

## Identificación del agente causal del mildiu polvoriento en plantas de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) en Tehuacán, México



<https://eqrcode.co/a/Clb5P4>

## Identification of the causal agent of powdery mildew in pumpkin plants (*Cucurbita pepo* L.) in Tehuacán, México

Jorge Francisco León De La Rocha<sup>1\*</sup>, Cosme Bojórquez-Ramos<sup>3</sup>,  
 Nazario Francisco-Francisco<sup>1</sup>, Arturo Olivares-Hernández<sup>1</sup>, Ricardo G. López-España<sup>2</sup>, Yusimy Reyes-Duque<sup>4</sup>, Pedro Pérez-Olvera<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidad Tecnológica de Tehuacán (UTT). Prolongación de la 1 No. 1101 San Pablo Tepetzingo C.P. 75859 Tehuacán, Puebla México

<sup>2</sup>Universidad Tecnológica de Tehuacán (UTC). Carretera Culiacán-Imala km 2., C.P. 80014, Culiacán, Rosales, Sinaloa, México

<sup>3</sup>Universidad Autónoma de Occidente (UAdeO). Blvd. Macario Gaxiola y Carretera internacional, México 15, 81223 Los Mochis, Sinaloa., México

<sup>4</sup>Dpto. Biología y Sanidad Vegetal, Universidad Agraria de La Habana (UNAH). Autopista Nacional km 23½. Apartado 10, San José de las Lajas, Mayabeque, Cuba.

**RESUMEN:** El cultivo de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) es una de las hortalizas de mayor importancia por su consumo a nivel mundial. Sin embargo, una limitante para su producción es la incidencia de enfermedades, entre las que destaca el mildiu polvoriento que causa pérdidas en el rendimiento de 50 % hasta 100 %. A nivel mundial, la literatura señala dos géneros causantes de dicha enfermedad: *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) V.P. Heluta y *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff. En Sinaloa, México, se identificaron ambos géneros en diferentes cultivos, pero en Tehuacán no se ha identificado el agente causal del mildiu polvoriento en calabaza. Por ello, el objetivo de la presente investigación fue identificar la presencia de este patógeno en Tehuacán. Se realizó la identificación morfológica y molecular considerando los estados anamorfo y teleomorfo. El análisis morfológico se hizo mediante microscopía óptica y el análisis molecular mediante PCR; se amplificó la región ITS del ADN ribosomal (ITS1 5,8 S y el ITS2) y se comparó su secuencia con los registros del Genbank NCBI. En las preparaciones se observaron conidióforos simples, conidios, principalmente, ovoides con cuerpos de fibrosina. En la fase sexual se visualizaron casmotecios esféricos con apéndices miceliales septados, con asca de forma ovoide con apertura ocular de 18,5 µm de diámetro y ocho ascosporas en su interior. Estas características y las secuencias obtenidas coincidieron con las descritas para *Podosphaera xanthii*, lo cual permitió identificar a este patógeno como el agente causal del mildiu polvoriento en calabaza en Tehuacán, Puebla.

**Palabras Clave:** *Podosphaera xanthii*, identificación molecular, morfología.

**ABSTRACT:** Pumpkin cultivation (*Cucurbita pepo* L.) is relevant because it is one of the most important vegetables due to its consumption worldwide. However, a limitation for its production is the incidence of diseases, among which is the powdery mildew, causing losses of 50 % to 100 % in yield. Literature identifies two genera causing this disease worldwide: *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) V.P. Heluta and *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff. Both genera were identified in different crops in Sinaloa, Mexico, but the causal agent of powdery mildew in pumpkin in Tehuacán has not been identified. Therefore, the objective of this research was to corroborate the presence of this pathogen in Tehuacán. The morphological and molecular identification was carried out considering the anamorph and telomorph states. The morphological analysis was made by means of optical microscopy and the molecular analysis by means of PCR. The ITS region of the ribosomal DNA (ITS1 5.8 S and ITS2) was amplified and its sequence was compared with the records of the Genbank NCBI. Powdery mildew showed simple conidiophores, mainly ovoid conidia with fibrosin bodies inside. The sexual phase showed spherical casmotecia with septated mycelial appendages, with an ovoid asca with an eye opening of 18.5 µm in diameter and eight ascospores inside. These characteristics and the sequences obtained coincided with those described for *Podosphaera xanthii*, which allowed the identification of this pathogen as the causal agent of powdery mildew in pumpkin in Tehuacán, Puebla.

