



**DINÁMICA TEMPORAL DE LA MARCHITEZ DE LA VAINILLA (*Vanilla planifolia*) ASOCIADA A *Fusarium* spp., EN TRES SISTEMAS DE PRODUCCIÓN EN PAPANTLA, MÉXICO †**

**[TEMPORAL DYNAMICS OF VANILLA (*Vanilla planifolia*) WILT DISEASE ASSOCIATED TO *Fusarium* spp. IN THREE CROP SYSTEMS AT PAPANTLA, MEXICO]**

**Héctor González-Reyes<sup>1</sup>, María del Pilar Rodríguez-Guzmán<sup>2\*</sup>, María de Jesús Yáñez-Morales<sup>3</sup> and José Alberto Salvador Escalante-Estrada<sup>4</sup>**

<sup>1,2,3</sup> Fitopatología, Instituto de Fitosanidad, Colegio de Postgraduados, km 36.5 Carr. México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Edo México, CP 56230, México. Email: pilarrg@colpos.mx

<sup>4</sup>Postgrado de Botánica, Colegio de Postgraduados, km 36.5 Carr. México-Texcoco, Montecillo, Texcoco, Edo México, CP 56230, México.

\*Corresponding author

### SUMMARY

**Background.** Vanilla wilt disease caused by *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* is a major limiting factor in the vanilla crop production in México. **Methodology.** Temporal dynamics of vanilla wilt was studied under different crop production systems, rustic (RS), traditional (TS) and with orange tree as the tutor plant (OTS) in Papantla, Veracruz. Thirty vanilla plants per orchard were selected; roots and rhizosphere soil per plant were sampled from May to December of 2016, to assess *Fusarium* spp. incidence and severity in roots and inoculum density in rhizosphere soil. Plant phenology and weather variables were also estimated. **Results.** Temporal behavior of inoculum density and *Fusarium* spp. root incidence showed a monomolecular increase in all crop production systems. OTS showed the highest growth rates for ID ( $r = 0.023$  propagules per day) and incidence ( $r = 0.006$  % per day), but the lowest area under the disease progress curve (AUDPC) for severity (529.1 % per month), an intermediate amount for root biomass rate ( $r = 0.018$  g per day) and the highest crop yield ( $0.6 \text{ t ha}^{-1}$ ); meanwhile, RS obtained the highest disease severity AUDPC (1267.71 % per month), the lowest root biomass rate ( $r = 0.011$  g per day) and zero crop yield. Disease severity in roots decreased their biomass and the crop yield. Greenhouse pathogenicity tests showed that *Fusarium oxysporum* induced similar wilt and rot disease symptoms in vanilla roots and stems, and foliar yellowing and fall, as those recorded in the crop field, but this not happened with *Fusarium solani*. **Conclusion.** Vanilla wilt disease occurred during the whole period of assessment in this study, and it was affected by the type of crop production system and management strategies.

**Key words:** epidemic; disease severity; inoculum density; root pathogens; temporal dynamic.

### RESUMEN

**Antecedentes.** La marchitez de la vainilla, causada por *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*, es un importante factor limitante en la producción de este cultivo en México. **Metodología.** Se estudió el comportamiento temporal de la marchitez de la vainilla bajo sistemas de producción rústico (SR), convencional (SC) y con tutor “naranja” (STN) en Papantla, Veracruz. Se seleccionaron 30 plantas por huerto; de mayo a diciembre de 2016 se colectaron raíces y suelo de rizosfera por planta, evaluándose la incidencia y severidad causadas por *Fusarium* spp. en raíces, y densidad de inóculo en suelo de rizosfera. Se evaluaron algunas variables del ambiente y de la fenología de la planta. **Resultados.** El modelo de crecimiento monomolecular describió el comportamiento temporal del inóculo e incidencia de *Fusarium* spp. en los tres sistemas. El STN presentó mayores tasas de incremento del inóculo ( $r = 0.023$  propágulos por día) e incidencia ( $r = 0.006$  % por día), así como la menor área bajo la curva del progreso de la enfermedad (ABCPE) de la severidad (529.1 % por mes), un valor intermedio para biomasa de raíces ( $r = 0.018$  g por día) y la mayor producción ( $0.6 \text{ t ha}^{-1}$ ); el SR tuvo la mayor ABCPE de severidad (1267.71 % por mes), la menor biomasa de raíces ( $r = 0.011$  g por día) y cero producción. La severidad del daño radical afectó la biomasa radical y producción del cultivo. En pruebas de patogenicidad, sólo *Fusarium oxysporum* indujo pudrición de raíz, tallo, marchitez y caída de hojas; pero no por *Fusarium solani*. **Conclusión.** La marchitez de la vainilla se presentó durante todo el periodo evaluado del cultivo, y su comportamiento fue afectado por el tipo de sistema de cultivo y su manejo.

**Palabras clave:** epidemia, severidad de la enfermedad, densidad de inóculo, patógenos de raíces, dinámica temporal.

† Submitted April 1, 2019 – Accepted September 23, 2019. This work is licensed under a CC-BY 4.0 International License.  
ISSN: 1870-0462.

## INTRODUCCIÓN

La vainilla es considerada, a nivel mundial, la segunda especia más cara después del azafrán (*Crocus sativus*) (Havkin-Frenkel y Belarger, 2011). México produce la mejor vainilla del mundo y cuenta con la denominación de origen (De la Cruz, 2009), su principal zona productora es la Región del Totonacapan, estado de Veracruz, el cual aporta el 76.8 % de la producción nacional (SIAP, 2017). El género *Vanilla* pertenece a la familia Orquideaceae (Soto, 2009) y *V. planifolia* es la especie más utilizada en la producción comercial (Herrera-Cabrera *et al.*, 2012). El establecimiento del cultivo se realiza por reproducción asexual y se utilizan esquejes de ocho yemas axilares o más, con la finalidad de garantizar el rápido crecimiento de las plantas (Hernández y Sánchez, 2011). Este tipo de propagación ha provocado escasez de variabilidad genética y ha favorecido la susceptibilidad de las plantas a daños por plagas y enfermedades (Bory *et al.*, 2008). Por su hábito de crecimiento, el cultivo de vainilla se establece junto a tutores; los principales sistemas de producción son en acahual, en tutor pichoco (*Erythrina* sp.), en tutor naranjo y en casa sombra (Barrera *et al.*, 2009; Hernández, 2007). En la región del Totonacapan, diversas enfermedades afectan seriamente el cultivo; la principal es la marchitez causada por el hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*, que provoca pudrición de raíces y tallos (Adame *et al.*, 2011). Recientemente, la caracterización con técnicas moleculares ha permitido diagnosticar a *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae* (Koyyappurath *et al.*, 2016) como el agente causal de la marchitez de la vainilla en la Polinesia Francesa. *F. oxysporum* f. sp. *vanillae* causa los mismos síntomas en plantaciones de vainilla en Colombia (Santa *et al.*, 2012), Indonesia (Bhai y Dhanesh, 2008; Pinaria *et al.*, 2010), Isla de la Reunión, Madagascar y la Polinesia Francesa (Koyyappurath *et al.*, 2015). De acuerdo con Hernández (2011), la enfermedad se encuentra presente todo el año, pero es más severa en el periodo de lluvias y las plantaciones menores de cuatro años de edad son las más afectadas. En el cultivo de vainilla se han llevado a cabo diversos estudios puntuales en relación a las posibles causas que favorecen la expresión, incidencia y daño de esta enfermedad (Sánchez *et al.*, 2001; Gangadhara *et al.*, 2010; Ramos *et al.*, 2017; Xiong *et al.*, 2017). Sin embargo, en el patosistema *Fusarium*-vainilla, los estudios epidemiológicos sobre el comportamiento temporal de la enfermedad no existen; es por ello que se desarrolló esta investigación con el objetivo de conocer la dinámica temporal de *Fusarium* spp. y la dinámica de la incidencia y severidad de la marchitez de la vainilla en tres sistemas de manejo, en relación con la fenología del cultivo y las condiciones climáticas.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Área de estudio

En el municipio de Papantla, Veracruz se eligieron tres vainillales de cinco años de edad, con diferentes sistemas de cultivo: i) rústico (SR), (20°21'28" N, 97°11'03" W), con malla sombra al 50 %, tutores vivos de pichoco (*Erythrina* sp.), con riego por microaspersión y manejo fitosanitario deficiente; ii) convencional (SC), (20°20'18" N, 97°12'04" W), con malla sombra al 50 %, tutores vivos de *Erythrina* sp., con riego por microaspersión, prácticas básicas para el control de plagas y enfermedades y aplicaciones periódicas de materia orgánica; y iii) tutor naranjo (STN), (20°20'41" N, 97°10'20" W), establecido en árboles de naranjo, con riego de temporal, con control de malezas y su incorporación al suelo como la única actividad cultural.

