Fusarium* spp. increased during the night. The lowest conidial density (172 spores) was registered from 14:00 to 16:00 h and from this moment the number increased until reaching a maximum level (558 spores) between 02:00 and 04:00 h (Figure 3). In contrast, *Alternaria* spp. exhibited higher diurnal sporulation; the maximum number (172 spores) was quantified from 12:00 to 14:00 h and the lowest amount (45 conidial propagules) from 20:00 to 22:00

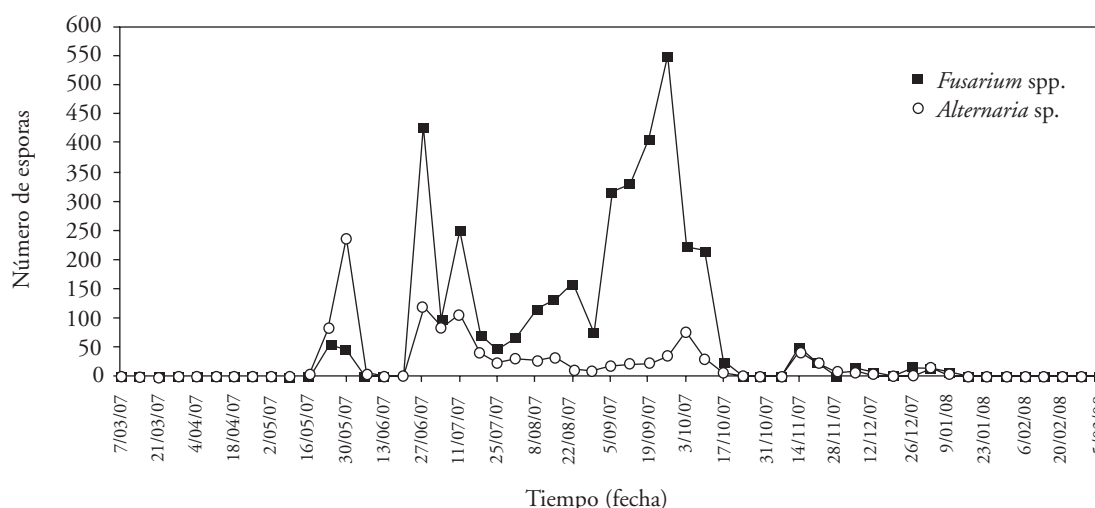


Figura 2. Dinámica poblacional de esporas de *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp. transportadas por el viento en una plantación de papayo cv. Maradol en Huamuxtitlan, Guerrero, de marzo de 2007 a marzo de 2008.

Figure 2. Population dynamic of spores of *Fusarium* spp. and *Alternaria* spp. transported by the wind in a plantation of papaya cv. Maradol in Huamuxtitlan, Guerrero, from March of 2007 to March of 2008.