**Key words:** *Podosphaera xanthii*, molecular identification, morphology.

\*Autor para correspondencia: Jorge Francisco León de la Rocha. E-mail: [jfleon@gmail.com](mailto:jfleon@gmail.com); [jorge.leon@uttehuacan.edu.mx](mailto:jorge.leon@uttehuacan.edu.mx)

Recibido: 21/04/2020

Aceptado: 30/07/2020

## INTRODUCCIÓN

La producción de calabaza (*Cucurbita pepo* L.) es considerada como una opción comercial rentable, por la demanda económica a nivel nacional e internacional (1). Como principales estados productores en México, se ubican Sonora, con más de 180 000 toneladas; Puebla, con más de 62 000 toneladas, y Sinaloa, con más de 51 000 toneladas (2). Sin embargo, el cultivo de calabaza es afectado por diferentes enfermedades, entre las cuales se destaca el mildiu polvoriento, una de las de mayor importancia (3), pues ha causado pérdidas económicas considerables superiores a 50 % (4).

A nivel mundial, los géneros identificados de mildiu polvoriento que afectan a la familia de las cucurbitáceas son *Golovinomyces cichoracearum* (DC.) V.P. Heluta, anteriormente conocida como *Erysiphe cichoracearum* DC, y *Podosphaera xanthii* (Castagne) U. Braun & Shishkoff, anteriormente referido como *Sphaerotheca fuliginea* (Schltld.) Pollacci (5). Al respecto, Braun *et al.* (6) mencionan que ambos géneros causan síntomas muy similares, sin embargo, pueden distinguirse fácilmente al microscopio óptico. Como síntoma del mildiu polvoriento se observa un polvillo blanquecino que puede afectar, por lo general, hojas, peciolo y tallos (7, 8). Este patógeno causa afectación a la actividad fotosintética, adelanta la senescencia de las plantas y provoca la maduración prematura de los frutos, acortando así el ciclo biológico del cultivo (9,10).

Como agente causal del mildiu polvoriento se ha identificado a *G. cichoracearum* (11). En congruencia con esto, Cebrenos *et al.* (3) identificaron a *G. cichoracearum* como el causante de la cenicilla de las cucurbitáceas en el Valle de Culiacán Sinaloa, México, mediante la observación de las características asexuales. Sin embargo, en estudios posteriores mediante el uso de técnicas de avanzadas, Bojórquez *et al.* (9) y Gastélum *et al.* (12; 13) corroboraron únicamente a *P. xanthii* como el principal agente causal del mildiu polvoriento en cucurbitáceas en México. En Tehuacán, Puebla, no hay antecedentes sobre la confirmación del agente causal del mildiu polvoriento en calabaza.

Para identificar a *P. xanthii* se han usado las características de la fase sexual (6, 9). Dentro de las características morfológicas del anamorfo que más se utilizan para la identificación, se encuentran el diámetro y la coloración de las hifas, los tipos de apresorios y de conidióforos, el número de conidios por cadena, la célula basal del conidióforo, la forma de los conidios y la presencia de cuerpos de fibrosina en los conidios (13). Entre estas, las características del apresorio, así como los patrones de paredes terminales y externas de los conidios, combinados con caracteres analizados en microscopía de luz, son características clave para la identificación en especies de *Erysiphales* (14,15), al igual que características de los haustorios (16). En la actualidad, la identificación molecular de este patógeno representa el método más efectivo y rápido, sobre todo en países donde no se presenta el estado teleomórfico (9, 12, 17). Sobre la base de lo referido anteriormente, el presente trabajo tuvo como objetivo identificar la presencia del agente causal del mildiu polvoriento en calabaza en Tehuacán, México.

## MATERIALES Y MÉTODOS

### Morfometría de las estructuras asexuales

La investigación se realizó en el campo experimental de la Universidad Tecnológica de Tehuacán, ubicada en la localidad de San Pablo Tepetzingo (N 18° 25' 32"; O 97° 20' 24"), a 1409 msnm.

Para la identificación del agente causal del mildiu polvoriento se confirmó, primeramente, la patogenicidad; para lo cual se tomaron muestras de plantas de cucurbitáceas con signos de infecciones recientes del área experimental de la UTT. Una vez en el laboratorio, con la ayuda del estereoscopio (Motic MIC5944 ST-36C-2LOO) y aumento 4x, con una aguja de siembra se tomaron de la colonia de cuatro a cinco conidios y se colocaron sobre el haz del cotiledón, utilizando igual variedad que en el área de muestreo [calabaza material híbrido (Grey Zucchini)], conservados en placas Petri sobre algodón humedecido a 100 % y con dimensiones de largo por ancho de 4,7 cm por 2,27 cm. Se reprodujo la inoculación en 25 placas Petri, bajo

condiciones de laboratorio. Se corroboró la patogenicidad a partir de la aparición del signo con igual característica a las plantas muestreadas.