### Selección de plantas de vainilla para evaluación de *Fusarium* y la marchitez

En cada huerto se seleccionaron 30 plantas de vainilla, 10 aparentemente sanas y 20 con síntomas de marchitez (amarillamiento de plantas, pudrición de raíces y tallos). De la zona de crecimiento radical de cada una de las plantas, se recolectó el total de raíces contenidas en un volumen de 500 cm<sup>3</sup> de suelo (10x10x5 cm), en seis diferentes fechas de muestreo durante mayo a diciembre de 2016 (14 de mayo, 10 de junio, 8 de julio, 16 de agosto, 02 de octubre y 18 de diciembre). Las muestras se guardaron en bolsas de papel, se etiquetaron y trasladaron al Laboratorio de Ecología y Epidemiología de Patosistemas de la Raíz, en el Colegio de Postgraduados, Programa de Fitosanidad, Campus Montecillo. Las raíces recolectadas de cada planta fueron examinadas visualmente; se evaluó la densidad de inóculo (DI) de *Fusarium* spp. en el suelo de rizosfera (propágulos g<sup>-1</sup> de suelo), y la incidencia y severidad del daño.

### Evaluación y análisis cuantitativo de la densidad de inóculo de *Fusarium* spp. en suelo de rizosfera

La cuantificación de la densidad de inóculo (DI) de *Fusarium* se realizó en cada fecha de muestreo de la siguiente manera: del total de raíces obtenido de cada planta, se pesó 1.0 g de raíces con síntomas de marchitez, se colocaron en un matraz con 99 mL de agua-agar al 0.2 % y se agitaron (Vortex Genie®) durante 5 min; a partir de esta solución inicial, se obtuvo una dilución 10<sup>-3</sup>, de la cual se tomó 1 mL y se esparció en una caja de Petri con medio de cultivo PDA (Papa-Dextrosa-Agar, BD BIOXON®), acidificado con ácido láctico. Las cajas se incubaron a 27 °C por cinco días y posteriormente se hizo el conteo de colonias de *Fusarium* spp. Los valores de la densidad

de inóculo de las diferentes fechas de muestreo, se manejan de forma acumulativa en relación al tiempo, y se ajustaron a tres modelos de crecimiento poblacional; se consideró como capacidad de carga máxima ( $K_{m\acute{a}x}$ ) a la cantidad máxima de propágulos obtenida durante todos los muestreos realizados. Se aplicaron las siguientes ecuaciones para linearizar cada modelo: Logístico ( $\ln(y/(k-y))$ ), Monomolecular ( $\ln(k/(k-y))$ ), y Gompertz ( $\ln(k/\log(k/y))$ ) (Campbell y Madden, 1990).

### Evaluación y análisis cuantitativo de incidencia y severidad de la enfermedad en raíces

Del gramo de raíces tomado anteriormente, se cortaron 10 trocitos ( $\approx 0.5$  cm) y se desinfectaron en hipoclorito de sodio 1 % durante 1 min, se enjuagaron tres veces en agua destilada estéril, se secaron con toallas de papel esterilizadas, se sembraron en medio de cultivo semiselectivo Kerr (Dhingra y Sinclair, 1987) y se incubaron a 27 °C. Las colonias de *Fusarium* spp. se cuantificaron cuatro a ocho días después. El porcentaje de incidencia en raíces se estimó con la fórmula de Noriega *et al.* (1999), modificada para ajustarla a la estimación mensual de la incidencia de la siguiente manera:

$$\text{Incidencia (\%)} = \frac{\text{Número de raíces con crecimiento de } Fusarium \text{ spp.}}{\text{Total de trocitos de raíz sembrados}} * 100$$

Se utilizó la ecuación  $Y_{ic} = Y_i/N$  (Noriega *et al.*, 1999), donde  $Y_{ic}$  es la incidencia acumulada,  $Y_i$  es el número acumulado de trocitos de raíces con crecimiento de *Fusarium* en el tiempo  $i$ , y  $N$  es el total de trocitos de raíces sembrados durante el ciclo, para obtener la incidencia acumulada de la enfermedad. Los datos se graficaron en relación al tiempo, con lo cual se obtuvo la curva de progreso de la incidencia de la enfermedad absoluta y acumulada en el tiempo; la curva de progreso de la incidencia de la enfermedad acumulada en el tiempo se ajustó a tres modelos empíricos de crecimiento en su forma linearizada: Logístico ( $\ln y/(1-y) = \ln(y_0/(1-y_0)) + r_L t$ ), Gompertz ( $-\ln(-\ln y) = -\ln(-\ln y_0) + r_G t$ ), y Monomolecular ( $[\ln(1/(1-y))] = \ln[(1/(1-y_0)) + r_M t]$ ) (Campbell y Madden, 1990), obteniéndose la tasa de incremento de las epidemias para cada modelo. Se aplicó el Modelo Lineal General (GLM) y el método de mínimos cuadrados, en el paquete estadístico SAS® V.9. Se eligió el modelo que describió mejor el progreso temporal de la enfermedad con base en los estadísticos: coeficiente de determinación ( $R^2$ ), cuadrado medio del error (CME), probabilidad del modelo ( $<F$ ), valor de los errores estándar de los parámetros  $\beta_0$  y  $\beta_1$  y su nivel de significancia, y la distribución de los valores residuales.

Se elaboró por primera vez para este cultivo, un Diagrama Estándar de Severidad de siete clases para evaluar la severidad del daño de la enfermedad con base en la sintomatología de las raíces. El diagrama estándar de severidad propuesto evalúa, además, el daño general en porcentaje del total de raíces con base en el punto medio del valor asignado a cada clase. Se calculó el índice de severidad (IS) en cada fecha de muestreo con la fórmula:  $IS = (\sum nv/(N-1)T) * 100$ , donde: IS = índice de severidad,  $n$  = número de plantas por cada clase,  $v$  = valor de clase,  $N-1$  = número de clases empleadas en la escala y  $T$  = número total de plantas por fecha de muestreo (Ramírez *et al.*, 2012). Los datos de los IS se graficaron con respecto al tiempo para cada sistema de manejo, y las curvas obtenidas se integraron aplicando el área bajo la curva de progreso de la severidad de la enfermedad (ABCPE), mediante el método del trapecioide (Campbell y Madden, 1990).

### Comparación de epidemias

Las curvas de crecimiento de las epidemias originadas por la incidencia y densidad de inóculo en los tres sistemas de producción de vainilla, se compararon mediante sus tasas de cambio respecto al tiempo ( $r$ ), de acuerdo a los modelos de crecimiento ajustados y aplicando una prueba de  $t$ . En el caso de la severidad respecto al tiempo, se compararon las ABCPE y también se comparó el índice de severidad promedio obtenidos para cada sistema de cultivo; estas comparaciones se hicieron por medio de una prueba de  $t$  ( $P = 0.05$ ) (Infante y Zárate, 2013).

### Identificación morfológica de *Fusarium* spp.

Los aislamientos seleccionados de raíces y suelo de rizosfera se purificaron por cultivo monospórico en cajas de Petri con los medios de cultivo PDA, SNA (SNA: 1.0 g  $KH_2PO_4$ ; 1.0 g  $KNO_3$ ; 0.5 g  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ; 0.5 g KCL; 0.2 g glucosa; 0.2 g sucrosa; 20.0 g agar; 1000 mL agua destilada) y agar clavel (CLA, Leslie y Summerell, 2006) Las colonias puras se incubaron por siete días a 27 °C en oscuridad y tres días en luz natural bajo condiciones de laboratorio ( $\pm 22$  °C). Se realizaron preparaciones en portaobjetos, se observaron sus características morfológicas con un microscopio compuesto (Nikon®-H550S) a 40X y se identificaron a nivel de género con base en las claves taxonómicas de Hollyday (1995), y a especie con el Manual de Especies de *Fusarium* de Leslie y Summerell (2006).