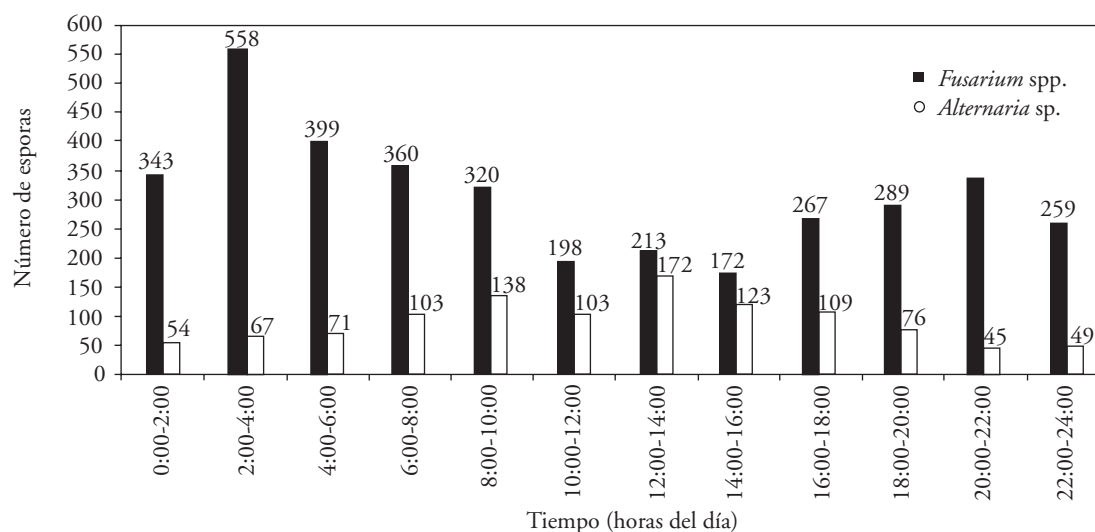


Figura 3. Dispersión de esporas de *Fusarium* sp. y *Alternaria* sp. durante las 24 h del día en una plantación comercial de papayo cv. Maradol en Huamuxtitlán, Guerrero, México.

Figure 3. Dispersal of spores of *Fusarium* sp. and *Alternaria* sp. during 24 h of the day in a commercial plantation of papaya cv. Maradol in Huamuxtitlán, Guerrero, México.

mostró la independencia de su esporulación ($r = 0.4$); es decir, este evento requirió periodos y condiciones ambientales diferentes para cada género. La evidencia es el comportamiento distinto de su dinámica estacional de esporas (Figura 2) y el patrón diferenciado de dispersión durante el día (Figura 3).

Estudios como el presente en frutales son escasos; su importancia es evidente porque el monitoreo de esporas en el aire permite conocer periodos y rutas de dispersión de inóculo, periodos de infección, incidencia y severidad de enfermedad, umbrales de riesgo, y diseñar estrategias que ayuden a prevenir y controlar las enfermedades (De Linares *et al.*, 2010). En este sentido, la presente investigación aporta información valiosa referentes a horarios y periodos específicos de liberación de esporas de *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp. Los resultados coinciden con los de otros estudios de monitoreo de esporas de *Fusarium* spp. en plantaciones de mango (*Mangifera indica*) (Mora *et al.*, 2003) y cereales (Fernando *et al.*, 2000). También, se ha monitoreado la presencia y densidad conidial de *Alternaria* spp. en campos de cultivos de España (De Linares *et al.*, 2010), y en el cultivo de mamey en Huamuxtitlán, Guerrero (Vásquez 2008) y papa (Iglesias *et al.*, 2007). En estos estudios, como en la presente investigación, la dispersión de inóculo de *Alternaria* ocurrió de mayo a octubre y la cantidad mayor se registró en junio y septiembre.

h (Figure 3). The correlation between the number of spores/week between *Alternaria* spp. and *Fusarium* spp. showed the independence of their sporulation ($r = 0.4$); that is, this event required different periods and environmental conditions for each genus. The evidence is the different behavior of their seasonal spores dynamic (Figure 2) and the different dispersal pattern during the day (Figure 3).

Studies such as the present in fruit trees are scarce; their importance is evident, given that the monitoring of spores in the air makes it possible to know periods and routes of dispersal of the inoculum, periods of infection, incidence and severity of the disease, risk thresholds, and to design strategies that help to prevent and control the diseases (De Linares *et al.*, 2010). In this sense, the present investigation supplies valuable information with respect to specific hours and periods of liberation of spores of *Fusarium* spp. and *Alternaria* spp. The results coincide with those of other studies of spore monitoring of *Fusarium* spp. in mango plantations (*Mangifera indica*) (Mora *et al.*, 2003) and cereals (Fernando *et al.*, 2000). Also, the presence and conidial density of *Alternaria* spp. has been monitored in crop fields of Spain (De Linares *et al.*, 2010), and in the mamey crop in Huamuxtitlán, Guerrero (Vásquez, 2008) and potato (Iglesias *et al.*, 2007). In these studies, as in the present investigation, the dispersal of inoculum of *Alternaria* occurred