Comprobada la patogenicidad se procedió a la identificación, para lo cual se tomaron muestras de 50 plantas con infecciones recientes. De cada planta se tomaron tres hojas infectadas, se colocaron en bolsas de polietileno y se trasladaron al laboratorio; se conservaron a temperatura de 4 a 10°C y se analizaron antes de las 48 horas después de su colecta.

De las hojas colectadas en campo se prepararon 100 muestras para la caracterización de las estructuras de conidióforos y conidios, para lo cual se colocó cinta adhesiva transparente sobre la superficie infectada y se fijó a un portaobjetos que contenía una gota de agua destilada. Las observaciones se realizaron al microscopio óptico digital (Modelo -NLCD-30) con aumento de 40x, con el cual se tomaron fotos para documentar los resultados.

Para la identificación a partir de las estructuras asexuales, se consideró como conidióforo al segmento comprendido desde el septo de la célula basal hasta el último septo de la célula no hinchada. En cada conidióforo se evaluaron el número de conidios por cadena, el largo y ancho del conidio, así como la presencia de cuerpos de fibrosina, para lo cual se utilizaron hidróxido de potasio a 3 % y las características del tubo germinativo de los conidios. Con un pincel de cerdas se colocaron de tres a cuatro conidios sobre un portaobjetos y se incubaron durante 24 h a 100 % de humedad relativa, en cámara húmeda, con temperatura media de 22°C. Transcurrido este tiempo, se determinó la forma y el diámetro del tubo germinativo en su parte media; se evaluaron 100 muestras al microscopio óptico digital (Modelo -NLCD-30) con aumento de 40x, con el cual se tomaron fotos para documentar los resultados.

La determinación de los indicadores morfométricos para la identificación de los géneros se realizó tomando como base los criterios de Bojórquez *et al.* (9), Gastélum *et al.* (13), Braun y Cook (14). Los datos se tabularon en Excel, donde se determinaron la media y la desviación estándar para cada uno de los indicadores considerados en la identificación morfométrica de la fase anamórfica y teleomórfica.

## Morfometría de las estructuras sexuales

Los casmotecios se colectaron de hojas, pecíolos y tallos. Con la ayuda de una aguja de siembra se transfirieron entre 5 y 10 estructuras a una gota de agua destilada, colocada previamente en un portaobjetos, sobre la cual se depositó un cubreobjetos. A estas estructuras se les determinó: forma, diámetro, longitud y ancho de las células peridiales. Para liberar el asca, se ejerció presión suave sobre la preparación (de casmotecios) con el borrador de un lápiz. De las ascas, se evaluó su forma, longitud y diámetro en su parte más ancha, así como el diámetro de la apertura ocular según Braun *et al.* (6, 14); también se consideró el número de ascosporas. Las observaciones se realizaron al microscopio óptico digital (Modelo -NLCD-30) con aumento de 40x, con el cual se tomaron fotos para documentar los resultados.

## Identificación molecular

### Extracción y purificación de ADN

Para la identificación molecular se tomaron muestras (hojas con síntomas de cenicilla) de tres localidades de Tehuacán, Puebla: San Pablo Tepetzingo (N 18° 25' 32"; O 97° 20' 24"), a 1 409 msnm; San Gabriel Chilac (N 18°21'45,6"; O 97°20'14,2"), a 1 405 msnm; San Marcos Necoxtla (N 18°23'41,9"; O 97°20'50,8"), a 1480 msnm. Las muestras con síntomas de la enfermedad se colectaron únicamente de plantas de calabaza de los siguientes materiales: Grey Zucchini, Rocío y Luciana. Para la colecta del patógeno se consideraron 50 plantas contaminadas por cada localidad; asimismo, se consideró tomar muestras de lesiones iniciales en hojas. La colecta de las esporas se realizó mediante una bomba de vacío (GAST-DAO SHOWN Y DDA), usando una punta para micropipeta de 200 µl con filtro. Las muestras se conservaron en las puntas a temperatura de 0°C, hasta su procesamiento.

Para la extracción del ADN se usaron de 3 a 10 mg de los conidios obtenidos de cada una de las tres localidades, por separado, considerando la técnica descrita por Velarde *et al.* (18) modificado: en un mortero de porcelana estéril se vació el contenido de esporas de una punta de