### Patogenicidad

Los dos aislamientos más abundantes obtenidos de raíces y suelo de rizosfera, se usaron para efectuar las pruebas de patogenicidad en plantas de vainilla, para lo cual se siguieron los Postulados de Koch. Se

colectaron esquejes sanos de dos entrenudos en el sistema de manejo convencional y se dejaron cicatrizar por tres días; posteriormente se desinfectaron por inmersión durante 10 min en fungicida (Captan<sup>®</sup>, 1.5 g L<sup>-1</sup>). Se les colocó enraizador (Radix 5000<sup>®</sup>) en la base, se sembraron en vasos de unicel de 1 kg de volumen, con sustrato estéril (Peatmoss<sup>®</sup> + Agrolita<sup>®</sup>, 3:1 v/v), se colocaron en condiciones controladas de fotoperiodo (12 h luz: 12 h oscuridad) y temperatura de 25 °C en una cámara bioclimática (Warner Sherer, Kysor Industrial) para su crecimiento. Posteriormente se inocularon por aislamiento del hongo cuatro plantas de 14 meses de edad. Para ello, los aislamientos se crecieron en PDA durante siete días a oscuridad y 27 °C, y tres días en luz natural y  $\pm$  22 °C. Posteriormente, se usó una cámara de Neubauer para el conteo de esporas y se preparó una suspensión de inóculo a una concentración de  $1 \times 10^6$  conidios mL<sup>-1</sup>, en la que el sistema radical de las plantas se sumergió durante 5 min. Las plantas inoculadas se incubaron bajo condiciones controladas en cámara bioclimática a 25 °C y 12h luz: 12 h oscuridad, durante 35 días.

### Fenología de la vainilla y producción

Para medir la biomasa de raíces (g), las raíces de cada planta recolectadas en los 500 cm<sup>3</sup> mencionados anteriormente, se desecaron en un horno de calor seco (Riosa<sup>®</sup>, 300 °C) a 70 °C durante 72 h y se pesaron en una balanza digital (Ohamus<sup>®</sup>). En campo, se observaron y registraron periódicamente la fecha de inicio y duración de las diferentes etapas y cambios fenológicos de la planta; se cuantificó número de entrenudos, hojas, longitud del tallo y producción. Los datos de biomasa de raíces se ajustaron a la función logística de crecimiento poblacional, con una  $K_{máx}$  (capacidad de carga). Los datos de la producción total (t ha<sup>-1</sup>) en cada sistema de cultivo del ciclo 2016, fueron proporcionados por los productores y se aplicó una prueba de  $X^2$  (chi-cuadrado) para determinar diferencias significativas ( $P = 0.05$ ).

### VARIABLES CLIMÁTICAS

Los datos mensuales de temperatura, humedad relativa y precipitación pluvial se obtuvieron en la plataforma de la Red Meteorológica del Instituto Nacional de Investigaciones Forestales y Agropecuarias (INIFAP), en la estación del Campo Experimental Ixtacuaco, Tlapacoyan, Veracruz, durante el periodo enero-diciembre 2016, ubicada aproximadamente a 70 km de las plantaciones evaluadas.

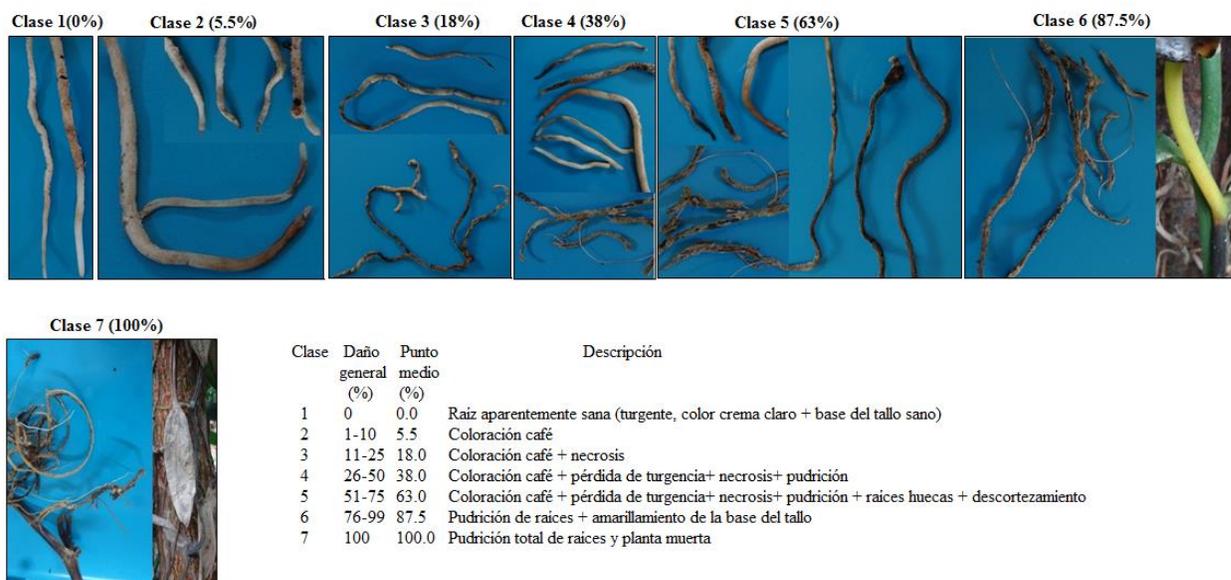
## RESULTADOS

### Dinámica de las variables severidad, incidencia, densidad de inóculo y biomasa de raíces

En las raíces de plantas de vainilla evaluadas en las diferentes fechas de muestreo se distinguieron seis diferentes síntomas: coloración café, pérdida de turgencia, pudrición, necrosis, raíces huecas y descortezamiento, como se muestra en el Diagrama Estándar de Severidad propuesto en este trabajo (Figura 1).

En el SR, los mayores índices de severidad en raíces se presentaron a lo largo del ciclo del cultivo (Figura 2A), el cual también registró el mayor IS (65.3%) en el periodo de mayo a julio, lo que coincidió con el amarre de frutos; sin embargo, la severidad disminuyó significativamente de agosto a diciembre, meses donde se presentó el menor IS (48.6%). En este sistema, durante la etapa de desarrollo de los frutos tres plantas murieron en julio. En el SC, los IS máximos se presentaron en julio (53.9%) y agosto (56.1%), disminuyendo en diciembre (52%). En el STN el IS máximo (47.2%) se presentó en junio (iniciada la etapa de desarrollo de los frutos) y el más bajo del ciclo (34.3%) en julio. Por otra parte, el mayor promedio de biomasa de raíces se presentó en el SC (0.9 g) y el menor en el SR (0.5 g). Sin embargo, los tres sistemas mostraron un incremento importante durante agosto y octubre (etapa de desarrollo de frutos), disminuyendo en diciembre (Figura 2A). En los tres sistemas tiende a haber menor biomasa radical cuando los niveles de severidad son mayores.

En general, la incidencia de *Fusarium* en raíces fue mayor en el vainillal con STN durante todo el periodo de evaluación, con respecto a los huertos en SC y SR. En el mes de junio, la incidencia alcanzó su máximo valor absoluto (87.2 %), coincidiendo con la etapa de desarrollo de los frutos; en esta fecha la temperatura media fue de 27.1 °C y la humedad relativa 84.3 %, favorables para el desarrollo de la enfermedad. Los huertos en SR y SC presentaron la mayor incidencia (82.2% y 79%, respectivamente) en diciembre, periodo con temperatura media de 21.3 °C y humedad relativa que alcanzó su máximo valor (91.3 %). La incidencia de *Fusarium* en raíces disminuyó considerablemente en julio con valores de 55.7 %, 60.7 % y 65 % para los SR, SC y STN, respectivamente (Figura 2B); pero incrementó de agosto a diciembre nuevamente. En relación con la densidad de inóculo de los tres sistemas, los valores promedios máximos se presentaron para el STN en junio, para el SC en agosto y para el SR en diciembre, con 8.9, 5.7 y 5.0 ( $\times 10^3$ ) propágulos de *Fusarium* g<sup>-1</sup> de suelo de rizosfera, respectivamente, que corresponden a las etapas de desarrollo de frutos y crecimiento vegetativo (Figura 2B). En los tres huertos tiende a haber mayor incidencia de la enfermedad en las raíces cuando la densidad de inóculo en el suelo de rizosfera se incrementa (Figura 2B).