La floración del papayo en Huamuxtitlán coincidió con la segunda mitad del periodo de liberación de esporas de *Fusarium* spp. y *Alternaria* spp. Por tanto, las flores y frutos juveniles estuvieron sujetos a la presión del inóculo de ambos hongos y la lluvia de éste periodo favoreció el desarrollo de los patógenos. Los resultados justifican la necesidad de iniciar la aplicación de fungicidas preventivos para disminuir la cantidad de inóculo de ambos hongos en el aire, a principios de abril y continuar con aplicaciones periódicas (quincenales) a finales de octubre. Además, las aplicaciones en abril afectarían negativamente el periodo de incubación de las esporas depositadas en flores y frutos. En Huamuxtitlán sería posible reducir el número de aplicaciones de fungicidas de noviembre a marzo e implementar programas de manejo integrado del cultivo en beneficio de la economía del productor y salud pública y ambiental.

El presente estudio permitió sentar las primeras bases epidemiológicas de la necrosis de flores y pudrición y caída de frutos juveniles del papayo en México al documentar horarios específicos y periodos de producción y dispersión de esporas durante un ciclo de cultivo de *Fusarium* spp. y *Alternaria* sp. Previo a esta investigación, en México no había estudios de monitoreo estacional de inóculo de hongos patógenos del papayo en México ni en otros países.

CONCLUSIONES

Fusarium equiseti, *F. chlamydosporum*, *Cladosporium cladosporioides* y *Alternaria alternata* se reportan como agentes patógenos de la necrosis de flores y pudrición y caída de frutos juveniles del papayo en Huamuxtitlán, Guerrero, México. La liberación de esporas de *Fusarium* spp. y *Alternaria* sp. ocurrió de mayo a octubre. *Fusarium* spp. presentó un patrón nocturno de liberación de esporas y las de *Alternaria* sp. se liberaron en periodos diurnos. Esta investigación establece las primeras bases epidemiológicas para entender el desarrollo de la necrosis de floral y pudrición y caída de frutos juveniles de papayo en México y generar estrategias específicas de prevención y control de las enfermedades en Guerrero, México.

LITERATURA CITADA

Ahrens, U., and E. Seemüller. 1992. Detection of DNA of plant pathogenic mycoplasma-like organisms by polymerase chain reaction that amplifies a sequence of the 16S rRNA gene. *Phytopathology* 82: 828-832.

from May to October and the highest amount was registered in June and September.

The flowering of the papaya in Huamuxtitlán coincided with the second half of the liberation period of spores of *Fusarium* spp. and *Alternaria* spp. Therefore, the flowers and young fruits were subjected to the pressure of the inoculum of both fungi, and the rain of this period favored the development of the pathogens. The results justify the need to initiate the application of preventive fungicides to decrease the amount of inoculum of both fungi in the air, at the beginning of April and continuation with periodic applications (every two weeks) at the end of October. Furthermore, the applications in April negatively affected the incubation period of the spores deposited in flowers and fruits. In Huamuxtitlán it would be possible to reduce the number of applications of fungicides from November to March and implement programs of integrated crop management in benefit to the economy of the producer and public and environmental health.

This study made it possible to set the first epidemiological bases of flower necrosis and dropping of young fruits of papaya in Mexico by documenting specific hours and production and dispersal of spores during a crop cycle of *Fusarium* spp. and *Alternaria* sp. Prior to this research there were no studies of seasonal monitoring of pathogenic fungi of papaya in México, nor in other countries.

CONCLUSIONS

Fusarium equiseti, *F. chlamydosporum*, *Cladosporium cladosporioides* and *Alternaria alternata* are reported as pathogenic agents of flower necrosis and young fruit drop of papaya in Huamuxtitlán, Guerrero, México. The release of spores of *Fusarium* spp. and *Alternaria* sp. took place from May to October. *Fusarium* spp. presented a nocturnal pattern of spore liberation, and those of *Alternaria* sp. were released in daytime periods. This investigation establishes the first epidemiological bases for understanding the development of flower necrosis and rot and dropping of young papaya fruits in México, and for generating specific strategies of prevention and control of diseases in Guerrero, México.