micropipeta, cortándola con un bisturí esterilizado. Se le agregó 1 ml de amortiguador de extracción que contenía NaCl 50 mM, EDTA 50 mM pH (8,5) y Tris base 350 mM (pH 8,5). Se maceró con un pistilo estéril y del macerado se transfirieron porciones de 600  $\mu$ l a tubos eppendorf de 1,5 ml. A cada tubo se le añadieron 350  $\mu$ l de CTAB al 10 %, se agitaron en vórtex de 10 a 15 segundos y se incubaron en Baño María 10 min a 90°C y se agitaron manualmente por inversión cada 3 min. Posteriormente, se sacaron del Baño María y se agregaron 350  $\mu$ l de NaCl 5M; se agitaron por inversión y se incubaron a -20°C durante 30 minutos; se centrifugaron a 12000 rpm y 10°C en una centrifuga Eppendorf refrigerada. El sobrenadante se decantó en un tubo de 1,5 ml y se repartió en dos tubos con 600  $\mu$ l cada uno. A cada tubo se le agregaron 600  $\mu$ l de cloroformo previamente enfriado a -20°C, se agitaron en vórtex durante 15 segundos y se centrifugaron a 12 000 rpm, durante 10 min.

La fase acuosa se pasó a un tubo eppendorf nuevo de 1,5  $\mu$ l; se agregó un volumen igual de isopropanol absoluto enfriado a -20°C, se agitó suavemente por inversión y se incubó a -20°C durante 30 min. Se centrifugó a 12 000 rpm durante 10 min y se decantó el contenido acuoso, colectando el precipitado que se dejó secar al aire, a temperatura ambiente, durante 15 min; finalmente, se resuspendió en 30  $\mu$ l de agua ultrapura y se almacenó a 4°C. La integridad del ADN extraído se evaluó mediante electroforesis de 5  $\mu$ l de la solución de ADN más 1  $\mu$ l de tampón de electroforesis azul-naranja 6x, en un gel de agarosa a 1 % en solución tampón de corrida TBE, teñido con 1  $\mu$ l de Gel Red, a 80 voltios durante 40 min, en una cámara de electroforesis (Thermo EC320, Minicell, Primo®). La pureza y concentración de ADN se midieron en un biofotómetro Eppendorf modelo 22331 (Eppendorf, Hamburgo, Alemania) (19).

### Caracterización molecular por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Los extractos de ADN, de las muestras colectadas de las tres localidades de Tehuacán, se sometieron a amplificación por PCR con el kit GoTaq PCR Core System I, Cat. M7660

Promega, Madison, WI, USA. (Promega, Madison, WI, EE. UU.). Para ello, se utilizó el par de cebadores ITS1 (5' TCC GTA GGT GAA CCT GCG G 3') e ITS4 (5'TCC TCC GCT TAT TGA TAT GC 3') (White *et al.*, citado por 20) para amplificar una región espaciadora transcrita interna específica, que incluye la subunidad ITS1 5,8 S e ITS4 del ADN ribosómico (ADNr) de Erysiphales. La mezcla de reacción de PCR contenía: 1,2  $\mu$ l de MgCL<sub>2</sub> 25 mM, 3  $\mu$ l de tampón verde de PCR 5x, 1  $\mu$ l de cada uno de los cebadores a una concentración de 10  $\mu$ M, 0,35  $\mu$ l de mezcla de dNTPs 10 mM cada uno; 0,1  $\mu$ l de taq polimerasa 5UmL<sup>-1</sup>, 2  $\mu$ L de DNA 10 ng mL<sup>-1</sup> de hongos como molde; se ajustó a un volumen final de 15  $\mu$ L con agua ultrapura.

Para la reacción de PCR, se usó un termociclador Eppendorf Mastercycler (Eppendorf Scientific, Westbury, NY) con las siguientes condiciones: 5 min a 95°C; 30 ciclos de 1 min a 95°C, 1 min a 52 °C y 1 min a 72°C y una extensión final de 10 min a 72°C. Se usó un control positivo de ADN del hongo *Beauveria bassiana*, que previamente había dado positivo en todas las reacciones de PCR bajo las presentes condiciones y agua ultrapura como control negativo. Los productos de PCR obtenidos se enviaron a limpiar y secuenciar en el Laboratorio McLab, de San Francisco, CA, EE. UU. Las secuencias obtenidas se compararon en las bases del GenBank mediante el programa BLAST y se registraron en la misma base.

## RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Las plantas infectadas de mildiu polvoriento presentaron colonias blanquecinas que se detectaron sobre las hojas, pecíolos y tallos, pero no se observaron sobre los frutos.

Se confirmó la patogenicidad en 100 % de todos los cotiledones inoculados. Las características de las colonias polvoriantas coinciden con las descripciones de Bojórquez *et al.* (9) y Gastélum *et al.* (13). La aparición de los primeros signos de la colonia ocurrió entre los cuatro y cinco días posteriores a la inoculación, lo cual corrobora lo notificado por los autores citados.