**Figura 1.** Diagrama estándar de severidad propuesto y usado para evaluar el daño causado por la marchitez en raíces; cada clase indica el porcentaje general de daño en todo el sistema radical.

### Progreso temporal de la incidencia, densidad de inóculo y biomasa de raíces

El incremento temporal de la incidencia de la marchitez y densidad de inóculo de *Fusarium* spp., en los tres sistemas de producción se ajustó al modelo monomolecular en su forma linearizada, con base en los criterios estadísticos más importantes (Cuadro 1). La mayor tasa de incremento de la incidencia en raíces se presentó en el vainillal con STN ( $r = 0.006$  % día<sup>-1</sup>), mientras que los SC ( $r = 0.005$ ) y SR ( $r = 0.005$ ) fueron iguales (Cuadro 1). La (DI) tuvo la mayor tasa de incremento en el STN ( $r = 0.023$  propágulos día<sup>-1</sup>), seguido de SC ( $r = 0.007$ ) y STN ( $r = 0.005$ ). En lo que se refiere al comportamiento temporal de la biomasa de raíces, el modelo Logístico fue el que mejor ajustó a esta variable; el SC presentó la mayor tasa de incremento de la biomasa de raíces ( $r = 0.024$  g día<sup>-1</sup>), seguido por el STN ( $r = 0.018$ ), mientras que el SR obtuvo la tasa más baja ( $r = 0.011$ ) (Cuadro 1).

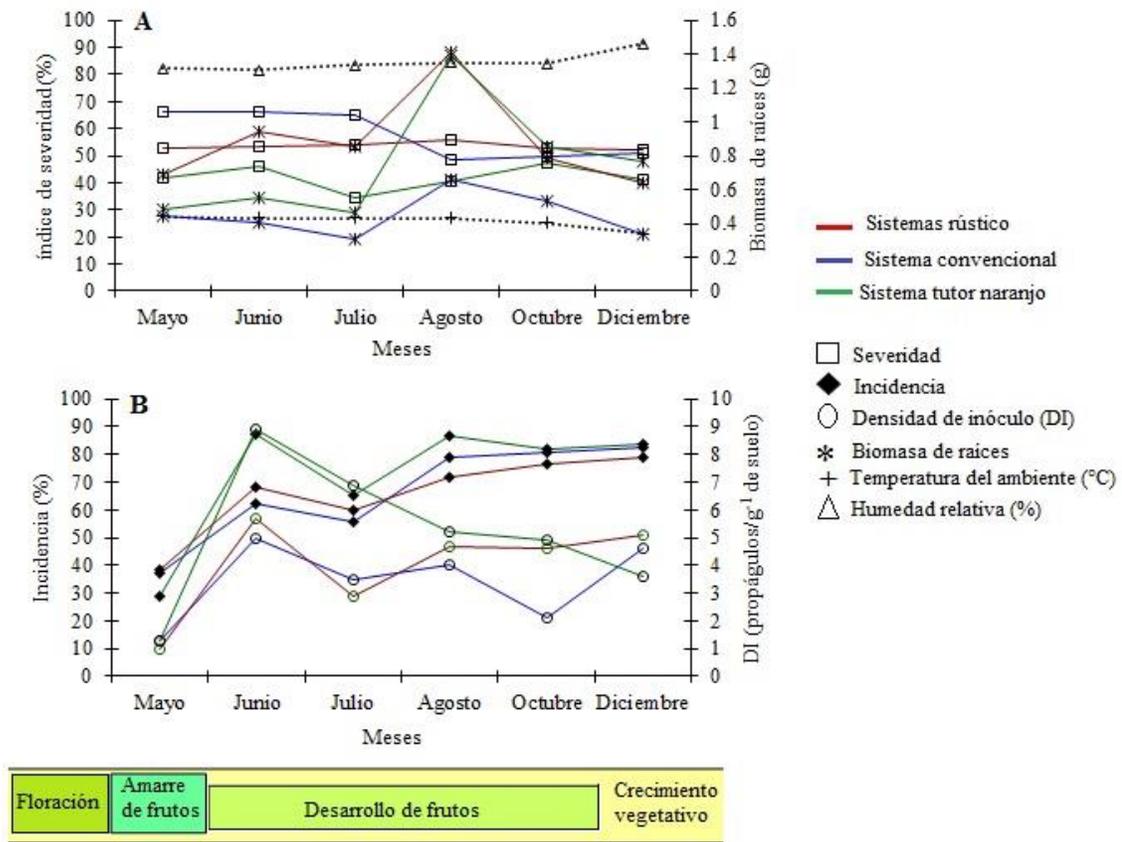
### Severidad del daño en raíces

El huerto con SR presentó constantemente los valores más altos del IS a través del tiempo (Figura 2A), mientras que el huerto STN tuvo los valores más bajos. Por otra parte, el comportamiento temporal de los IS estimados en los tres sistemas, presentó los valores más altos de mayo a julio, y disminuyó de agosto a diciembre (Figura 2A). El área bajo la curva del progreso de la enfermedad fue mayor (1267.71 % día<sup>-1</sup>

<sup>1</sup>) en el SR, seguido del SC (1004.42) y STN (529.1) (Cuadro 2).

### Comparación de epidemias

La comparación de la severidad de las epidemias mediante el ABCPE indicó diferencias significativas para la comparación SC vs. STN y para SR vs. STN (Cuadro 3). La comparación de los índices de severidad promedio de cada sistema de producción mediante la prueba de *t*, mostró que la severidad promedio entre SC (32.1%) vs. STN (25.1%) y SR (34.6%) vs. STN (25.1%) presentaron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ); en cambio, la comparación de SR (34.6%) vs. SC (32.1%) no presentó diferencias (Cuadro 3). En cuanto a la incidencia de *Fusarium* spp. en raíces, no hubo diferencias significativas entre SR vs. SC, pero sí entre SC vs. STN y entre SR vs. STN; el huerto STN presentó la tasa de incremento más alta de incidencia ( $r = 0.006$ ) (Cuadro 3). La comparación de las tasas de incremento de la densidad de inóculo de *Fusarium* spp. en suelo de rizosfera para cada sistema, ajustadas por el modelo monomolecular, mostró diferencias significativas entre los tres sistemas ( $P = 0.05$ ); el huerto con STN presentó la tasa más alta ( $r = 0.023$ ) (Cuadro 3). Las tasas de incremento de la biomasa de raíces, ajustadas por el modelo logístico, mostraron diferencias significativas ( $p \leq 0.05$ ) para la comparación de SR vs. SC y para SR vs. STN (Cuadro 3); el SC presentó la mayor tasa de incremento ( $r = 0.024$ ), seguido por el STN ( $r = 0.018$ ) y el SR tuvo la menor tasa ( $r = 0.011$ ).



**Cuadro 1.** Tasa de cambio ( $r$ ) de la incidencia, densidad de inóculo de *Fusarium* spp., y biomasa de raíces de los tres sistemas de cultivo, y estadísticos considerados en el ajuste de estas variables a los modelos de crecimiento en su forma linealizada.

Estadístico	Incidencia			Densidad de inóculo			Biomasa de raíces		
	Modelo monomolecular			Modelo monomolecular			Modelo Logístico		
	SR	SC	STN	SR	SC	STN	SR	SC	STN
$r$	0.005 <sup>a</sup>	0.005 <sup>a</sup>	0.006 <sup>b</sup>	0.005 <sup>a</sup>	0.007 <sup>b</sup>	0.023 <sup>c</sup>	0.011 <sup>a</sup>	0.024 <sup>b</sup>	0.018 <sup>c</sup>
R <sup>2</sup> (%)	99.9	99.9	99.9	98.7	99.7	92.7	88.9	98.6	95.4
CME	0.0001	0.0020	0.0003	0.0022	0.0009	0.314	0.115	0.062	0.121
Pr>F	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	<0.0001	0.0021	0.0048	<.0001	0.0008

SR = sistema rústico, SC = sistema convencional, STN = sistema tutor naranjo; R<sup>2</sup> = coeficiente de determinación, CME = cuadrado medio del error, Pr>F = probabilidad del modelo,  $r$  = tasa de crecimiento, letras iguales = no hay diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

**Cuadro 2.** Comparación del ABCPE de la severidad de la marchitez en raíces de vainilla en los tres sistemas, aplicando la prueba de  $t$  (Infante y Zárate, 2013).