—End of the English version—

-----*

- APS (The American Phytopathological Society). 2011. Diseases of papaya (*Carica papaya* L.). <http://www.apsnet.org/publications/commonnames/Pages/Papaya.aspx>. (Consulta: febrero 2011).
- Bannon, F., G. Gort, G. V. Leeuwen, I. Holb, and M. Jeger. 2009. Diurnal patterns in dispersal of *Monilinia fructigena* conidia in an apple orchard in relation to weather factors. *Agric. For. Meteorol.* 149: 518-525.
- Barnett, L. H., and B. B. Hunter. 2006. Illustrated Genera of Imperfect Fungi. Fourth Edition. American Phytopathological Society. St. Paul, Minnesota, USA. 218 p.
- Booth, C. 1971. The Genus *Fusarium*. Commonwealth Mycological Institute, Kew, Surrey, England. 237 p.
- Burgess, L. W., A. B. Summerell, S. Bullock, P. K. Gott, and D. Backhouse. 1994. Laboratory Manual for *Fusarium* Research. Universidad de Sydney, Australia. 133 p.
- Campbell, C. L., and Madden, L.V. 1991. Introduction to Plant Diseases Epidemiology. John Wiley & Sons. USA. 532 p.
- Chávez Q. P., T. González F., I. Rodríguez B., and S. Gallegos T. 2011. Antifungal activity in ethanolic extracts of *Carica papaya* L. cv. Maradol leaves and seeds. *Indian J. Microbiol.* 51: 54-60.
- Chen, R. S., W. L. Wang, J. C. Li, Y. Y. Wang, and J. G. Tsay. 2009. First report of papaya scab caused by *Cladosporium cladosporioides* in Taiwan. *Plant Dis.* 90: 426.
- Cia, P., S. F. Pascholati, E. A. Benato, E. C. Camili, and C. A. Santos. 2007. Effects of gamma and UV-C irradiation on the postharvest control of papaya anthracnose. *Postharvest Biol. Technol.* 43: 366-373.
- De Linares C., J. Belmonte, M. Canela, C. Díaz de la G., F. Alba S., S. Sabariego., and S. Alonso P. 2010. Dispersal patterns of *Alternaria conidia* in Spain. *Agric. For. Meteorol.* 150: 1491-1500.
- De los Santos de la R. F., E. N. Becerra L., R. Mosqueda V., A. Vásquez H., y A. B. Vargas G. 2000. Manual de producción de papaya en el estado de Veracruz. Folleto Técnico No. 17. INIFAP-CIRGOC. Campo Experimental Cotaxtla. Veracruz, México. 87 p.
- FAOSTAT (Food and Agriculture Organization of the United Nations). 2010. <http://faostat3.fao.org/home/index.html#DOWNLOAD> (Consulta: septiembre de 2012).
- Fernando, W. G. D., J. D. Miller, W. L. Seaman, K. Seifert, and T. A. Paulitz. (2000). Daily and seasonal dynamics of airborne spores of *Fusarium graminearum* and other *Fusarium* species sampled over wheat plots. *Can. J. Bot.* 78, 497-505.
- Frenguelli, G. 1998. The contribution of aerobiology to agriculture. *Aerobiologia* 14: 95-100.
- Gadoury, D. M., and W. E. MacHardy. 1983. A 7-day recording volumetric spore trap. *Phytopathology* 73: 1526-1531.
- Iglesias, I., J. Rodríguez R. F., and J. Méndez. 2007. Evaluation of the different *Alternaria* prediction models on a potato crops in A Limia (NW of Spain). *Aerobiologia* 23: 27-34.
- Skelsey, P., G. J. T. Kessel, A. A. M. Holtslag, A. F. Moene, and W. van der Werf. 2009. Regional spore dispersal as a factor in disease risk warnings for potato late blight: A proof of concept. *Agric. For. Meteorol.* 149: 419-430.