## Morfometría de las estructuras asexuales

El patógeno presentó apresorios en forma de pezón ([Figura 1 A](#)) y conidióforos del tipo euoidium. Las células basales del conidióforo se observaron rectas o ligeramente curvas, con una talla que varió de 26 a 78  $\mu\text{m} \times 8,5$  restringidas a 13,7  $\mu\text{m}$  ([Tabla 1](#)), ligeramente en la base ([Figura 2 B](#)). Los conidios tienen forma elipsoidal-ovoide con un tamaño de 26,2 a 38,2  $\mu\text{m} \times 14,2$  a 23,3  $\mu\text{m}$ , con presencia de cuerpos de fibrosina en su interior ([Figura 1 C](#)). El patrón de germinación de conidios fue el subtipo brevitubus de fibroidium germinado lateralmente por un tubo germinal bifurcado simple en ocasiones. ([Figura 1 D-E](#))

## Morfometría de las estructuras sexuales

La aparición del estado sexual se detectó en julio, coincidiendo con el periodo de senescencia del cultivo y se observó en hojas, peciolo y tallos ([Figura 2](#)). Los casmotecios presentaron forma esférica con diámetro entre 74,8 y 121,5  $\mu\text{m}$  ([Tabla 1](#)); y células peridiales irregulares ([Figura 3 A](#)), con un tamaño de 15,2 a 60,1  $\mu\text{m}$  de largo por ancho. Estos cuerpos fructíferos contenían solo un asca con ocho ascosporas, aunque estas no se apreciaron en todos los casos ([Figura 3 B](#)). La apertura ocular del asca ([Figura 3 C](#)) presentó un diámetro de 18,5  $\mu\text{m}$ . ([Tabla 1](#))

La morfometría de las estructuras asexuales y sexuales coinciden con las descritas para *Podospaera xanthii* por Braun y Cook (14). En relación con estos aspectos, las características del conidióforo, célula basal del conidióforo, forma y medidas del conidio, son similares a las evaluaciones realizadas por Gastélum *et al.* (12); Bojórquez *et al.* (19); Nayak y Babu (21); Cui *et al.* (22); Dorneles *et al.* (23). También se observaron apresorios con forma de pezón, como notificaron para esta especie diferentes autores. (19;23; 24; 24).

Las características del casmotecio, célula peridial, apéndice y asca son similares a los resultados notificados por Bojórquez *et al.* (19). En cuanto al diámetro del casmotecio, Gastélum *et al.* (12) refieren que son menores a 104,2  $\mu\text{m}$ , mientras los valores referidos por Bojórquez *et al.* (19) varían de 119,5 - 121  $\mu\text{m}$ . Los valores

obtenidos para esta estructura, en los resultados mostrados, coinciden con ambos autores. De acuerdo con el promedio de la apertura ocular del asca, Bojórquez *et al.* (19) evaluaron como promedio 19  $\mu\text{m}$  en muestras de pepino (*Cucumis sativus* L.) contaminadas con *P. xanthii*. En la investigación se obtuvo similar promedio en la apertura ocular de 18,5  $\mu\text{m}$ . Por lo cual, sobre la base de la descripción de las estructuras sexuales y asexuales mediante las claves de Braun y Cook (15), se considera a *P. xanthii* como el agente causal de las muestras de calabaza evaluadas con mildiu polvoriento en la región de Tehuacán.



**Figura 1.** Características morfológicas de las estructuras asexuales de *P. xanthii*. A) apresorio tipo pezón; B) conidióforo tipo euoidium células basales rectas o ligeramente dobladas, con una constricción en la base; C) conidio elipsoidal con presencia de cuerpos de fibrosina; D y E) germinación lateral con tubo germinativo simple o bifurcado y orientado de forma perpendicular al conidio. / *Morphological characteristics of the asexual structures of P. xanthii.* A) nipple-type; B) euoidium-type conidiophores, straight or slightly bent basal cells, with a constriction at the base; C) ellipsoidal conidium with the presence of fibrosine bodies; D and E) lateral germination with simple or bifurcated germ tube oriented perpendicular to the conidium.

## Identificación molecular

### Caracterización molecular por Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

El producto de PCR, empleando como diana el ITS con cebadores ITS1 / ITS4, reveló bandas de 500 pb, con una homología de 99 a 100 % con las secuencias de *P. xanthii*, registradas en NCBI GenBank. Las secuencias obtenidas se