Variable	Comparación de ABCPE	$t_c$	$t_{1\alpha/2, n1 + n2}$
Severidad	SR (1267.71) vs. SC (1004.42)	0.21	2.23
	SC (1004.42) vs. STN (529.09)	2.35*	2.23
	SR (1267.71) vs. STN (529.09)	-1.69*	-2.23

SR = sistema rústico, SC = sistema convencional, STN = sistema tutor naranjo, \* existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

**Cuadro 3. Comparación de las variables correspondientes a cada componente del patosistema marchitez de la vainilla en tres sistemas de manejo, mediante la prueba de *t* (Infante y Zárate, 2013).**

Variable	Parámetros para cada sistema de manejo	$t_c$	$t_{\alpha/2, n1 + n2}$
Severidad (enfermedad)	IS <sub>SR</sub> = 34.6 vs. IS <sub>SC</sub> = 32.1	1.19	2.18
	IS <sub>SC</sub> = 32.1 vs. IS <sub>STN</sub> = 25.1	5.80*	2.18
	IS <sub>SR</sub> = 32.1 vs. IS <sub>STN</sub> = 25.1	3.93*	2.18
Incidencia (enfermedad)	SR $r$ = 0.005 vs. SC $r$ = 0.005	0.17	2.18
	SC $r$ = 0.005 vs. STN $r$ = 0.006	-0.23*	-2.18
	SR $r$ = 0.005 vs. STN $r$ = 0.006	-0.40*	-2.18
Densidad de inóculo (patógeno)	SR $r$ = 0.005 vs. SC $r$ = 0.007	-0.28*	-2.18
	SC $r$ = 0.007 vs. STN $r$ = 0.023	-1.01*	-2.18
	SR $r$ = 0.005 vs. STN $r$ = 0.023	-1.30*	-2.18
Biomasa de raíces (hospedante)	SR $r$ = 0.011 vs. SC $r$ = 0.024	-1.90*	-2.18
	SC $r$ = 0.024 vs. STN $r$ = 0.018	0.77	2.18
	SR $r$ = 0.011 vs. STN $r$ = 0.018	-1.07*	-2.18

SR = sistema rústico, SC = sistema convencional, STN = sistema tutor naranjo, IS = índice de severidad,  $r$  = tasa de incremento, \*existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ).

### Identificación morfológica de *Fusarium* spp. asociado a raíces de vainilla

Los diferentes aislamientos obtenidos de raíces y suelo de rizosfera y que se ubicaron en el género *Fusarium*, presentaron micelio hialino y septado, macroconidios en forma de luna, generalmente con tres septos; microconidios hialinos sin septos o con un septo; clamidiosporas intercalares, terminales y/o en pares; formando colonias algodonosas, aéreas, de color rosa, salmón, lila o rojizo. Se obtuvieron 40 aislamientos morfológicamente distintos y los dos más abundantes se identificaron como *F. oxysporum* y *F. solani* (Leslie and Summerell, 2006). Durante todas las evaluaciones realizadas en esta investigación se aislaron de manera frecuente a *Rhizoctonia* sp. de raíces y *Trichoderma* sp. de raíces y suelo de rizosfera.

### Pruebas de patogenicidad

En las pruebas de patogenicidad realizadas con los aislamientos de *F. oxysporum* y *F. solani* seleccionados, obtenidas de raíces y suelo de rizosfera, sólo *F. oxysporum* indujo los síntomas de pudrición de raíz y tallo, y provocó marchitez de la planta y caída de hojas similares a los observados en campo (Figura 2).

### Desarrollo fenológico de la vainilla y producción

La fenología de la vainilla se dividió en seis etapas: crecimiento vegetativo (diciembre-enero), brote de yemas florales (febrero), floración y polinización (marzo), amarre de frutos (abril-mayo), desarrollo de frutos (junio-octubre), madurez y cosecha (noviembre). Los valores promedio de las variables de crecimiento y desarrollo del hospedante mostraron que el huerto SC tuvo un mayor crecimiento y desarrollo de las plantas (Cuadro 4) y fue diferente de manera

significativa ( $p \leq 0.05$ ) a los sistemas SR y STN. La producción de frutos (vainas) fue estadísticamente diferente en los tres sistemas; la mayor producción se obtuvo en el STN (0.6 t ha<sup>-1</sup>), seguido por el SC (0.4 t ha<sup>-1</sup>), y el huerto SR no obtuvo producción (Cuadro 5).

### Variables climatológicas

Las temperaturas más altas se registraron de mayo a agosto y oscilaron entre 26.9 y 27.5 °C (Figura 3A). La mayor humedad relativa se presentó en noviembre y diciembre con 87.5 y 91.3 %, respectivamente (Figura 3A). Las precipitaciones más altas se registraron de agosto a noviembre, septiembre con el mayor valor (369.3 mm) (Figura 3 B).

### DISCUSIÓN

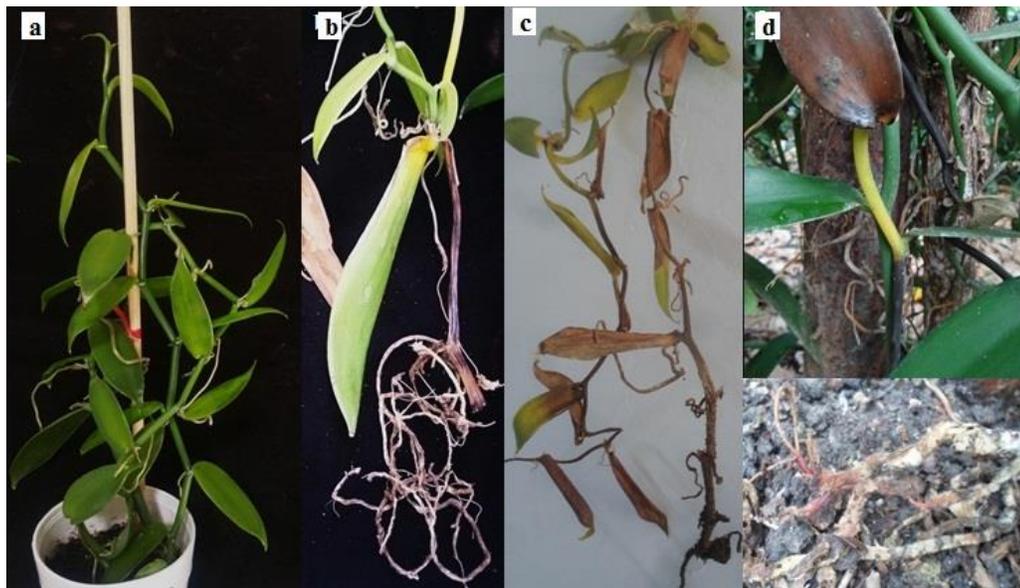
A pesar de los diversos estudios sobre el agente causal de la marchitez de la vainilla en las regiones del mundo donde se produce dicha orquídea, la información en aspectos epidemiológicos aún es incipiente. En la región del Totonacapan se carecía de estudios con énfasis en la dinámica de la enfermedad que sustentasen las prácticas de manejo en tres diferentes sistemas de producción. Los hongos aislados más abundantemente tanto en raíces como en suelo de rizosfera corresponden al género *Fusarium*; sin embargo, dentro de este género existen especies y aún aislamientos dentro de una especie, que son no-patogénicas (Adame *et al.*, 2015), que actúan como endófitos (Imazaki y Kadota, 2015) o con una función saprofítica (Farah *et al.*, 2016), e inclusive con capacidad antagónica hacia otras especies de *Fusarium* (Alabouvette, 1999). En el caso de la familia Orquideaceae, los daños por *Fusarium* spp. se han incrementado en todo el mundo, sobre todo en las regiones tropicales y subtropicales (Srivastava *et al.*,

2018). El género *Vanilla* es una orquídea hemiepífita de hábito trepador cuyas raíces crecen superficialmente dentro del suelo, lo que la diferencia de orquídeas epífitas y terrestres; característica que la hace susceptible al daño por fitopatógenos con origen en el suelo. Por otra parte, debido a que su reproducción sexual es escasa en la naturaleza, la diversidad genética es baja, lo que afecta negativamente la expresión de resistencia. Srivastava *et al.* (2018) mencionan que el daño por *Fusarium* se puede presentar en toda la planta y los síntomas se expresan como manchas y pudriciones; también reportan que existen diferentes especies asociadas al daño, con *F. oxysporum* como la especie más destructiva en orquídeas. En el caso de vainilla, *F. oxysporum* es la especie con mayor incidencia asociada a la marchitez y pudrición.