- Marín J., E., H. S. Fernández, N. A. Peres, M. Andrew, T. L. Peever, and L. W. Timmer. 2006. First report of *Alternaria* brown spot of citrus caused by *Alternaria alternata* in Peru. *Plant Dis.* 5: 686.
- Mora A., A. 2000. Patogénesis y epidemiología de la "escoba de bruja" (*Fusarium subglutinans* (Wollenweb & Reinking) y *F. oxysporum* (Schlecht)) del mango (*Mangifera indica* L.) en Michoacán, México. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Estado de México. 107 p.
- Mora A., A., D. Téliz O., G. Mora A., P. Sánchez G., y J. Javier M. 2003. Progreso temporal de "escoba de bruja" (*Fusarium oxysporum* y *F. subglutinans*) en huertos de mango (*Mangifera indica* L.) cv. Haden en Michoacán México. *Rev. Mex. Fito-patol.* 21: 1-12.
- Morton, J. F. 1987. Papaya. In: Morton, J. F. (ed). *Fruits of Warm Climates*. Miami, FL. pp: 336-346.
- NCBI (National Center for Biotechnology Information). 2009. www.ncbi.nlm.nih.gov/ (Consulta: diciembre de 2009).
- Nelson, E. P., T. A. Toussound, and W. F. O. Marasas. 1983. *Fusarium* Species. An Illustrated Manual for Identification. The Pennsylvania State University. USA. 193 p.
- Picco, A. M., and M. Rodolfi. 2002. *Pyricularia grisea* and *Bipolaris oryzae*: a preliminary study on the occurrence of airborne spores in a rice field. *Aerobiologia* 18: 163-167.
- Prusky, D. 1996. Pathogen quiescence in postharvest diseases. *Ann. Rev. Phytopathol.* 34: 413-434.
- Rodríguez A. G., S. P. Fernández P., J. A. Geraldo V., and L. Landa H. 2001. *Pythium aphanidermatum* causing collar rot in papaya in Baja California Sur, Mexico. *Plant Dis.* 85: 444.
- Rossi, V., L. Languasco, E. Pattoru, and S. Giosue. 2002. Dynamics of airborne *Fusarium* macroconidia in wheat fields naturally affected by head blight. *J. Plant Pathol.* 84: 53-64.
- Rotem, J. 1994. The Genus *Alternaria*. Biology, Epidemiology, and Pathogenicity. APS Press. St. Paul, Minnesota, USA. 326 p.
- Tapia T. R., A. Quijano R., A. Cortés V., P. Lappe, A. Larqué-Saavedra., and D. Pérez B. 2008. PCR-based detection and characterization of the fungal pathogens *Colletotrichum gloeosporioides* and *Colletotrichum capsici* causing anthracnose in papaya (*Carica papaya* L.) in the Yucatan, Peninsula. *Mol. Biotechnol.* 40: 293-298.
- Van Maanen, A., and X. Xu. 2003. Modelling plant disease epidemics. *Eur. J. Plant Pathol.* 109: 669-682.
- Van Niekerk, J. M., F. J. Calitz, F. Halleen, and P. H. Fourie. 2010. Temporal spore dispersal patterns of grapevine trunk pathogens in South Africa. *Eur. J. Plant Pathol.* 127: 375-390.
- Vásquez L., A. 2008. La muerte descendente y la necrosis floral del zapote mamey (*Pouteria sapota* (Jacq.) H.E. Moore & Stearn) en Guerrero, México. Tesis Doctoral. Colegio de Postgraduados. Montecillo, Texcoco, Edo. de México. 99 p.
- Watanabe, T. 2002. Pictorial Atlas of Soil and Seed Fungi Morphologies of Cultured Fungi and Key to Species. 2nd ed. CRC Press LLC. Boca Raton, Florida, USA. 486 p.