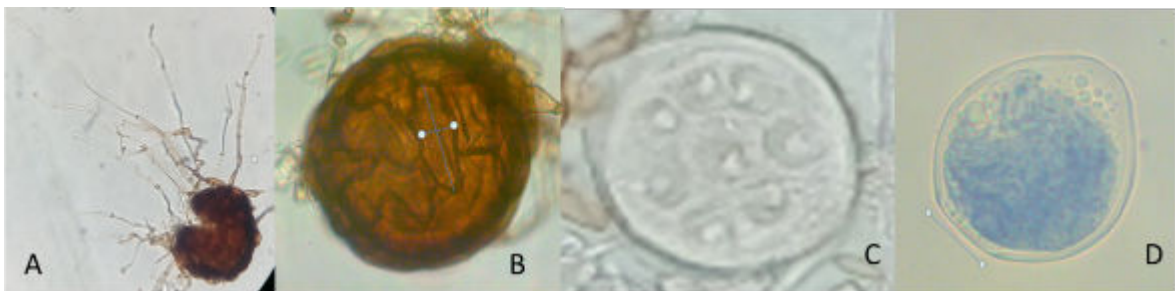
**Tabla 1.** Morfometría de estructuras sexuales y asexuales del mildiu polvoriento en el cultivo de calabaza en Tehuacán, Puebla, México/ *Morphometry of sexual and asexual structures of powdery mildew in pumpkin cultivation in Tehuacán, Puebla Mexico.*

Características Morfológicas		Media	Desv. Stan.	Rango	N
Casmotecios*	Diámetro	101,5	10,6	74,8-121,5	100
Célula peridial*	Largo	37,1	9,8	15,2-60,1	100
	Ancho	19,7	5,8	8,2-38,5	100
Apéndices	Número	7	1,37	4-9	100
	Ancho	5,7	1,16	3,8-7,7	100
Asca*	Largo	72,5	4,8	84,5-63,5	100
	Ancho	62,4	3,6	55,1-70,4	100
Apertura ocular*	Diámetro	18,5	2,2	14,6-24,9	100
No. de conidios/conidióforo	Número	4,6	1,2	3-7	100
Célula basal*	Largo	53,9	14,9	26-78	100
	Ancho	10,6	2,07	8,5-13,7	100
Tubo germinativo/conidio*	Diámetro	6,6	0,6	5,18-7,9	100
Conidio*	Largo	31	2,5	26-38	100
	Ancho	18,8	1,96	14-23	100
Conidio largo/ancho*	Índice	1,64	0,2	1,4-2,2	100

(\*) En micrómetros N = número de observaciones



**Figura 2.** Presencia de casmotecios sobre hojas, peciolas, tallos y casmotecios (de izquierda a derecha)./ *Presence of casmotecios on leaves, petioles, stems, and casmotecios (from left to right).*



**Figura 3.** Características morfológicas de las estructuras sexuales de *P. xanthii*. A) casmotecio con apéndices miceliales; B) casmotecio con grandes células peridiales; C-D) asca con ocho ascosporas y abertura ocular de 18,5 µm de diámetro/ *Morphological characteristics of the sexual structures of P. xanthii*. A) casmotecio with mycelial appendages; B) casmotecio with large peridial cells; C-D) asca with eight ascospores and eye opening of 18.5 µm diameter.

registraron en el GenBank con los números de acceso incluidos en la [Tabla 2](#). Estos resultados indicaron la presencia de *P. xanthii* causando cenicilla en plantas de calabaza en las tres localidades de Tehuacán donde se tomaron las

muestras. Los resultados corroboran lo notificado por Bojórquez *et al.* (19), quienes amplificaron fragmentos de alrededor de 500 pb por PCR a partir de muestras de ADN fúngico, usando los cebadores ITS1/ITS4 e identificando únicamente

**Tabla 2.** Códigos de las muestras de plantas con cenicilla en calabaza de Tehuacán, Puebla, México. (Georeferenciación, fecha de recolección y números de acceso al GenBank)/ *Sample codes for pumpkin plants with powdery mildew, Tehuacán, Puebla, México. (Georeferencing, collection date and GenBank access numbers )*

Hospedero	Localidad			Fecha	Código	PCR	GenBank No. Acceso
	Municipio	Lat N	Long W				
<i>Cucurbita pepo</i> (Grey Zucchini)	San Pablo Tepetzingo	18°40'77,0"	97°32'19,0"	13/03/2018	UTT18SPT	+	MK168573
<i>Cucurbita pepo</i> (Roció)	San Gabriel Chilac	18°36'27,0"	97°33'73,0"	19/03/2018	UTT18SGC	+	MK168574
<i>Cucurbita pepo</i> (Luciana)	San Marcos Necoxtla	18°39'50,0"	97°34'54,0"	22/03/2018	UTT18SMN	+	MK168575