En este estudio, el STN presentó la mayor DI e incidencia de *Fusarium* spp., aunque fue con la menor severidad, por lo que también obtuvo la mayor producción de frutos; esto se explica porque en este sistema de cultivo, la vainilla presentó un buen desarrollo, probablemente influenciado por las condiciones del microclima que generan las plantas de naranjo (Hernández, 2011); además, las condiciones en este sistema presentaban una elevada cantidad de materia orgánica, pues el raleo de hierbas sólo se hacía en época de cosecha de naranja. Por otra parte, debido a que en este sistema no se aplicaban plaguicidas, es probable que las poblaciones de microorganismos en

el suelo sean diversas, en comparación con los monocultivos de vainilla (Xiong *et al.*, 2017). Los resultados obtenidos en el STN se relacionan con lo reportado por Sánchez (2001), quien evaluó el desarrollo de la vainilla en tres sistemas de producción; el menor porcentaje de plantas con marchitez por *Fusarium* se presentó también en el sistema con naranjo como tutor. Los altos valores de DI e incidencia de *Fusarium* spp. en el STN de nuestra investigación, probablemente se deban a que se cuantificó a todos los aislamientos obtenidos de *Fusarium* spp., sin considerar que no todos actúan como patógenos. Debe señalarse que el alto contenido de materia orgánica en el STN debe favorecer un incremento en la diversidad y actividad microbiana de la rizosfera, y a la presencia de organismos antagónicos a *Fusarium*, lo cual podría causar que la población patógena de *F. oxysporum* se vea reducida (Leblanc *et al.*, 2016; Xiong *et al.*, 2016).

La severidad no se relacionó directamente con la DI ni con la incidencia en raíces en ninguno de los sistemas, como ocurre en los sistemas de producción de cultivos anuales y en otros patosistemas (Rekah *et al.*, 2001). Por otra parte, hubo una tendencia a incrementar la incidencia de *Fusarium* en raíces conforme incrementó la DI en el suelo de rizosfera, lo cual indica que hay una relación positiva entre estas dos variables; también indica que existe una población importante del inóculo de *Fusarium* (conidios, clamidosporas) que penetra las raíces de la vainilla (Shen *et al.*, 2017).



**Figura 2.** Síntomas desarrollados en pruebas de patogenicidad con *Fusarium oxysporum* en plantas de *Vanilla planifolia*: a) planta sana (testigo), b) pudrición de raíz y tallos, c) marchitez y caída de hojas, d) síntomas colectados en campo.

**Cuadro 4. Medias de las variables de crecimiento y desarrollo del hospedante en relación a la enfermedad marchitez de la vainilla.**

Variable	Medias en cada sistema de producción		
	Rústico	Convencional	Naranja
Incidencia en raíces (%)	66.2 <sup>a</sup>	65.7 <sup>a</sup>	69.7 <sup>b</sup>
Severidad (%)	31.8 <sup>a</sup>	23.8 <sup>b</sup>	12.8 <sup>c</sup>
Densidad de inóculo (propágulos g <sup>-1</sup> de suelo de rizosfera)	3.4 <sup>a</sup>	4.0 <sup>b</sup>	5.1 <sup>c</sup>
Biomasa de raíces (g)	0.5 <sup>a</sup>	0.9 <sup>b</sup>	0.8 <sup>b</sup>
Número de entrenudos	2.4 <sup>a</sup>	2.7 <sup>b</sup>	2.1 <sup>a</sup>
Número de hojas	1.9 <sup>a</sup>	2.3 <sup>b</sup>	1.7 <sup>a</sup>
Longitud de tallo (cm)	24.1 <sup>a</sup>	27.6 <sup>bc</sup>	19.8 <sup>c</sup>
Producción (t ha <sup>-1</sup> )	0.0 <sup>a</sup>	0.4 <sup>b</sup>	0.6 <sup>c</sup>

Valores con letras diferentes=existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ). Prueba de  $t$  (Infante y Zárate, 2013).

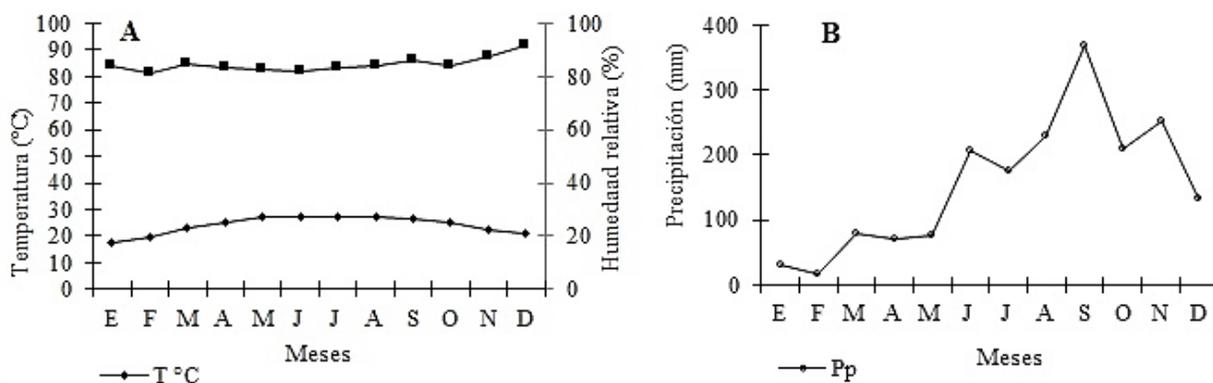
En cuanto a la aplicación de los modelos epidemiológicos a la dinámica temporal de esta enfermedad, el modelo monomolecular arrojó la mejor descripción. Este modelo se ha aplicado para describir el comportamiento de las enfermedades causadas por fitopatógenos de las raíces en varios patosistemas, en los cuales la velocidad de la enfermedad es proporcional a la cantidad de inóculo inicial y a la tasa de incremento (Arneson, 2006). Un ejemplo de epidemia con origen en el suelo descrita por este modelo es la pudrición blanca de la cebolla causada por *Sclerotium cepivorum* Berk., donde la mayor incidencia estuvo en función de una alta densidad de inóculo (Ponce *et al.* 2008). La elevada tasa de incremento de la incidencia descrita por el modelo monomolecular en esta investigación, se asemeja a la incidencia (60 %) en un monocultivo de vainilla

reportado por Xiong *et al.* (2016); esto sugiere que el inóculo se encuentra presente superficialmente en el suelo y que otras condiciones que pueden favorecer el incremento del inóculo de *Fusarium* en el suelo son las prácticas agronómicas, no aplicadas adecuadamente y el sistema de monocultivo; por ejemplo, la aplicación de residuos del mismo cultivo, sin un previo composteo (Leplant *et al.*, 2016); la falta de podas adecuadas para eliminar lianas viejas y enfermas. Cuando las plantas generan nuevas raíces, éstas se infectan al entrar en contacto con el suelo o con los residuos de plantas y raíces muertas (Koyyappurath *et al.*, 2016); además, al ser la vainilla un cultivo perenne, la enfermedad se encuentra presente todo el año, por lo que la acumulación de inóculo y el desarrollo de la epidemia se convierte en un problema grave (Ploetz, 2007).

**Cuadro 5. Comparación de la producción (peso de frutos por planta) de los tres sistemas de cultivo de vainilla, aplicando la Prueba X<sup>2</sup>.**

Comparación de la producción de los sistemas (t ha <sup>-1</sup> )	X <sup>2</sup> (Pr ≥ F)
SR (0.0 t) vs. SC (0.4 t)	0.002*
SC (0.4 t) vs. STN (0.6 t)	4.2 x10 <sup>-12</sup> *
SR (0.0 t) vs. STN (0.6 t)	9.8 x10 <sup>-13</sup> *

\*Existe diferencia significativa ( $p \leq 0.05$ ). Prueba X<sup>2</sup>.



**Figura 3.** Variables climatológicas del ciclo 2016, obtenidas en la estación meteorológica del INIFAP en Tlapacoyan, Veracruz.