*P. xanthii* como agente causal del mildiu polvoriento en calabaza y pepino (*Cucumis sativus* L.) en el estado de Sinaloa. Estos autores, usando los cebadores ITS1/ITS4, identificaron a *P. xanthii* en cucurbitáceas y *Golovinomyces cichoracearum* en *Lactuca serriola* L. PI491093 (Asteraceae), con lo cual pudieron observar que en invernadero en Salinas, California, *P. xanthii* es el mildiu polvoriento que infecta a las cucurbitáceas y no *Erysiphe cichoracearum* (*G. cichoracearum*), como se había informado por Lebeda *et al.* y Bardin *et al.* citados por Bojórquez *et al.*, (19) en cultivos de cucurbitáceas. La secuencia de la región ITS de los hongos *Erysiphales* tiene valor filogenético y ayuda a superar la dificultad de identificar a estos hongos, a partir de sus estructuras anamórficas ante la frecuente ausencia de las estructuras teleomórficas que se presentan esporádicamente (13, 20).

La identificación molecular del agente causal del mildiu polvoriento en las áreas muestreadas de la región de Tehuacán, corroboran la identificación morfológica a través de las estructuras sexuales y asexuales, por lo que se informa a *P. xanthii* como agente causal del mildiu polvoriento en cultivos de calabaza en Tehuacán, México.

## REFERENCIAS

1. SAGARPA. 2019. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. [en línea] 2019 octubre 24 [Fecha de acceso 17 de diciembre de 2019]. URL disponible en: URL disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx> .
2. SAGARPA. 2018. Secretaría de Agricultura, Ganadería, Desarrollo Rural, Pesca y Alimentación. [en línea] 2018 octubre 24 [Fecha de acceso 17 de diciembre de 2019]. URL disponible en: URL disponible en: <http://www.sagarpa.gob.mx> .
3. Cebreros SF, Sánchez CMA, Acosta MI. Supervivencia de *Erysiphe cichoracearum* de Candolle causante de la cenicilla de las cucurbitáceas en el Valle de Culiacán. Memorias del XVIII Congreso Nacional de la Sociedad Mexicana de Fitopatología. Puebla, Puebla, México. 1991. 120 p.
4. Leonard P, Gianessi NR. 2005. The value of fungicides in U.S. In: Crop production. CropLife Foundation. Washington, USA. [en línea] 2019 octubre 24 [Fecha de acceso 17 de diciembre de 2019]. URL disponible en: URL disponible en: <https://croplifefoundation.files.wordpress.com> .
5. Braun U, Shishkoff N, Takamatsu S. Phylogeny of Podosphaera sect. Sphaerotheca subsect Magnicellulatae (*Sphaerotheca fuliginea* auct. s.lat.) inferred from rDNA ITS sequences - a taxonomic interpretation. Schlechtendalia. 2001; 7: 45-52.
6. Braun U, Cook RTA, Inman AJ, Shin D. The taxonomy of the powdery mildew fungi. In Bélanger (eds) The powdery mildews a comprehensive treatise. APS Press, St. Paul, MN, USA. 2002; pp. 13-55.
7. Glawe DA. The powdery mildews: a review of the world's most familiar (yet poorly known) plant pathogens. Annu. Rev. Phytopathology. 2008; 46: 27-51.
8. Cho SE, Zhao TT, Choi IYY, Choi J, Shin HD. Primer informe de moho polvoriento causado