En esta investigación, la marchitez de la vainilla causada por *F. oxysporum* siempre estuvo presente a lo largo del período de evaluación. Se observó el efecto negativo de la incidencia y severidad sobre la biomasa de raíces, número de hojas y producción de frutos en el SR en comparación con el SC y el STN, infiriéndose que el tipo de sistema de producción y el manejo que se le dé a los huertos tienen gran importancia en la reducción del daño causado por la enfermedad. Esta enfermedad afecta el crecimiento y desarrollo de las plantas y su producción. La epidemia provoca los mayores daños durante el desarrollo de frutos, etapa fenológica donde la severidad redujo de manera significativa la biomasa de raíces. De manera general, una mayor severidad del daño en las raíces tendió a causar una disminución de la biomasa de raíces, al afectar el sistema vascular (Lodovica *et al.*, 2015), y generar pudrición y descortezamiento, lo que se refleja en un menor peso, debido a la pérdida de tejido. Lo anterior fue favorecido probablemente por condiciones adecuadas de humedad y temperatura para el incremento de la densidad de inóculo de *Fusarium*, y para la generación de nuevas infecciones a lo largo del ciclo de cultivo, principalmente de junio a agosto (desarrollo de frutos) y en diciembre (crecimiento vegetativo), etapas en las que se presentó un incremento en la incidencia y severidad. En esta investigación no hubo correlación entre variables climáticas con la enfermedad, debido a que sólo se evaluaron variables del ambiente aéreo y no del suelo.

Esta investigación corresponde sólo a una parte del ciclo anual del cultivo. Se considera necesario evaluar este patosistema por lo menos durante tres años consecutivos, debido a que se trata de un cultivo perenne con una enfermedad endémica en una zona tropical. Sin embargo, los resultados obtenidos aquí permiten proponer diferentes estrategias para el manejo y la toma de decisiones adecuados, requeridos para el cultivo de vainilla y la marchitez causada por *Fusarium* spp. Un enfoque integrado y sustentable debe considerar la aplicación de compostas que favorezcan el crecimiento de poblaciones de microorganismos benéficos a las raíces y el suelo; la utilización de esquejes sanos en las nuevas plantaciones; así como la definición de la frecuencia de aplicación de estas estrategias. La nutrición también es un factor importante ante el ataque de fitopatógenos; en la región del Totonacapan los vainillales generalmente presentan deficiencias nutricionales en sus etapas de crecimiento, floración y desarrollo de frutos (Carrillo y González, 2016). Los estudios epidemiológicos a largo plazo deben realizarse tanto en condiciones de campo, como bajo condiciones experimentales de invernadero y laboratorio, que permitan conocer con mayor precisión el comportamiento del patógeno, del hospedante y de las

condiciones ambientales del suelo y del aire que promueven la enfermedad marchitez de la vainilla.

## CONCLUSIONES

Diversas especies de *Fusarium* participan en el microbioma de la vainilla, con diferentes papeles, entre las cuales, las más frecuentemente aisladas y que desarrollaron síntomas de la marchitez corresponden a *F. oxysporum*, debido a lo cual se le confirma como el agente causal de la marchitez de la vainilla. El análisis de la marchitez de la vainilla causado por *F. oxysporum* permitió conocer el comportamiento de las enfermedades a través del tiempo, así como definir estrategias de manejo preventivo para disminuir el daño en las etapas de crecimiento vegetativo y desarrollo de frutos, donde la enfermedad presentó una mayor incidencia y severidad. El sistema con tutor naranjo presentó los niveles más bajos de severidad, lo cual se reflejó en la mayor producción de frutos. El tipo de sistema de cultivo y su manejo afectan de manera importante el comportamiento de la enfermedad marchitez de la vainilla, por ser probablemente, una enfermedad endémica.

### Agradecimientos

Al Colegio de Postgraduados por las facilidades otorgadas y al CONACyT por la beca otorgada a H. González Reyes. A los productores de vainilla de Papantla, Veracruz, Jonquer Pérez y Pedro Maya, y al Consejo Estatal Veracruzano de Productores de Vainilla.

**Financiamiento.** Este trabajo se desarrolló con presupuesto a la investigación otorgado por el Colegio de Postgraduados a y aportaciones personales de Dra. María del Pilar Rodríguez Guzmán, y con beca otorgada por CONACyT a Héctor González Reyes.

**Conflicto de interés.** Los autores declaran que no existe conflicto de intereses relacionados con esta publicación.

**Cumplimientos de normas éticas.** La investigación fue realizada y presentada por los autores bajo principios éticos y responsabilidad científica en el manejo de los datos.

**Disponibilidad de datos.** Los datos están disponibles con el autor de correspondencia (pilarrg@colpos.mx) con previa solicitud.

## REFERENCIAS

Adame, G. J., Trigos, L. A. R., Iglesias, A. L. G., Flores, E. N., Luna, R. M. 2011 Variaciones isoenzimática y patogénica de *Fusarium* spp. asociadas con la pudrición de tallo y raíz de

- vainilla. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 13: 299-306. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/pdf/939/93920942006.pdf>.
- Adame, G. J., Rodríguez, G. R., Iglesias, A. L. G., Ramos, P. M., Luna, R. M. 2015. Molecular identification and pathogenic variation of *Fusarium* species isolated from *Vanilla planifolia* in Papantla Mexico. *Botanical Sciences* 93 (3): 669-678. DOI: <http://dx.doi.org/10.17129/botsci.142>.
- Alabouvette, C. 1999. *Australasian Plant Pathology* 28: 57-64. DOI: <https://doi.org/10.1071/AP99008>.
- Arneson, P. 2006. Epidemiología de las enfermedades de las plantas: los aspectos temporales. American Phytopathological Society. <http://DOI.10.1094/PHI-A-2001-0524-01>. Disponible en línea: <https://www.apsnet.org/edcenter/advanced/topic/s/Epidemiologia/Pages/default.aspx>.
- Barrera, R., Herrera, C., Jaramillo, V., Escobedo, G., Bustamante G. 2009. Caracterización de los sistemas de producción de vainilla (*Vanilla planifolia* A.) bajo naranjo y malla sombra en el Totonacapan. *Tropical and Subtropical Agroecosystems* 10:199-212. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=93912989008>.
- Bhai, R., S., Dhanesh, J. 2008. Occurrence of fungal diseases in vanilla (*Vanilla planifolia* Andrews) in Kerala. *Journal of Spices and Aromatic Crops* 17(2): 140-148. Disponible en línea: <http://updatepublishing.com/journals/index.php/josac/article/view/688/647>.
- Bory, S. M., Grisoni, M. F. D., Besse, P. 2008. Biodiversity and preservation of *Vanilla*: Present state of knowledge. *Genetic Resources and Crop Evolution* (55):551-571. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10722-007-9260-3>.
- Campbell, L. C., Madden, V. L. 1990. *Introduction to Plant Disease Epidemiology*. New York, USA 532p.
- Carrillo, G. R., González, C. M. C. 2016. Prácticas que favorecen la nutrición en el cultivo comercial de *Vanilla panifolia* Jacks. ex Andrew. *Agroproductividad* 9 (9):23-24.
- De la Cruz, J. M., Rodríguez, J. G. C., García, S. H. 2009. *Vanilla: post-harvest operations*. Disponible en línea: [http://www.fao.org/fileadmin/user\\_upload/inpho/docs/Post\\_Harvest\\_Compndium\\_Vanilla.pdf](http://www.fao.org/fileadmin/user_upload/inpho/docs/Post_Harvest_Compndium_Vanilla.pdf).
- Farah, N.A. K., Mohd, M., Mohd, I. M. N., Zakaria, L. 2016. Saprophytic and potentially pathogenic *Fusarium* species from peat soil in Perak and Pahang. *Tropical Life Sciences Research* 27(1):1-20. Disponible en línea: [https://www.researchgate.net/publication/295626194\\_Saprophytic\\_and\\_Potentially\\_Pathogenic\\_Fusarium\\_Species\\_from\\_Peat\\_Soil\\_in\\_Perak\\_and\\_Pahang](https://www.researchgate.net/publication/295626194_Saprophytic_and_Potentially_Pathogenic_Fusarium_Species_from_Peat_Soil_in_Perak_and_Pahang).
- Gangadhara, N. B., Nagaraja, R., Basavaraja, M. K., Krishna, N. R. 2010. Variability studies of *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae* isolates. *International Journal of Science and Nature* 1(1):12-16. Disponible en línea: [http://www.scienceandnature.org/First\\_IJSN\\_Upload/IJSN-3.pdf](http://www.scienceandnature.org/First_IJSN_Upload/IJSN-3.pdf).
- Havkin-Frenkel, D., Belanger, F. C. 2011. *Handbook of Vanilla Science and Technology*. Ed. Wiley-Blackwell.333p. DOI:10.1002/9781444329353.
- Hernández, H. J. 2007. Casa-sombra: sistema nuevo de producción intensiva de vainilla, en la Región del Totonacapan. Agroentorno. INIFAP. Folleto técnico No 90.
- Hernández, H. J., Sánchez, M. M. 2011. Producción de planta de calidad de vainilla (*Vanilla planifolia* G. Jackson). INIFAP 60. Campo experimental Ixtacuaco, INIFAP. Folleto técnico No.60. Tlapacoyan, Ver., México. 32p.
- Hernández, H. M. 2011. Programa estratégico para el desarrollo rural sustentable de la región sureste de México: Trópico húmedo 2011. Paquete tecnológico vainilla (*Vanilla planifolia* Jackson) establecimiento y mantenimiento. Campo experimental Ixtacuaco, INIFAP. Tlapacoyan, Ver., México. 25p.
- Herrera-Cabrera, B. E., Salazar-Rojas, M., Delgado-Alvarado, A., Campos-Contreras, J., Cervantes-Vargas, J. 2012. Use and conservation of *Vanilla planifolia* J. in the Totonacapan Region, México. *European Journal of Environmental Sciences* 2:37-44. DOI: 10.14712/23361964.2015.37
- Hollyday, P. 1995. *Fungus Diseases of Tropical Crops*. Cambridge University Press. 624p.
- Imazki, I., Kadota, I. 2015. Molecular phylogeny and diversity of *Fusarium* endhopytes isolated from tomato stems. *FEMS Microbiology Ecology* 91(9): 16. DOI: 10.1093/femsec/fiv098.
- Infante, G. S., Zárate, P. G. 2013. *Métodos Estadísticos. Un enfoque interdisciplinario*. 3<sup>ra</sup> edición. Colegio de Postgraduados. 610p.