- por *Podosphaera xanthii* sobre Ramie en Corea. The American Phytopathological Society. 2016; 100(7):1943-7692.
9. Bojórquez RC, León FJ, Allende MR, Muy RMD, Carrillo FJA, Valdez TJB, *et al.* Characterization of powdery mildew in cucumber plants under greenhouse conditions in the Culiacan Valley, Sinaloa, Mexico. African Journal of Agricultural Research. 2012; 7(21):3237-3248.
  10. González MN, Martínez CB, Infante MD. Mildiu polvoriento en las cucurbitáceas. Rev. Protec. Veg. 2010; 25(1): 44-50.
  11. McCreight JD. Melon-powdery mildew interactions reveal variation in melon cultigens and *Podosphaera xanthii* races 1 and 2. J Amer Soc Hort Sci. 2006;131: 59-65.
  12. Gastélum RF, Apodaca SMA, Martínez VMC, Espinosa MS. *Podosphaera* Sect. *Sphaerotheca*) *xanthii* (Castagne). Brawn, U. y Shishkoff, N. en cucurbitáceas en el norte de Sinaloa, México. Rev. Mex. Fitopatología. 2005; 23:162-168.
  13. Gastélum RF, Maldonado MIE, Beltrán PH, Apodaca SMA, Espinoza MS, Martínez VMC, Longoria ERM, Olivas PNG. Powdery mildews in agricultural crops of Sinaloa: Current status on their identification and future research lines. Rev. Mex. Fitopatología . 2017; 35:106-129.
  14. Braun U, Cook RTA. Taxonomy manual of the Erysiphales (Powdery mildews).CBS. Biodiversity Series No.11. 2012, pp. 1-707.
  15. Tovar PJM, Rosas SGH, García RMT, Camacho TM, Leyva MSG. Observaciones con MEB de cinco especies de Erysiphales en plantas ornamentales y frutales en el Estado de México. Rev. Scientiafungorum. 2018; 48: 33-4.
  16. Martínez CJ, Romero D, de la Torre F, Fernández OD, Torres JA, de Vicente A, *et al.* The functional characterization of *Podosphaera xanthii* candidate effector genes reveals novel target functions for fungal pathogenicity. Rev. Molecular Plant-Microbe Interactions. 2018, 31(9): 914-931.
  17. Chen RS, Chu C, Cheng CW, Chen WY, Tsay JG. Differentiation of two Powdery mildews of sunflower (*Helianthus annuus*) by PCR mediated method based on ITS sequences. Eur. J. Plant Pathol.2008; 121:1-8.
  18. Velarde FS, Ortega MPF, Fierros LGA, Padilla VI, Gutiérrez PE, Rodríguez CFG, *et al.* Molecular and biological identification of physiological races 0 and 5 of *Fusarium oxysporum* Schlechtend.: Fr f.sp.ciceris (Padwick) Matuo & K. Sato of chickpea in northwest México. Revista Mexicana de Ciencias Agrícolas. 2015; 6(4):735-748.
  19. Bojórquez RC, Maruthachalam K, McCreight DJ, Estrada JSR. *Podosphaera xanthii* but not *Golovinomyces cichoracearum* infects Cucurbits in a Greenhouse at Salinas, California. Cucurbit Genetics Cooperative Report. 2011; 33-34: 24-28.
  20. Saenz GS, Taylor JW. Phylogeny of the Erysiphales (powdery mildews) inferred from internal transcribed spacer ribosomal DNA sequences. Can. J. Bot. 1999; 77: 150-168.
  21. Nayak AK, Babu BK. First report of powdery mildew on *Lagenaria siceraria* caused by *Podosphaera xanthii* in India. Journal of Plant Pathology. 2017; 99 (1): 287-304.
  22. Cui H, Wu C, Zhu Q, Fan C, Gao P. First Report of Powdery Mildew Caused by *Podosphaera xanthii* on *Lagenaria siceraria* in China. Rev. Plant Disease. 2018; 102(11): 2374-2374.
  23. Dorneles KR, Dallagnol LJ, Brunetto AE, Pazdiora PC. First report of powdery mildew caused by *Podosphaera xanthii* on *Lagenaria siceraria* in Brazil. Rev. Plant Disease . 2018;102(4): 823-824.
  24. Chen YM, Huang TC, Liu HL, Chao CH. 2015. First report of the powdery mildew *Podosphaera xanthii* on *Gynura bicolor*. Australas Plant Dis Notes 10:27. [en línea] 2015 septiembre 28 [Fecha de acceso 17 de diciembre de 2019]. URL disponible en: URL disponible en: <https://link.springer.com/article/10.1007/s13314-015-0177-y> .



**Declaración de conflicto de intereses:** Los autores declaran que no existe conflicto de intereses.

**Contribución de los autores:** **Jorge Francisco León de la Rocha:** Estableció el ensayo, responsable de su establecimiento y manejo en campo. Realizó la toma de muestras y datos para la identificación morfológica y molecular con su posterior análisis e interpretación. Participó en la búsqueda de información y redacción del artículo. **Cosme Bojórquez-Ramos:** Asesoramiento en la identificación morfológica. Realizó el protocolo de identificación molecular. **Nazarío Francisco Francisco:** Contribuyó en el manejo del cultivo en campo. Participó en la toma de datos y en la búsqueda de información. **Arturo Olivar Hernández:** Colaboró en la investigación, contribuyó al desarrollo de los ensayos. Participo en la gestión de insumos agrícolas para el experimento. **Ricardo G. López- España:** Colaboró en búsqueda de información. Participo en el establecimiento y manejo de la estación meteorológica, montada para monitorear las condiciones climáticas en las que se desarrolló el ensayo. **Yusimy Reyes Duque:** Colaboró con la idea general del ensayo. Colaboró en la búsqueda de información. Colaboró con la identificación morfológica. Participó en la redacción del artículo y es responsable de la revisión final. **Pedro Pérez Olvera:** Contribuyó con el establecimiento en campo y manejo agronómico del cultivo. Participó en la toma de datos en campo.

Este artículo se encuentra bajo licencia [Creative Commons Reconocimiento-NoComercial 4.0 Internacional \(CC BY-NC 4.0\)](https://creativecommons.org/licenses/by-nc/4.0/)