- Koyyappurath, S., Atuahiva, T., Le-Guen, R., Batina, H., Le, S., Gautheron, N., Edel-Hermann, V., Peribe, J., Jahiel, M., Steinberg, C., Liew, E., Alabouvette, C., Besse, P., Dron, M., Sache, I., Laval, V., Grisoni, M. 2016. *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-vanillae* is the causal agent of root and stem rot of *Vanilla*. *Plant Pathology* 65: 612–625. DOI: <https://doi.org/10.1111/ppa.12445>
- Leblanc, N., Kinkel, L., Corby, K. H. 2016. Plant diversity and plant identity influence *Fusarium* communities in soil. *Micología*. 109(1):128-139. DOI: <https://doi.org/10.1080/00275514.2017.1281697>.
- Leplat, J., Heraud, C., Gautheron, E., Mangin, P., Falchetto, L., Steinberg, C. 2016. Colonization dynamic of various crop residues by *Fusarium graminearum* monitored through real-time PCR measurements. *Journal of Applied Microbiology*. DOI:121. 10.1111/jam.13259.
- Leslie, J. F., Summerell, B. A. 2006. *The Fusarium Laboratory Manual*. Blackwell Publishing. USA. 386p.
- Lodovica, G. M., Daughtrey, L. M., Garibaldi, A., Elmer, H. W. 2015. *Fusarium* wilts of ornamentals crops and their management. *Crop Protection* 73: 50-59. DOI: 10.1016/j.cropro.2015.01.003
- Madden, V. L., Hughes, G., van den Bosh, F. 2007. *The Study of Plant Disease Epidemics*. APS. Press. 241 p.
- Noriega, C. D. H., Téliz, D., Mora, A. G., Rodríguez, A. J., Zavaleta, M. E., Otero, C. G., Campbell, L. C. 1999. Epidemiology of mango malformation in Guerrero, México, with traditional and integrated management. *Plant Disease* 83:223-228. DOI: <http://dx.doi.org/10.1094/PDIS.1999.83.3.223>.
- Pinaria, A. G., Liew, E. C.Y., Burgess, L. W. 2010. *Fusarium* species associated with *Vanilla* stem rot in Indonesia. *Australasian Plant Pathology* 39: 176–183. Disponible en línea: <https://link.springer.com/article/10.1071/AP09079>.
- Ploetz, C. R. 2007. Disease management in tropical perennial crop. *Palmas* 28:326-338. Disponible en línea: <https://publicaciones.fedepalma.org/index.php/palmas/article/download/1268/126>.
- Ponce, H. V., García, E. R., Rodríguez, G. M. P., Zavaleta, M. E. 2008. Análisis temporal de la pudrición blanca (*Sclerotium cepivorum* Berk.) de la cebolla (*Allium cepa* L.) bajo tres niveles de inóculo del patógeno. *Agrociencia* 42(1): 71-83.
- Ramírez, C., Castaño, J., Villegas, B., Aristizábal, M. 2012. Efecto de inductores de resistencia sobre las sigatocas negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) y amarilla (*Mycosphaerella musicola* Leach) en plátano. *Revista Actualidad y Divulgación Científica* 15 (2): 363-371. Disponible en línea: <http://www.scielo.org.co/pdf/rudca/v15n2/v15n2a14.pdf>.
- Ramos, Q. F., Bautista, H. A., Sotelo, N. H. 2017. Relación de la temperatura y la humedad relativa con el brote del hongo *Fusarium oxysporum* f. sp. *vanillae*. *Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas* 8(3): 713-720. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/html/2631/263150932019/>.
- Rekah, Y., Shtienberg, D., Katan, J. 2001. Population dynamics of *Fusarium oxysporum* f. sp. *radicis-lycopersici* in relation to the onset of *Fusarium* crown and root rot of tomato. *European Journal of Plant Pathology* 107: 367-375.
- Sánchez, M. S., Becerril, R. M. A. E., Tijerina, C. L., Santizo, R. J. A. 2001. Crecimiento y desarrollo de vainilla en tres sistemas de producción en Papantla, Veracruz. *Revista Fitotecnia Mexicana* 24(1): 49-56. Disponible en línea: <http://www.redalyc.org/pdf/610/61024106.pdf>.
- Santa, C., Montoya, M., Díez, M. 2011. Identificación del agente causal de la pudrición basal del tallo de vainilla en cultivos bajo cobertizos en Colombia. *Revista Mexicana de Micología* 32: 23-34. Disponible en línea: [http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0187-31802012000100004](http://www.scielo.org.mx/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0187-31802012000100004).
- Shen, Z., Penton, R. C., Lv, N., Xue, C., Yuan, X., Ruan, Y., Li, R., Shen, Q. 2017. Banana *Fusarium* wilt disease incidence is influenced by shifts of soil microbial communities under different monoculture spans. *Microbial Ecology* 75(3):739-350. DOI: 10.1007/s00248-017-1052-5.
- Soto, A. 2009. Proyecto: Recopilación y análisis de la información existente sobre las especies mexicanas del género *Vanilla*. Herbario AMO, Instituto Chinoín, A.C. Disponible en línea: <https://www.biodiversidad.gob.mx/genes/centrosOrigen/Vanilla/Reporte%20intermedio/Reporte%20intermedio.pdf>.

- Srivastava, S., Kadooka, C., Uchida, J. 2018. *Fusarium* species as pathogen on orchids. Microbiological Research. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2017.12.002>.
- Xiong, W., Zhao, Q., Xue, C., Xun, W., Zhao, J., Wu, H., Li, R., Shen, Q. 2016. Comparison of fungal community in black pepper-vanilla and vanilla monoculture systems associated with vanilla *Fusarium* wilt disease. Frontiers in Microbiology 7:117. DOI: 10.3389/fmicb.2016.00117.
- Xiong, W., Li, R., Ren, Y., Liu, C., Zhao, Q., Wu, H., Jousset, A., Shen, Q. 2017. Distinct roles for soil fungal and bacterial communities associated with the suppression of vanilla *Fusarium* wilt disease. Soil Biology & Biochemistry 107: 198-207. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.soilbio.2017.01.010>.